

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ЗАХИСТУ РОСЛИН

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КОВТУН АНДРІЙ МИКОЛАЙОВИЧ

УДК 595.132:574.4(477)

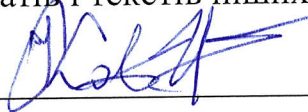
ДИСЕРТАЦІЯ

**«ВИДОВИЙ СКЛАД, ПОШИРЕННЯ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД
В АГРОЦЕНОЗАХ УКРАЇНИ»**

16.00.10 — Ентомологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело



Ковтун А. М.

Науковий керівник:

Сігарьова Діна Дмитрівна,

доктор біологічних наук, професор,

член-кореспондент НААН

АНОТАЦІЯ

Ковтун А.М. Видовий склад, поширення ентомопатогенних нематод в агроценозах України. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю «16.00.10 – ентомологія». – Інститут захисту рослин НААН, Київ, 2025.

У дисертаційній роботі висвітлено результати дослідження фауни ентомопатогенних нематод (далі – ЕПН) (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae et Heterorhabditidae), їх поширення в агроценозах України та біопотенціал (ентомоцидна активність) в якості біоагентів проти ґрунтових комах-шкідників (Scarabaeidae), а також запропоновано концептуальний системний підхід до проведення ентомонематологічного моніторингу агроценозів.

У теоретичній частині роботи подано сучасну таксономію та систематику ентомопатогенних нематод (Steinernematidae та Heterorhabditidae), характерні особливості їх діагностування. При розгляді родів ЕПН досліджено: синонімію, типовий вид, кількість валідних видів у світовій фауні та фауні України, а також видів які розглядаються як «*species inquirendae*» та «*nomina nuda*». Далі у розділі подано історію дослідження ЕПН у світовому контексті, а також узагальнено основні напрями і наукові досягнення вивчення в Україні; проведено аналіз географічного поширення ЕПН на глобальному, континентальному рівнях (макро-розподіл); розглянуто їх роль як природних регуляторів комах-шкідників в агроценозах; та висвітлено біолого-екологічні особливості ентомопатогенних нематод.

За результатами нематологічних аналізів 312 проб (220 ґрунтових проб та 92 «живих» пасток), відібраних із ґрунту під час обстежень різних агроценозів України встановлено, що серед проб 46 (14,7%) виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae Filipjev, 1934 та Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida).

Найбільша кількість позитивних проб, в яких виявлено ЕПН, припадає на багаторічні насадження (38 шт, або 82,6%), зокрема старі необроблювальні плодоносні сади, представлені: розоцвітими, Rosaceae (кісточкові, зерняткові культури), ягідними (шовковицеві, Moraceae; маслинові, Elaeagnaceae), та горіхоплідними (горіхові, Juglandaceae) культурами. Також ентомопатогенні нематоди знаходили в насадженнях декоративних культур (кипарисові, Cupressaceae). Значно в меншій мірі вони траплялись на посівах різноманітних польових культур сільськогосподарських (8 шт, або 17,4%), зокрема бобових (Fabaceae), гарбузових (Cucurbitaceae), гречкових (Polygonaceae) та айстрових (Asteraceae).

У 60,8% від загальної кількості ЕПН-позитивних проб зареєстровано представників з родини Steinernematidae роду *Steinernema* Travassos, 1927, і у 1,5 рази менше (39,2%) з родини Heterorhabditidae роду *Heterorhabditis* Poinar, 1976. Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод віднесено до трьох видів – два види до роду *Steinernema*: *S. carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (близький до представників групи «*glaseri*», відомих як «довготілесні нематоди»), та один вид до роду *Heterorhabditis* – *H. bacteriophora* Poinar, 1976. Один із них був звичайним та поширеним (*S. carpocapsae*), інші – відносно звичайними та рідкісними (*Steinernema* ex gr. «*glaseri*», *H. bacteriophora*).

Встановлено, що ентомопатогенні нематоди проявляють значну мінливість за багатьма проаналізованими морфометричними характеристиками та індексами ($M \pm m$, мкм), що ускладнювало процес ідентифікації окремих ізолятів (зокрема *Steinernema* ex gr. «*glaseri*»). Ідентифікацію видової належності ентомопатогенних нематод проводили за допомогою сукупності морфолого-морфометричних методів та спеціальних визначників.

Видовий склад, частота трапляння (%) ентомопатогенних нематод варіювали в залежності від місць обстежень, типу агроценозу, а також від культурного виду-едифіктора агроценозів. Уперше виявлено локалітети

ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. на Поліссі – у Житомирській та Чернігівській областях, що суттєво поглиблює знання про специфіку умов існування нематодофауни України.

Аналіз щодо особливостей морфологічної мінливості популяцій виявлених видів ентомопатогенних нематод залежно від різних ландшафтних (природних) зон країни засвідчив, що такий фактор як географічна віддаленість, відіграє незначну роль у морфології ентомопатогенних нематод.

Деякі види ЕПН є досить стенотопними: віддають перевагу лише певним типам агроценозів. Так, знахідки *Heterorhabditis bacteriophora* зареєстровано у садових насадженнях плодових і ягідних культур, плантаціях багаторічних декоративних насаджень. Натомість, *Steinernema carpocapsae* – вид евритопний, який заселяв різноманітні сільськогосподарські угіддя, у тому числі посіви польових культур – зернові та зернобобові, технічні та овочеві, переважна більшість яких була зосереджена в основних зонах традиційного вирощування цих культур.

Нематоди – патогени комах (Nematoda, збудники – види з родів *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp.) виявлялися частіше з агроценозів у порівнянні з деякими іншими ентомопатогенними організмами різної етіології (Fungi, Bacteria, Insecta), що зумовлювали інфекційні та паразитарні патології комах.

Уперше зареєстровано явище гіперпаразитизму в природних умовах у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) при змішаній інфекції (мікст-інфекції) – нематодозно-ентомозній (міази) патології. Даний факт становить значний науковий і практичний інтерес, оскільки дозволяє раціональніше здійснювати комбіноване використання обох груп біологічних засобів контролю шкідників з метою підвищення їхньої інсектицидної ефективності.

Аналіз ентомоцидної активності виявлених ізолятів ентомопатогенних нематод (*Steinernema* sp.) щодо шкідливих комах (*Melolontha melolontha* L., 1758) за штучного інфікування (100 інвазійних личинок на 1 комаху) в

лабораторних умовах, та дослідження репродуктивного потенціалу ентомопатогенів в організмі цільового хазяїна показали, що личинки 2-3 віку західного травневого хруща чутливі до зараження місцевим штамом ЕПН, а біологічна ефективність не поступається існуючому на ринку комерційному препарату Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982: 100% загибель комах спостерігалась на 3-й день (препарат Entonem), чи 4-й день (місцевий ізолят *Steinernema* sp.); кількість особин інвазійних личинок ЕПН, які евазували (вийшли) із однієї комахи також істотно не відрізнялася, і у середньому склала – 110 554 шт. (препарат Entonem) проти 92 370 шт. (місцевий ізолят *Steinernema* sp.).

Лабораторний аналіз зібраних та відловлених у природних умовах загинувших і хворих ґрунтових комах різних видів (більше 100 екземплярів) – переважно шкідників сільськогосподарських культур (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Scarabaeidae; Lepidoptera: Noctuidae; Orthoptera: Gryllidae; Hymenoptera: Formicidae; Diptera) на предмет їх зараження ентомопатогенними нематодами – не виявив у них інвазій ентомопатогенами.

На підставі отриманих даних досліджень запропоновано теоретико-методологічне забезпечення здійснення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. Використання його даних, зокрема щодо розподілу, складу та патогенних (ентомоцидних) властивостей аборигенних популяцій ЕПН, у кінцевому підсумку дозволить забезпечити точніше прогнозування життєздатності тих чи інших комах-шкідників (ґрунто-живучих та приховано-живучих зокрема) в агроценозі і запропонувати відповідні найдоцільніші заходи захисту.

Ключові слова: ентомопатогенні нематоди, *Nematoda*, агроценоз, шкідливі комахи, біологічний захист рослин, Україна.

ANNOTATION

Kovtun Andrii. Species composition and distribution of entomopathogenic nematodes in agroecosis of Ukraine. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for a PhD Degree in Agriculture specializing in 16.00.10 – entomology. – Institute of Plant Protection of the NAAS, Kyiv, 2025.

The thesis is devoted to the study of the fauna of entomopathogenic nematodes (hereinafter – EPN's) (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae), their distribution in agroecosis of Ukraine and to study their biopotential (entomocidal activity) against soil-borne insect pests (Scarabaeidae), and a conceptual systematic approach to entomonematological monitoring of agroecosis is also proposed.

The theoretical part of the thesis presents the modern taxonomy and systematics of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae), as well as the characteristic features of their diagnosis. When considering the genera of EPN's, the following are investigated: synonymy, type species, number of valid species in the world fauna and fauna of Ukraine, as well as species considered as '*species inquirendae*' and '*nomina nuda*'. Further in the theoretical chapter presents the history of EPN's research in the global context, as well as summarises the main directions and scientific achievements research in Ukraine; analyses the geographical distribution of EPN's at the global and continental levels (macro distribution); considers their role as natural regulators of insect pests in agroecosis, and highlights the biological and ecological features of entomopathogenic nematodes.

According to the results of nematological analyses of 312 samples (220 soil + 92 live-trap samples) collected from the agricultural soil during surveys of various agroecosis of Ukraine, it was found that among the samples 46 pcs (14.7%) were positive for entomopathogenic nematodes from the families Steinernematidae Filipjev, 1934 and Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida). The highest number of positive samples with EPN's was found soil of

plantings of perennial crops (38 pcs, or 82.6%), in particular, where no chemicals are used for old fruit trees, represented by: rosaceous plants, Rosaceae (stone fruit and pome fruit crops), berries (mulberry family, Moraceae; oleaster family, Elaeagnaceae), and nut plants (walnut family, Juglandaceae). Also, entomopathogenic nematodes were found in plantations of some coniferous decorative plants (cypress family, Cupressaceae). To a lesser extent, these nematodes were found in land planted with row crops (8 pcs, or 17.4%), including legumes (Fabaceae), cucurbits (Cucurbitaceae), knotweed (Polygonaceae), and aster family (Asteraceae).

In 60.8% of the total number of EPN-positive samples, representatives of the family Steinernematidae of the genus *Steinernema* Travassos, 1927, and 1.5 times less (39.2%) of the family Heterorhabditidae of the genus *Heterorhabditis* Poinar, 1976 were recorded. The detected isolates of entomopathogenic nematodes were assigned to three species – two species to the genus *Steinernema*: *S. carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema* ex gr. ‘*glaseri*’ (representative of the “*glaseri*” group), and one species of the genus *Heterorhabditis* – *H. bacteriophora* Poinar, 1976. One of them was common and widespread (*S. carpocapsae*), while the others nematode species were relatively common and rare (*Steinernema* ex gr. ‘*glaseri*’, *H. bacteriophora*).

It was found that entomopathogenic nematodes show significant variability in many analysed morphometric characteristics and indices ($M \pm m$, μm), which complicated the process of identification of individual isolates (in particular, *Steinernema* ex gr. ‘*glaseri*’). The identification of the species of entomopathogenic nematodes was carried out using a combination of morphological and morphometric methods and special determinants.

According to our survey, the species composition, the frequency of occurrence (%) of entomopathogenic nematodes varied depending on the geographic location (e. g., areas, regions, etc.), the type of agrocenosis, and on the dominant plant species (or species-edificators). For the first time, localities of entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. were

found in Polissya zone (Zhytomyr and Chernihiv Regions), which significantly deepens knowledge about the specifics of the nematode fauna of Ukraine.

The analysis of the peculiarities of morphological variability of populations of the identified species of entomopathogenic nematodes depending on different eco-regions (agro-ecologic zones) of the country showed that such a factor as geographical remoteness plays a minor role in the morphology of entomopathogenic nematodes.

Some EPN species are quite stenotopic: they prefer only certain types of agroecosis. For example, *Heterorhabditis bacteriophora* has been detected in orchards of fruit and berry crops and plantations of perennial ornamental plants. *Steinernema carpocapsae*, on the other hand, is a ubiquitous species that inhabited various agricultural lands, including field crops such as cereals and legumes, industrial and vegetable crops, the vast majority of which were concentrated in the main areas of traditional cultivation of these crops.

Insect pathogenic nematodes (*Nematoda*, pathogens – species from the genera *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp.) were detected more often from agroecosis compared to some other entomopathogenic organisms of different etiologies (*Fungi*, *Bacteria*, *Insecta*), that caused infectious and parasitic diseases of insect.

For the first time, the phenomenon of hyperparasitism in natural conditions with nematodoses-entomosis co-infection inside dead *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) larvae was recorded. This fact is of considerable scientific and practical interest, since, for example, it allows for a more rational combined use of both groups of biological pest control agents to increase their insecticidal effectiveness.

Analysis of the entomocidal activity of the identified isolates of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* sp.) against harmful insects (*Melolontha melolontha* L., 1758) under artificial infection (100 infective juveniles per insect) in laboratory conditions, and the study of the reproductive potential of entomopathogens in the target host showed that larvae of 2nd-3rd-instars of the

cockchafer are sensitive to infection with the local strain of EPN, and the biological efficacy is not inferior to the commercial microbial product [(an entomopathogenic nematode, *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 commercially available as Entonem® (Koppert Biological Systems, The Netherlands)]: 100% mortality of insects was observed on day 3 (Entonem) or day 4 (local strain of *Steinernema* sp.); the number of EPN juveniles that evaded one insect also did not differ significantly, and on average was 110,554 (Entonem) against 92,370 (local strain of *Steinernema* sp.).

Laboratory analysis of dead and diseased soil-living insect pests (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Scarabaeidae; Lepidoptera: Noctuidae; Orthoptera: Gryllidae; Hymenoptera: Formicidae; Diptera) collected and captured in nature (>100 specimens) for their infection with entomopathogenic nematodes did not reveal any infestations.

Based on the research data obtained, the theoretical and methodological support for the implementation of entomonematological monitoring in agroecosis is proposed. The use of its data, in particular, on the distribution, composition and pathogenic (entomocidal) properties of native populations of EPN's, will ultimately provide a more accurate prediction of the viability of certain insect pests (soil-living in particular) in the agroecosis and suggest appropriate protection measures.

Key words: *entomopathogenic nematodes, Nematoda, agroecosis, pests, biological plant protection, Ukraine.*

Список опублікованих праць за темою дисертації:

Статті у наукових фахових виданнях України

1. Сігарьова Д.Д., **Ковтун А.М.**, Харченко В.В. Ентомопатогенні нематоди в системі захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 280-290.

*Автором здійснено аналіз наукових даних щодо можливості використання ентомопатогенних нематод з родів *Steinernema* та*

Heterorhabditis для захисту рослин від шкідливих комах, а також наведено сучасне систематичне положення та особливості біології ентомопатогенних нематод.

2. **Ковтун А.М.** Ентомонематологічні обстеження агроценозів України – як джерело виявлення чинників потенційного біоконтролю комах-шкідників. *Захист і карантин рослин*. 2016. Вип. 62. С. 133–142.

3. **Ковтун А.М.** Нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) фауни України. *Карантин і захист рослин*. 2023. №2(273). С. 39-45.

4. **Kovtun A.,** Petrenko S. Frequency of occurrence and identification of nematodes among entomopathogenic organisms in agrocoenoses of Ukraine. *GEO&BIO*. 2023. Vol. 24. P. 214–224.

Автором було проведено усі польові дослідження (відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових пасток та збір комах-хазяїв) в різних агроценозах України щодо пошуку та виявлення ентомопатогенних організмів, а також їх ідентифікація в лабораторних умовах; визначено частоту трапляння нематод серед ентомопатогенних організмів в агроценозах.

5. **Ковтун А.М.** Індикація та ідентифікація ентомопатогенних нематод Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae. *Карантин і захист рослин*. 2023. № 4(275). С. 21-31.

Статті у наукових фахових виданнях України, включених до міжнародних наукометричних баз

6. Sigareva D.D., **Kovtun A.M.,** Korniyushin V.V. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from agricultural ecosystems in forest (Polissya) and forest-steppe natural zones of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2019. 53(4). P. 285-296.

Автором було проведено усі польові дослідження (відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових пасток та збір комах-хазяїв) в різних агроценозах

України щодо виявлення ентомопатогенних нематод, їх подальша ізоляція (виділення) та видова ідентифікація в лабораторних умовах, а також проведено аналіз особливостей поширення ентомопатогенних нематод в агроценозах.

Статті у наукових періодичних виданнях інших держав

7. Сигарева Д.Д., Харченко В.В., Чигрин Н.А., Болтовская Е.В., **Ковтун А.Н.** Размножение энтомопатогенных нематод рода *Steinernema* на личинках майского жука (*Melolontha melolontha*) в лабораторных условиях. *Вестник палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта*. 2018. №1. С. 72-76.

Автором було надано місцевий ізолят ентомопатогенних нематод (*Steinernema* sp.) для дослідження інсектицидної активності проти шкідливих комах (*Melolontha melolontha* L., 1758), а також його продуктивності розмноження «in vivo» в лабораторних умовах.

Тези доповідей та матеріали конференцій

8. **Ковтун А.М.** Нові знахідки нематод – патогенів комах (*Steinernema* sp., *Heterorhabditis* sp.) в агроценозах Полісся та Північного Лісостепу України. *Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Вінниця, 2016. С. 51-52.

9. **Ковтун А.М.** Поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* в агробіоценозах Полісся та Лісостепової зони України. *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених* (Житомир, 14 липня 2016 рік). Житомир, 2016. С. 58-62.

10. **Ковтун А.М.** Частота виявлення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* — природних регуляторів чисельності шкідливих комах в агроценозах України. *Актуальні проблеми та перспективи*

інтегрованого захисту рослин: міжнародна науково-практична конференція (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Київ, 2016. С. 44-46.

11. Сігарьова Д.Д., **Ковтун А.М.**, Болтовська О.В. Нематоди – патогени комах (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) як складова частина агроценозів України. *XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП)* (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Львів, 2017. С. 61.

Автором було проведено польові дослідження (відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових пасток) в агроценозах України щодо пошуку ентомопатогенних нематод, та подальша ізоляція, ідентифікація ентомопатогенів в лабораторних умовах.

12. **Ковтун А.М.** Особливості діагностики нематодозів комах, викликані ентомонематодами з родин Steienernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida). *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині: III Всеукраїнська науково–практична інтернет-конференція.* (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.). Полтава, 2018. С. 101-104.

13. **Ковтун А.М.** Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в ґрунтах агроценозів України. *XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві».* (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Чернігів, 2018. С. 65-68.

14. **Ковтун А.М.**, Бондар Л.П. Видовий склад та зональна поширеність ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах України. *Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії: матеріали науково-педагогічного підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства.* (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.). Одеса, 2021. С. 37-42.

Автором було проведено польові дослідження (відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових пасток) в агроценозах України; визначено видовий склад та проаналізовано зональну поширеність ентомопатогенних нематод.

15. **Ковтун А.М.** Ідентифікація ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), виділених із агроценозів України. I Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців *«Актуальні аспекти розвитку науки і освіти»*. (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 315-318.

16. **Ковтун А.М.** Розробка концепції комплексного ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. III Всеукраїнська науково-практична конференція: *"Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024"*. (Житомир, 31 травня 2024 р.). Житомир, 2024. С. 45-46.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ.....	17
ВСТУП.....	19
РОЗДІЛ 1. ЕНТОМОПАТОГЕННІ НЕМАТОДИ З РОДИН STEINERNEMATIDAE ТА HETERORHABDITIDAE (NEMATODA: RHABDITIDA), ЯК ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	28
1.1. Таксономія та систематика ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE).....	28
1.1.1. Діагностичні ознаки родини STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934 (= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953).....	30
1.1.2. Діагностичні ознаки родини HETERORHABDITIDAE Poinar, 1976.....	32
1.2. Історія вивчення ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE).....	33
1.2.1. Особливості становлення і розвитку ентомонематологічних досліджень у світовому контексті.....	33
1.2.2. Напрями, досягнення та перспективи ентомонематологічних досліджень в Україні.....	39
1.3. Географічне поширення ентомопатогенних нематод родів <i>Steinernema</i> та <i>Heterorhabditis</i>	43
1.4. Ентомопатогенні нематоди – природні регулятори чисельності комах-шкідників в агроценозах.....	46
1.5. Біолого-екологічні особливості ентомопатогенних нематод з родин STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE.....	50
Висновки до розділу 1.....	60
РОЗДІЛ 2. МІСЦЕ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	62

2.1. Місце проведення досліджень.....	62
2.2. Фізико-географічна характеристика районів досліджень.....	68
2.3. Матеріали досліджень.....	72
2.4. Методики проведення досліджень.....	73
2.4.1. Культивування тест-комах <i>Galleria mellonella</i> L., 1758 як модельного об'єкта для досліджень ентомопатогенних нематод...	73
2.4.2. Методи виявлення нематод – патогенів комах з родин STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE.....	75
2.4.3. Диференціювання нематодозів у потенційних комах-хазяїв та тест-комах серед інших патологій.....	77
2.4.4. Ізоляція ентомопатогенних нематод із проб ґрунту в лабораторних умовах.....	78
2.4.5. Виділення ентомопатогенних нематод із зразків тест-комах в лабораторних умовах.....	78
2.4.6. Штучне інфікування тест-комах виявленими ізолятами ентомопатогенних нематод.....	79
2.4.7. Фіксація ентомопатогенних нематод та виготовлення препаратів для світлової мікроскопії.....	80
2.4.8. Ідентифікація ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE).....	81
2.4.8.1. Дослідження морфології та морфометрія.....	82
2.4.9. Оцінка інсектицидної активності ентомопатогенних нематод щодо ґрунтових шкідливих комах.....	84
2.4.10. Математично-статистична обробка даних.....	85
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	86
3.1. Частота трапляння нематод (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE) серед ентомопатогенних організмів в агроценозах України.....	86

3.2. Заселеність агроценозів України ентомопатогенними нематодами (STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE).....	93
3.3. Видовий склад ентомопатогенних нематод (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE) в агроценозах України.....	106
Висновки до розділу 3.....	137
РОЗДІЛ 4. ОЦІНКА ЕНТОМОЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД (STEINERNEMATIDAE) ЩОДО ҐРУНТОВИХ КОМАХ-ШКІДНИКІВ (SCARABAEIDAE).....	139
Висновки до розділу 4.....	145
РОЗДІЛ 5. ЕНТОМОНЕМАТОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ, ЯК СКЛADOVA ІНТЕГРОВАНИХ СИСТЕМ ЗАХИСТУ РОСЛИН.....	146
5.1. Особливості проведення моніторингу нематод – патогенів комах (NEMATODA: RHABDITIDA) в агроценозах.....	148
Висновки до розділу 5.....	177
ВИСНОВКИ.....	178
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ.....	181
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	182
ДОДАТКИ.....	201
Додаток А Довідки про впровадження результатів дисертаційного дослідження.....	202
Додаток Б Список публікацій за темою дисертації.....	205
Додаток В Відомості про апробацію результатів дисертації.....	208
Додаток Г Культивування великої воскової молі <i>Galleria mellonella</i>	209

ПЕРЕЛІК СКОРОЧЕНЬ, УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ І ТЕРМІНІВ

Загальні скорочення:

H. – *Heterorhabditis*

H. b. – *Heterorhabditis bacteriophora*

S. – *Steinernema*

S. c. – *Steinernema carpocapsae*

S. g. – *Steinernema «glaseri»*

адм. – адміністративний

АР – Автономна Республіка

Вн – Вінницька область

див. – дивіться

екз. – екземпляр

ЕПН – ентомопатогенні нематоди

Жт – Житомирська область

ІЛ – інвазійна личинка (dauer-личинка, або латентна личинка)

Кв – Київська область

ЛС – Лісостеп

м. – місто (з назвою)

мкм – мікромметр

н. п. – населений пункт

обл. – область

Од – Одеська область

ос. – особин

П – Полісся

р-н – район

с. – село (з назвою)

С – Степ

с.-г. – сільськогосподарські

смт – селище міського типу (з назвою)

ст. – століття

у т. ч. – у тому числі

Хм – Хмельницька область

Чк – Черкаська область

Чн – Чернігівська область

шт – штук

Морфологічні позначення на рисунках:

L3 – інфекційні личинки третьої стадії

♂ (1, 2) – самець (генерація)

♀ (1, 2) – самиця (генерація)

ВСТУП

Паразитизм гельмінтів, зокрема нематод, у комах є цікавим у біологічному і важливим у господарському значенні явищем. Усього відомо понад 1000 видів ентомонематод, серед яких є як екто- так і ендопаразити, які паразитують на комах на всіх стадіях їх розвитку – від яйця до імаго, концентруючись у різних органах і тканинах у вигляді яєць, личинок або ж дорослих особин (Білик та ін., 2017).

Екологічна група «ентомонематод» об'єднана різними паразитичними формами (ентомопатогенними, ентомофільними, інсектицидними, ентомогенними, ентомофагними тощо) та складається з представників різних таксонів, з яких значну увагу привертають ентомопатогенні нематоди (далі – ЕПН) з родин *Steinernematidae* Chitwood et Chitwood, 1937 та *Heterorhabditidae* Poinar, 1976 (*Nematoda: Rhabditida*) (Burnell, Stock, 2000). У природі вони перебувають в облігатному мутуалістичному симбіозі з бактеріями родини *Enterobacteriaceae* Rahn, 1937, і в комплексі з ними характеризуються високими антибіотичними (ентомоцидними) властивостями, викликаючи септицемію і загибель жертв – комах-хазяїв (Koppenhöferb Albrecht *et al.*, 2020; Kasi Indra Kumar *et al.*, 2022; Tarasco Eustachio *et al.*, 2023).

З огляду на це, вони мають важливе значення, передовсім практичне, як агенти біологічного методу захисту рослин, оскільки є паразитами (патогенами) багатьох комах-шкідників. Ентомопатогенні нематоди з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* є ключовими компонентами для створення нових біологічних препаратів (біопестицидів) інсектицидної дії для захисту рослин сільськогосподарського та іншого призначення, багаторічних і лісових насаджень, дерев, чагарників, рослинності закритого ґрунту тощо.

Ентомопатогенні нематоди (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) мають ряд суттєвих ознак, які забезпечують можливість створення на їх основі

біоінсектицидів нового покоління для ефективного захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах-фітофагів (Сігарьова *та ін.*, 2020; Tarasco Eustachio *et al.*, 2023). Головними серед них є такі: висока біологічна ефективність проти ґрунтових шкідників і комах з приховано-живучими стадіями розвитку; абсолютна безпечність для нецільових організмів – людини, теплокровних тварин та рослин, навколишнього природного середовища в цілому; екологічна сумісність із більшістю шкідливими комахами; полігостальність – здатні уражувати комах з багатьох рядів та родин до досягнення ними репродуктивної стадії, серед яких в переважній більшості: личинки лускокрилих Lepidoptera, жуків Coleoptera, двокрилих Diptera, бліх Siphonoptera, трипсів Thysanoptea; імагінальні стадії прямокрилих Orthoptera, напівтвердокрилих Hemiptera, тарганів Blatodea та багато інших; високий потенціал контролю шкідливих комах, що відповідає рівню ефективності більшості хімічних препаратів; екологічна пластичність (поширені в різних екосистемах від субарктики до аридних та тропічних зон); тривалість зберігання в ґрунті (2-3 роки) за відсутності комах-хазяїна, що дає можливість зменшити кількість обробок; прості та дешеві технології масового розмноження (успішно розмножуються як на личинках комах (*in vivo*), так і на штучних живильних середовищах (*in vitro*); сумісність з хімічними та мікробіологічними препаратами; легкість застосування в польових умовах (вносять в ґрунт або ж безпосередньо на рослини будь-яким типом обприскувача, стандартними методами обприскування) тощо.

Вказані вище й інші можливості і переваги ентомопатогенних нематод (Steinernematidae та Heterorhabditidae) вже не є допущеннями, а доведені численними роботами вчених. Значна кількість досліджень засвідчили про високу сприйнятливості різних шкідливих комах до ураження ентомопатогенними нематодами для контролю небезпечних видів шкідників сільськогосподарських культур (Parwinder S. Grewal *et al.*, 2001; Sikandar *et al.*, 2021), однак заслуговує на увагу також їх біопотенціал відносно інших

артропод, кліщів зокрема (Michael Samish *et al.*, 2000; Michael Samish, Itamar Glazer, 2001; Glazer *et al.*, 2001; Ktherine M. Cocan *et al.*, 2006).

Разом з тим, на сьогоднішній день існують дослідження, які передбачають використання ЕПН і їх симбіотичних бактерій не тільки, як біоінсектицидів проти комах-шкідників, а й як організмів, що мають інші антибіотичні властивості (нематодцидні, фунгіцидні, бактеріцидні зокрема), з високою антагоністичною та імуностимулюючою дією (Enrique, Edwin, 2002; Sajid Aleem Khan *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2010; Cesar Omat *et al.*, 2011; Nazir Javed *et al.*, 2012; Lamovsek *et al.*, 2013; Milena Caccia *et al.*, 2013; Mahfouz M. M. Abd-Elgawad *et al.*, 2013; Fatma H. Abd El-Zaher, Mahfouz M. M. Abd-Elgawad, 2012; Pantel *et al.*, 2018).

Сфери застосування ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) та їх бактеріальних сателітів, як бачимо, дійсно дуже широкі, однак антибіотичні властивості нематодно-бактеріального комплексу на даний час ще не достатньо вивчені. З огляду на беззаперечну важливість цього напрямку у вітчизняному захисті рослин та у світлі загальної екологізації сільського господарства, ці об'єкти актуальні, і потребують детального вивчення для подальшого розвитку біологічного методу захисту сільськогосподарських культур від шкідників.

Актуальність.

Останнім часом стрімких темпів розвитку набирає особливий напрям в сучасній нематології, пов'язаний з розробкою методів біологічного контролю шкідників за застосування нематод – паразитів (патогенів) комах, що викликають нематодні хвороби. Серед екологічної групи ентомонематод, на особливу увагу заслуговують представники двох родин – Steinernematidae Chitwood et Chitwood, 1937 та Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida), яких визначають як «ентомопатогенні нематоди» (ЕПН). Завдяки їх мутуалістичному зв'язку із кишечними бактеріями-симбіонтами з родів *Xenorhabdus* Thomas, Poinar, 1979 emend. Thomas, Poinar, 1983 та

Photorhabdus Boemare et al., 1993 (α -Proteobacteria: Enterobacteriaceae), вони здатні знищувати комах та розвиватися в їхніх трупах, що дозволяє використовувати в практичних цілях, як біоінсектициди у сільському господарстві.

Сьогодні ЕПН успішно застосовують для захисту рослин у багатьох країнах світу (США, Канади, Колумбії, Австралії, Японії, Туреччині, країнах Європейського Союзу), в яких розробляються та впроваджуються у виробництво біопрепарати на їх основі для контролю небезпечних видів шкідників сільськогосподарських культур.

Не дивлячись на те, що сьогодні ентомопатогенні нематоди застосовують у захисті рослин у багатьох країнах світу, в Україні до цих пір залишаються мало вивченою групою нематод-рабдитид серед широкого загалу спеціалістів-біологів і, зокрема, ентомологів, як у відношенні первинних фауністичних даних, так і щодо прикладних аспектів, насамперед, через прихований спосіб життя цієї своєрідної екологічної групи червів та не часте їх трапляння у природі, через що вони досі не знайшли належного місця у вітчизняному мікробіологічному захисту сільськогосподарських культур.

Успішне впровадження та раціональне використання ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) як біоагентів, які б обмежували чисельність шкідливих видів комах в агроценозах є неможливим без базових знань щодо фауністичних даних, доповнення і уточнення даних щодо поширення окремих їх видів. Саме тому гостро постає питання пошуку, виявлення, ідентифікації місцевих видів та ізолятів ентомопатогенних нематод, що є одним із вирішальних напрямків для створення лабораторної культури ентонематод та подальшим вивченням ентомоцидної активності ЕПН щодо комах у лабораторно-польових дослідках, а також з'ясування чинників та умов, що визначають характер поширення їх в агроценозах.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.
Дисертаційна робота виконана в рамках тематики лабораторії нематології Інституту захисту рослин НААН за завданням «12.01.00.21.П. Розробити превентивні та контролюючі протинематодні заходи в системі фітосанітарної безпеки» (державний реєстраційний номер: 00116U003530) у 2015-2018 рр.

Мета і завдання дослідження. Мета роботи – вивчити видовий склад ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) у агроценозах; виявити чинники, що визначають поширення їх в агроценозах України, а також оцінити патогенність місцевих видів ентомопатогенних нематод проти шкідників сільськогосподарських культур.

Для досягнення цієї мети були поставлені завдання:

Провести обстеження різних агроценозів України на виявлення ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae;

Ізолювати та виділити ентомопатогенні нематоди із ґрунтових проб і зразків тест-комах в лабораторних умовах;

Розмножити виявлені місцеві (аборигенні) ізоляти ентомопатогенних нематод для отримання різних стадій онтогенезу – інвазійних личинок та дорослих особин;

Ідентифікувати видову належність ентомопатогенних нематод шляхом аналізу морфологічної будови та морфометричних параметрів із застосуванням методів світлової мікроскопії;

Дослідити морфологічну мінливість популяцій окремих видів ентомопатогенних нематод залежно від географічної віддаленості (різних природних зон України);

З'ясувати чинники та умови, що визначають характер поширення нематод – патогенів комах в агроценозах, частоту трапляння окремих видів.

Дослідити ентомоцидну активність виявлених ізолятів ентомопатогенних нематод на шкідливі види фітофагів за експериментального зараження в лабораторних умовах.

Розробити концептуальну схему проведення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах.

Об'єкт дослідження – ентомопатогенні нематоди з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida), ґрунтові комах-шкідники, агроценози України.

Предмет дослідження – видовий склад ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae); закономірності їх поширення в агроценозах України; морфолого-біологічні особливості місцевих ізолятів ентомопатогенних нематод, інсектицидна дія на комах.

Методи дослідження. Для досягнення мети і вирішення поставлених завдань використовували методи *теоретичні*: аналіз та синтез, порівняльно-описовий, узагальнення науково-практичних та дослідницьких даних; *польовий*: обстеження агроценозів, відбір ґрунтових проб, закладання ґрунтових пасток із тест-комахами, збір і облік комах-шкідників; *лабораторний*: ізоляція та виділення ентомопатогенних нематод із проб ґрунту, загиблих комах-хазяїв і культивування на тест-комахах, дослідження морфології та морфометрії ізолятів методами світлової мікроскопії, визначення родової (та/або видової) належності ентомопатогенних нематод та шкідливих комах; експериментальне зараження тест-комахи *in vivo*; *математично-статистичні*: методи описової та варіаційної статистики – аналіз середніх величин, оцінка достовірності отриманих результатів.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що у роботі *вперше*:

виявлено локалітети ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. (Steinernematidae) та *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae) на Поліссі – у Житомирській та Чернігівській областях України, що суттєво поглиблює знання про специфіку умов існування місцевої нематодофауни;

zareestrowano yavishche giperpazazitizmu y u tilii zagiblich komaх *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) v prirodnykh umovakh pry viyavlenii mikst-infekcii, a same – entomofago-nematodnyi parazitarnii asotsiatsii;

pokazano, sho deyakii vidi entomopatogennykh nematod (zokrema *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976) e dosit' stenotopnymi – viddayut perevagu lishe певnim tipam agrotsenoziv; inshi vidi (*Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982) – evritopni, zaselyayut riznomanitni sil'skogospodars'ki utidya;

zaproponovano naukovu-praktichni pidkhodi ta rozrobleno konceptualnu shemu entomonematologichnogo monitoringu v agrotsenozakh.

Rozshireno i dopovneno dani shodo miscevoi nematodofauni, a takozh osoblivostey poshirennya okremikh vidiv entomopatogennykh nematod (Nematoda: Rhabditida) na territorii Polissya i Lisostepu Ukraini.

Podalshogo rozvitku nabyuli:

doslidzhennya shodo poshuку populyatsii aborighennykh vidiv entomopatogennykh nematod (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) dlya effektivnogo vikorystannya, yak perspektivnykh mikroorganizmiv-bioagentiv proty shkidlivykh vidiv komaх;

doslidzhennya patogennoho vplyvu viyavlennykh miscevykh vidiv entomopatogennykh nematod na organizm shkidlivykh komaх za eksperymental'nogo zarazhennya v laboratornykh umovakh.

Praktychne znachennya odержanykh rezul'tativ. Otrymano dani shodo miscevoi fauni entomopatogennykh nematod (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*), yak skladovoi heterotrofnii chastyini agrotsenoziv Ukraini sluguyut osnovoyu dlya stvorennya i vidtvorennya laboratornoi kul'tury entomopatogeniv (yaka e vikhidnym materialom dlya napivpromyslovoho ta promyslovoho vyrobnytstva) z podalshym doslidzhennym inspektytsidnoi aktivnosti shodo shkidlivykh vidiv komaх (Coleoptera: Scarabaeidae).

Praktychna tsinnist' rezul'tativ dysertsatsiynoho doslidzhennya pidtvirdzhuyetsya vprovadzhennym u vyrobnychiy protses FG «U Samvela»

(Одеська обл., Біляївський район, с. Мирне) та СГ «В. В. Плакущенко» (Одеська обл., Роздільнянський район, с. Гребеники) (довідка № 359/5 від 25.09.2020 року) (рис. А.1.; рис. А.2. Додатку А). Основні теоретичні, практичні та науково-методичні положення і висновки, використовуються у навчальному процесі кафедри садівництва, виноградарства, біології та хімії та кафедрою захисту, генетики і селекції рослин агробіотехнологічного факультету Одеського державного аграрного університету (м. Одеса) при розробці робочих програм, методичних матеріалів та практичних завдань з дисциплін: «Мікробіологія в рослинництві», «Мікробіологія з основами вірусології», «Загальна мікробіологія», «Антагоністи шкідливих мікроорганізмів у захисті рослин», «Біологічний захист рослин», «Біологічний захист сільськогосподарських культур», «Ентомологія», «Загальна ентомологія», «Інтегрований захист рослин», «Основи біологічного захисту від шкідників» (довідка № 208/1 від 25.05.2023 року) (рис. А.3. Додатку А).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота – самостійне наукове дослідження автора. Дисертантом проаналізовано літературні джерела, розроблено програму досліджень, проведено польові та лабораторні дослідження, збір матеріалу, культивування ентомопатогенних нематод та тест-комах, дослідження морфології та морфометрії ентомопатогенних нематод, оцінку патогенного впливу на шкідливих комах, статистичний аналіз, узагальнення та інтерпретацію отриманих результатів досліджень, підготовлено дисертацію, автореферат та публікації у фахових виданнях до друку.

Апробація результатів дисертації. Основні результати дисертаційної роботи доповідалися й обговорювалися: на засіданнях лабораторії нематології, Вчених радах Інституту захисту рослин НААН впродовж 2015-2018 рр. та на науково-практичних конференціях різного рівня: V Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.); Всеукраїнська науково-практична конференція молодих

вчених (Житомир, 14 липня 2016 рік); Міжнародна науково-практична конференція «Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин» (Київ, 7–9 листопада 2016 р.); XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП) (Львів, 18–21 вересня 2017 р.); III Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція. (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.); XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві». (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.); науково-педагогічне підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства «Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії» (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.); I Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти» (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.); III Всеукраїнська науково-практична конференція "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024" (Житомир, 31 травня 2024 р.).

Публікації. За результатами дисертаційної роботи опубліковано 16 наукових праць, з них: 6 наукових статей у фахових виданнях України, що входять до категорії «А» та «Б»; одна стаття у науковому періодичному виданні іншої держави; 9 тез у матеріалах конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація складається з вступу, п'яти розділів, висновків, пропозицій виробництву, списку літератури та додатків. Включає перелік скорочень, умовних позначень, символів, одиниць і термінів. Робота викладена на 209 сторінках та ілюстрована 26 рисунками і містить 11 таблиць та 4 додатки. Список літератури включає 160 джерел, з них 57 кирилицею.

Подяки. Автор висловлює подяку науковому керівнику, доктору біологічних наук, професору, член-кореспонденту НААН України Д. Д. Сігарьовій за спільну плідну роботу, співробітникам лабораторії нематології, колегам та керівництву Інституту захисту рослин НААН, співробітникам Одеського державного аграрного університету, рідним, близьким за всебічну підтримку та допомогу в написанні та підготовці дисертації.

РОЗДІЛ 1

ЕНТОМОПАТОГЕННІ НЕМАТОДИ З РОДИН STEINERNEMATIDAE ТА HETERORHABDITIDAE (NEMATODA: RHABDITIDA), ЯК ОБ'ЄКТ ДОСЛІДЖЕННЯ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1. Таксономія та систематика ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE)

Серед всієї екологічної групи ентомонематод, на особливу увагу заслуговують представники двох родин рабдитид – Steinernematidae Filipjev, 1934 (= Neoaplectanidae Sobolev, 1953) та Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida), яких визначають як «ентомопатогенні нематоди» (далі – ЕПН) (Burnell, Stock, 2000).

Родина Steienernematidae об'єднує два роди: типовий рід – *Steinernema* Travassos, 1927 (n = 95 валідних видів; ≈ 18 видів розглядається як «*species inquirendae*» та 7 видів «*nomina nuda*»), та рід *Neosteinerinema* Nguyen & Smart, 1994, який представлений єдиним типовим видом *N. longicurvicauda* Nguyen & Smart, 1994. Родина Heterorhabditidae вміщує також два роди – типовий рецентний рід *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (n = 16 валідних видів; 4 види розглядаються як «*species inquirendae*» та 2 види «*nomina nuda*») та †*Proheterorhabditis* Poinar, 2011 – викопний рід з раннього крейдяного періоду з єдиним типовим видом † *P. burmanicus* Poinar, 2011 (Poinar, 2011; Hunt, Subbotin, 2016).

Нижче наведено список таксонів надвидового рангу ЕПН, після назви родів у дужках нами вказано кількість видів у світовій фауні / кількість видів у фауні України, включаючи види, відомі по літературним даним. Для типових родів і видів вказано основні синоніми. Далі подано огляд родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (підпідрозділи 1.1.1 та 1.1.2), зокрема характерні особливості їх діагностування. Актуальність та валідність наведених таксономічних назв перевірено нами за сучасними

таксономічними ревізіями, різними оглядовими статтями та спеціалізованими базами даних.

Тип: NEMATODA Diesing, 1861

Клас: CHROMADOREA Inglis, 1983

Підклас: CHROMADORIA Pearse, 1942

Ряд: RHABDITIDA Chitwood, 1933

Підряд: RHABDITINA Chitwood, 1933

Інфраряд: RHABDITOMORPHA De Ley & Blaxter, 2002

Надродина: RHABDITOIDEA Örley, 1880

Родина: STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934

= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953

Під: *Steinernema* Travassos, 1927 (95/3)

= *Steineria* Travassos, 1927 *nec* *Steineria*

Micoletzky, 1922

= *Neoaplectana* Steiner, 1929

= *Patanodontus* de Villalobos & Camino, 1997

Вид: *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923)

Travassos, 1927

= *Aplectana kraussei* Steiner, 1923

= *Steineria kraussei* (Steiner, 1923)

Travassos, 1927

= *Oxysomatium kraussei* (Steiner, 1923)

Skrjabin, Shikhobalova & Mozgovoi, 1951

Під: *Neosteinerinema* Nguyen & Smart, 1994 (1/0)

Вид: *Neosteinerinema longicurvicauda* Nguyen &

Smart, 1994

Надродина: STRONGYLOIDEA Baird, 1853

Родина: HETERORHABDITIDAE Poinar, 1976

Під: *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (16/1)

= *Chromonema* Khan, Brooks & Hirschmann, 1976

Вид: *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976

= *Chromonema heliothidis* Khan, Brooks &
Hirschmann, 1976

= *Heterorhabditis heliothidis* (Khan, Brooks &
Hirschmann, 1976) Poinar, Thomas &
Hess, 1977

= *Heterorhabditis argentinensis* Stock, 1993

Рід: †*Proheterorhabditis* Poinar, 2011 n. gen. (†1/0)

Вид: †*Proheterorhabditis burmanicus* Poinar, 2011 n.
gen., n. sp.

Початкова морфологічна характеристика таксономії ЕПН є складною через відносно консервативні морфологічні ознаки нематод. Молекулярна систематика, доповнена вдосконаленням методів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та секвенування ДНК, виявилася адекватною і відіграла ключову роль у розвитку таксономії ЕПН, що сприяло розширенню знань про їх біорізноманіття, географічний розподіл, коло хазяїв, екологію, поведінку та коєволюцію (Peat *et al.*, 2009). Молекулярні ознаки отримали широке застосування і вважаються найбільш підходящими для видової ідентифікації та систематики ЕПН (Steinernematidae, Heterorhabditidae) в цілому, особливо у випадках таксономічної невизначеності, ідентифікації членів видового комплексу та диференціації морфологічно подібних видів (Peat *et al.*, 2009).

1.1.1. Діагностичні ознаки родини STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934 (= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953)

Діагностування викладено за: Adams, Nguyen, 2002; Hunt, 2007; по Hunt, Subbotin, 2016.

Panagrolaimomorpha: Strongyloidoidea. Паразити комах та інших членистоногих. Інвазійні личинки не живляться, переносять симбіотичні ентомопатогенні бактерії. Дорослі особини першого та другого покоління зазвичай розмножуються амфіміксісом, але є також гермафродитний представник *S. hermaphroditum*. Яйцекладні та яйцеживородні.

Дорослі особини. Нематоди середні та великі за розміром, досить роздуті, губна область із шістьма губними та чотирма головними папілами (сосочками). Бічні поля нечіткі або відсутні. Хейлорабдіони утворюють склеротизоване кільце, задня стома воронкоподібна. Глотка рабдитоподібна, складається із циліндричного прокорпусу з невеликим метакорпальним бульбусом, коротким перешийком (істмусом) і округлим базальним бульбусом з невеликими клапанними пластинками. Нервове кільце розташоване в області перешийка, екскреторна пора чітка, зазвичай розташована попереду нервового кільця. Статева система самців представлена однією статевою трубкою. Спікули парні, міцні, головка чітка. Губернакулум великий, роздвоєний з вентрального боку. Бурса відсутня. Копулятивні сосочки зазвичай складаються з однієї середньочеревної, преклоакальної папіл плюс 10-14 парних сосочків (іноді одна з даної пари може бути відсутня). Хвіст самця короткий, кінець заокруглений, може нести мукро різної довжини. Вульва самиць у вигляді серединної поперечної щілини, статевая система амфідельфічна. Хвіст самки короткий, конічний (рід *Steinernema*), або значно довший за анальний діаметр тіла (рід *Neosteinernema*). Вирости, присутні на хвості, можуть мати таксономічне значення (Mracek *et al.*, 2016).

Інвазійні личинки (ІЛ). Стрункі, червоподібні. У губній області відсутній дорсальний зубоподібний відросток, за винятком *S. unicornum*. Кутикула тонко-кільчаста. Рот і анус закриті, стома колапсує, глотка нефункціональна, редукована; симбіотичні бактерії зазвичай видно в кишкових міхурцях, розташованих у просвіті безпосередньо позаду базального бульбусу. Бічне поле помітне, з вісьмома гребенами (тобто

дев'ятьма вирізками). Екскреторна пора розташована попереду нервового кільця. Хвіст середній, конічний, звужується до загостреного кінця (рід *Steinernema*), або більш довший, що звужується до ниткоподібного кінця (рід *Neosteinernema*).

Окрім цього, у роді *Steinernema* виділяють п'ять філогенетичних груп т. зв. «групи видів», які показують взаємозв'язок між групою певних близьких видів даного роду, і базуються на основі молекулярно-генетичних досліджень по рибосомальній РНК гена D2-D3 28S, а також довжині тіла інвазійних личинок (далі – ІЛ): група «*glaseri*» (ІЛ L = 1000 мкм); група «*feltiae*» (ІЛ L = 700-1000 мкм); група «*intermedium*» (ІЛ L = 600-700 мкм); група «*carpocapsae*» (ІЛ L = 600 мкм) та невелика група «*bicornutum*». Група «*bicornutum*» відрізняються від решти тим, що ІЛ мають дві характерні рогоподібні структури в області голови. Слід зазначити, що наведені вище морфологічні групи не обов'язково конгруентні групам на основі молекулярних ознак (Nguyen, Hunt та Mracek, 2007).

1.1.2. Діагностичні ознаки родини HETERORHABDITIDAE Poinar, 1976

Діагностування викладено за: Adams та Nguyen, 2002; Hunt, 2007; по Hunt та Subbotin, 2016.

Rhabditomorpha: Strongyloidea. Облігатні паразити комах та інших членистоногих. Інвазійні личинки не живляться, переносять симбіотичні ентомопатогенні бактерії. Перше покоління дорослих особин гермафродитне, друге покоління розмножується амфіміксисом. Яйцекладні та яйцеживородні.

Дорослі особини. Губна область містить шість окремих конусоподібних губ, кожна з яких має на кінці сосочок. Амфідіальні отвори невеликі. Стома широка, неглибока, хейлостома утворює кільце, інші частини зрослися. Глотковий комір присутній. Глотка коротка, з циліндричним прокорпусом,

без метакорпального бульбусу, перешийок слабкий, базальний бульбус сферичний, з дрібними клапанними пластинками. Нервове кільце розташоване в районі перешийка, екскреторна пора зазвичай відкривається позаду базального бульбусу. Вульва посередині, поперечна. Гермафродитні особини з двома протилежними яєчниками; амфіміктичні самиці з амфідельфічним типом. Хвіст короткий коноїдний. Спікули у самців парні, розділені, тонкі, більш-менш прямі з маленькою та зміщеною головкою. Губернакулум лінійний (латеральний вигляд), пластинчастий (вентральний вигляд). Бурса присутня. Зазвичай дев'ять пар статевих сосочків чи променів, іноді менше. Хвіст середній за розміром, конусоподібний, звужується до загостреного кінця.

Інвазійні личинки (ІЛ). Зазвичай заключені в поздовжньо-ребристу оболонку другої стадії. Спереду оболонка мозаїчна. Інвазійні личинки червоподібні, не живляться, мають апікально-дорсальну зубоподібну структуру в губному регіоні. Бічне поле з двома гребенями, хоча центральна вирізка погано помітна у світловий мікроскоп, тому область між гребенями виглядає гладкою. Рот і анус закриті, стома і глотка редуковані. Екскреторна пора розташована позаду нервового кільця. Симбіотичні бактерії зберігаються в кишечнику. Хвіст середній за розміром, конусоподібний, звужується до загостреного кінця.

1.2. Історія вивчення ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE)

1.2.1. Особливості становлення і розвитку ентомонематологічних досліджень у світовому контексті

Перші відомості про захворювання комах, які спричинені гельмінтами (нематодами), з'явилися досить давно, ще в XVII ст., проте лише із 30-х років XX ст., можна стверджувати про проведення досліджень вчених щодо

практичних підходів використання ентомопатогенних нематод (ЕПН) з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae*, зокрема для біоконтролю комах (Ед Люїс та ін., 2009).

Одним із перших видів ЕПН, який одразу ж привернув до себе увагу щодо свого проблематичного таксономічного положення, виявлено у пильщику *Lyda potrophica* Hartig (= *Cephalcia abietis* L.) в Німеччині, і описаний Г. Штайнером у 1923 році (Steiner, 1923) як *Aplectana kraussei* (тепер *Steinernema kraussei*). Штайнер попередньо відніс цей вид до оксиуридів роду *Aplectana* Railliet & Henry, 1916 – групи нематод відомих із амфібій, і, можливо, малоймовірно, комах. Він недовго залишався в цьому таксоні, оскільки через кілька років Травассос (Travassos, 1927), працюючи в Бразилії, перевів цей вид у новий створений ним рід *Steineria* Travassos, 1927, змінивши його пізніше в рід *Steinernema* Travassos, 1927. Кількома роками пізніше, у 1929 році, Г. Штайнер описав ще один вид ентомонематод – *Neoplectana glaseri* (тепер *Steinernema glaseri*), виявленого в Нью-Джерсі (США), в личинках хруща та *Popillia japonica* (Poinar, Grewal, 2012; Hunt, Subbotin, 2016). Майже одночасно з їх відкриттям, розпочались і перші спроби практичного застосування з метою управління чисельністю та обмеження шкідливості різних комах-шкідників.

У 1932 році Рудольфом Глазером вперше висловлено думку про перспективність використання нематод з роду *Neoplectana* (= *Steinernema*) у біологічному захисті рослин проти комах-шкідників. Р. Глазер разом із співробітниками в лабораторії у Нью-Джерсі (США), проводили дослідження по застосуванню нематоди *Neoplectana glaseri* (= *Steinernema glaseri*) проти личинок жука *Popillia japonica* Newm., а також зроблені спроби для контролю личинок інших жуків (зокрема *Costelytra zealandica*, *Pantomorus* sp.) (Яковлев, 2017).

У 1934 році Іван Миколайович Філіп'єв описує нематоду *Neoplectana feltiae* (= *Steinernema feltiae*), виявлену у совки *Feltia segetum* (Schiff.) Herbst (Insecta: Lepidoptera) у 1926 році вченими Удмуртської Республіки (на

північний схід від Європейської частини). Завдяки старанним зусиллям проф. І. М. Філіп'єва, зокрема повноцінному та точному опису *N. feltiae*, валідність щодо даного виду залишається актуальною і по цей час (Abd-Elgawad, Spiridonov, 2014). Ще тоді, І.М. Філіп'єв помістив рід *Steinernema* і рід *Neoaplectana* в нову підродину Steinernematinae, і припустив, що ймовірно, ці два роди відносяться до одного і того ж роду.

Наступними описаними видами виявилися *Neoaplectana bibionis* Bovien, 1937 і *Neoaplectana affinis* Bovien, 1937, які ізольовані від комарів-товстоніжок (Diptera: Bibionidae) у Данії (Bovien, 1937). У 1955 році Ярославом Вейзером (Weiser, 1955) описано інший полівалентний вид з роду *Neoaplectana* (= *Steinernema*), а саме *Neoaplectana carpocapsae* (= *Steinernema carpocapsae*), виявлений в личинках яблуневої плодожерки (Hunt, Subbotin, 2016).

У 1950-х, 1960-х і 1970-х роках низка нових видів з роду *Neoaplectana* (= *Steinernema*) описані з тогочасного СРСР. Однак, оскільки вони не мають формального опису (формальних підстав для виокремлення їх з-поміж інших), то вони розглядаються нині як «*nomina nuda*», і не мають офіційного статусу. Багато з цих «видів» можуть слугувати синонімами *S. feltiae*, або ж *S. carpocapsae* (Яковлев, 2017; Сігарьова *та ін.*, 2020). Вони були виявлені в різних кліматичних зонах: в північних областях – Ленінградська, Кіровська; в середній зоні Європейської частини СРСР – Мінська, Воронежська, Московська, Полтавська обл.; в південних областях – Молдавська СРСР; в Середній Азії – Узбекська СРСР; в Сибіру – Новосибірська і Оренбурзька області. Не дивлячись на досить-таки широку географічну розповсюдженість, неоплектани зустрічалися не часто. Так, на території тогочасної СРСР знахідки ЕПН роду *Neoaplectana* (= *Steinernema*) у загиблих комах-хазяях були зареєстровані: один раз в 1926 р., три рази в 50-х роках, 19 разів у 60-х роках, п'ять разів в 70-х роках (Сігарьова *та ін.*, 2021а).

Загалом, початок систематичних і ціленаправлених досліджень по вивченню ентомогельмінтів пов'язано з іменами таких вчених, як І.М. Філіп'єв, К.І. Скрябін, П.А. Положенцев, К.С. Кир'янова, А.К. Артюховський,

Н.А. Харченко, И.А. Рубцов, С.Л. Блинова, Г.В. Веремчук та ін. Великими науковими центрами окремих напрямів ентомогельмінтології були: Зоологічний інститут (ЗІН) АН, створений на базі Зоологічного музею, Гельмінтологічна лабораторія АН (ГЕЛАН), Воронежський лісотехнічний інститут, а згодом, і Всесоюзний інститут захисту рослин (ВІЗР) (Сігарьова та ін., 2021a).

У 1934 р. Іван Миколайович Філіп'єв – видатний вчений-зоолог, працюючи у Відділенні нижчих червів у Зоологічному інституті АН СРСР, публікує видатну по своїй глибині і охопленню для того часу фундаментальну працю про нематод і їх значення для сільського господарства («Нематоды вредные и полезные в сельском хозяйстве»), в якій підвів підсумки відомих на той час знань з біології, екології, проблем систематики і еволюції фіто- та, зокрема ентомонематод. Для нематод – патогенів комах наведено ключі до рівня роду, а для кожного виду поряд з морфологічним описом додано і діагностування (Сігарьова та ін., 2020). Положенцев П.А. і Кир'янова К.С., є авторами багаточисельних праць по ентомогельмінтам, завдяки яким, привернули увагу до цієї групи паразитичних організмів широке коло дослідників, і по суті, при сприянні академіка К.І. Скрябіна є основоположниками радянської ентомогельмінтологічної школи. Так, станом на кінець 70-х – поч. 80-х років, загальна кількість фахівців по нематодам нараховувала близько 400 осіб, з яких спеціалістів-ентомогельмінтологів налічувалось близько 19 осіб, з них 8 – вивчали ряд *Mermithida*, ще 8 – *Rhabditida*, і тільки 3 осіб враховували всю фауну нематод-паразитів комах (Сігарьова та ін., 2020).

З початку 1920-х до початку 1990-х років у світі описано лише десять дійсних видів *Steinernema*: два види в 1920-х роках, ще два в 1930-х, по одному в 1950-ті та 1960-ті, і чотири види в 1980-ті. З початку 1990 року швидкість опису нових видів роду *Steinernema* надзвичайно зросла при застосуванні молекулярно-генетичних даних (RFLP-аналіз ITS, секвенування ITS-регіону і D2-D3 регіону). Описано 85 видів *Steinernema*: 15 з них у 1990-

х, 39 у 2000-х і 31 у 2010-2016 рр. У зв'язку з цим, деякі вчені ставлять під сумнів таку видову різноманітність *Steinernema* і задаються питанням щодо потреби «перекалібрування» критеріїв виду на основі відмінностей у молекулярних послідовностях (Hunt, Subbotin, 2016).

Першим описаним видом з роду *Heterorhabditis*, як вважають, можливо був *Rhabditis hambletoni* Pereira, 1937 (Pereira, 1937), однак зараз він розглядається як «*species inquirendae*». Перший ж остаточний опис з'явився відносно пізно в історії нематології, коли Джордж Пойнар описав вид *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 із лялечки *Heliothis punctigera* Hall (Noctuidae) в Брекони (Південна Австралія) (Poinar, 1976). Родина Heterorhabditidae Poinar, 1976, на основі філогенетичних досліджень, запропонована Джорджем Пойнаром одночасно з описом типового роду *Heterorhabditis* (Hunt, Subbotin, 2016). Варто також зазначити, що значною мірою дана область нематології «створена» завдяки фундаментальним працям американського дослідника Джорджа Пойнара – автора п'яти книг і більш ніж 400 публікацій про систематику ЕПН (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*), їх структуру, палеонтологію, природних ворогів, епізоотологію, взаємозв'язки між хазяїнами тощо (Poinar, Grewal, 2012).

Разом із описом нових видів ЕПН, попутно вирішувались різного роду фундаментальні проблеми вивчення цих організмів. Значна кількість ізолятів цих ентомопатогенів виділених із загиблих комах-шкідників під час епізоотій в природі, стали основою створення біологічних препаратів (біопестицидів) інсектицидної дії.

Однак, на початковому етапі вивчення ЕПН не було відомо про ключову роль симбіотичних бактерій. Лише у 60-ті роки XX ст. Герард Томас і Джордж Пойнар вперше показали, що розвиток ентомопатогенних нематод видів *Steinernema carpocapsae* і *Heterorhabditis bacteriophora* відбувається тільки в присутності їх симбіотичних бактерій з родини Enterobacteriaceae, симбіоз з якими є невід'ємною частиною біології ЕПН з родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Poinar, Grewal, 2012; див. підрозділ 1.5).

Бурхливий розвиток ентомонематологічних досліджень розпочався у кінці 70-х початку 80-х років минулого століття. Новий етап вивчення нематод – патогенів комах та їх бактеріальних сателітів передбачав вирішення чітких практичних завдань, зокрема, розробку економічно виправданих і технологічно надійних методів культивування та застосування.

Ще в 1946 р. академік Скрябін К.І. – основоположник комплексної (біолого-медико-ветеринарно-фітопатологічної) теоретико-прикладної гельмінтологічної науки наголошував, що вивчення гельмінтів, які паразитують у тілі комах і викликають їх загибель, представляє собою значне теоретичне значення і має суттєве практичне значення у майбутньому, адже вбачав, що подібні дослідження можуть слугувати основою для розробки ефективних біологічних методів боротьби з численними комахами – шкідниками сільськогосподарських культур і лісових масивів (Сігарьова *та ін.*, 2021a).

Перші ж прикладні дослідження ЕПН роду *Neoaplectana* (= *Steinernema*) розпочалися за ініціативи Г.В. Веремчук, яка розробила механізм масового культивування ЕПН та бактерій-симбіонтів на штучних середовищах, що не вимагало дорогого устаткування і високої кваліфікації обслуговуючого персоналу. Пізніше, Данілов Л.Г. створив комерційний препарат на основі ЕПН з роду *Steinernema* (Abd-Elgawad, Spiridonov, 2014).

На основі наукових і технологічних досліджень, через низку проб і помилок, на сьогоднішній день склалася типова картина, яка передбачає передовсім створення біотехнологічних продуктів (біопестицидів) на основі ЕПН, вивчення результативних стратегій їх застосування у польових умовах (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012; Martinez, Heriberto *et al.*, 2017). Однак, лише декілька видів ЕПН мають комерційне значення для використання у біологічному контролі, і саме ці види (зокрема, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* і *Heterorhabditis bacteriophora*) також є найбільш інтенсивно досліджуваними. У багатьох країнах існують малі й великі компанії, які культивують нематод «*in vitro*» у біореакторах у рідкому чи на

твердому середовищі, а інколи, «*in vivo*» безпосередньо використовуючи лабораторних комах-хазяїв (наприклад, *Galleria mellonella* L., 1758, *Tenebrio molitor* L., 1758 та інші види рядів Lepidoptera, Coleoptera, Diptera тощо) (Shapiro-Ilan, Gaugler, 2002; Shapiro-Ilan *et al.*, 2012).

Культивування ентомопатогенних нематод технологіями *in vitro* у біореакторах вимагає досить тривалого пошуку оптимальних біотехнологічних умов, особливості якого, зазвичай, тримаються в секреті, внаслідок чого, практикується здебільшого серед великомасштабних підприємств в індустріально розвинених країнах. У випадку лабораторного використання та польових досліджень культивування ЕПН *in vivo* є більш доцільним методом. До того ж, культивування *in vivo* підходить для нішевих ринків і малих виробників у напівпромисловому масштабі, де існує брак капіталу, наукового досвіду або інфраструктури, у порівнянні з технологією культивування *in vitro* (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012).

Згідно даних Lasey *et al.* (2015), трохи більше 4% сучасного ринку по продажам займають комерційні біопрепарати на основі ентомопатогенних нематод – 18,1 млн. доларів США. Левову частку серед них (дещо більше 50%) займають біопрепарати на основі *Bacillus thuringiensis* – 210,8 млн. доларів США, поряд з іншими бактеріями на частку яких припадає – 49,3 млн. доларів США, потім слідують – препарати на основі грибів та вірусів – 77,1 та 49,2 млн. доларів США, відповідно.

1.2.2. Напрями, досягнення та перспективи ентонематологічних досліджень в Україні

Ентонематологія – наука молода і порівняно мало вивчена в нашій країні, навіть серед зоологів, гельмінтологів. Вивчення ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae у контексті цієї науки характеризується слабким розвитком, що, на нашу думку, пояснюється недостатньою «популярністю» серед біологів їх перспектив і можливостей у

зв'язку з недостатньою пропрацьованістю певних теоретичних й практичних аспектів, а також, що не менш важливо, значною складністю освоєння цієї своєрідної екологічної групи нематод через прихований спосіб життя і не частим траплянням у природі. Незважаючи на те, що ентомопатогенні нематоди (ЕПН) з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* поширені в різних екосистемах більш ніж 60-ти країнах світу (Bhat *et al.*, 2020), відомості про їх поширення на території України є досить фрагментарними (Сікура, Гунчак, 2018; Сігарьова *та ін.*, 2020).

Перші дослідження ентомопатогенних нематод в Україні з'явилися ще в 1950-1970-х рр. Піонерами у вивченні ЕПН в республіці поправу можна вважати – ентомолога Л. В. Пучкову, яка у 1952 р. виявила на посівах буряків цукрових Весело-Подільської дослідної селекційної станції (Семенівський р-н, Полтавська область) велику кількість заражених личинок бурякових довгоносиків (*Bothynoderes punctiventris* Germar, 1824) та відомого вченого-нематолога – К. С. Кірьянову, зусиллями якої нематоди виділено із *B. punctiventris* та віднесено до роду *Neoaplectana* (тепер *Steinernema*), а дещо пізніше описані як новий вид під назвою *Neoplectana bothynoderi* Kirjanova et Putschkova, sp. n., який пізніше був зведений до виду *S. feltiae* (Сігарьова *та ін.*, 2012; Сігарьова *та ін.*, 2020).

Перші ж фундаментальні і ціленаправлені дослідження по вивченню ЕПН в Україні розпочато зовсім нещодавно (близько 15-ти років тому), наукові дослідження зосереджені в декількох наукових центрах: Національному університеті біоресурсів і природокористування України (НУБіП, м. Київ), Інституті захисту рослин Національної аграрної академії наук України (ІЗР НААН, м. Київ) та Інституті зоології ім. І. І. Шмальгаузена Національної академії наук України (ІЗ НАН, м. Київ).

Не можна не згадати про дослідження, які виконувались Стефановською Т.Р. у НУБіП щодо ефективності застосування ЕПН проти деяких шкідливих видів комах. Також виділено з ґрунту плодового саду Центрального Лісостепу України та ідентифіковано шляхом молекулярно-

генетичних методів вид *Heterorhabditis bacteriphora* Poinar, 1975 (Stefanovska, 1998; Stefanovska *et al.*, 2008; Стефановська, 2007; Стефановська, Коханець, 2008; Стефановська, Кава, 2012).

Варто зазначити про наявні спорадичні повідомлення інших дослідників (Решетова, Федоренко, 2013) щодо вивчення ефективності застосовування комерційних препаратів на основі ентомопатогенних нематод (вид *Steinernema feltiae*) проти комах-шкідників (Sciaridae) у грибних господарствах Київської області з вирощування печериць. Результати дослідження показали, що внесення біопрепарату на основі ЕПН зменшувало чисельність Sciaridae на 15-20%, а урожайність печериць у досліді в порівнянні з контролем збільшувалась на 20%.

Значний обсяг робіт по дослідженню ентомопатогенних нематод виконано на базі лабораторії нематології ІЗР НААН. На основі багаторічних наробок лабораторії визначено стратегічні напрями першочергових досліджень у нематології, серед яких, одне з чільних місць відводиться дослідженню ентомопатогенних нематод (Steinernematidae та Heterorhabditidae), як бази для створення біопрепаратів нового типу (Kharchenko *et al.*, 2012; Сігарьова, 2012; Сігарьова *та ін.*, 2021a; Сігарьова *та ін.*, 2021b). За результатами досліджень виявлено досить велику кількість ізолятів ентомопатогенних нематод, які за морфологічними характеристиками належали до трьох видів: *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934, *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts *et al.*, 1982 та *Heterorhabditis bacteriphora* Poinar, 1975. Випробування й оцінка в лабораторних і польових умовах біопотенціалу виявлених ізолятів ЕПН щодо шкідливих видів комах (зокрема, личинок звичайного бурякового довгоносика, личинок діабротики, східної та яблуневої плодожерок, личинок західного травневого хруща та імаго вовчка звичайного) дали можливість одержати високі показники смертності, яка не поступалася комерційним препаратам на основі ентомопатогенних нематод (Ентонем та Scia-Rid зокрема) (Kharchenko *et al.*, 2012; Сігарьова, 2012; Сігарьова, Харченко, 2019; Сігарьова *та ін.*, 2021b).

Істотний вклад у вивчення фауни ЕПН країни внесли обстеження не змінених під впливом людської діяльності природних екосистем заповідного фонду України (заповідники, національні природні парки, місцеві ландшафтні парки тощо) Яковлева Є. Б. (ІЗ НАН України). У складі нативної фауни ним виявлено та ідентифіковано шляхом застосування молекулярного (секвенування гена ITS1–5.8S–ITS2 рДНК) і морфологічного методів ентомопатогенні нематоди з родини Steinernematidae, роду *Steinernema* Travassos, 1927, а саме: *S. arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982 та *S. feltiae* Filipjev, 1934 (Яковлев, 2012; Яковлев, Харченко, 2013; Yakovlev *et al.*, 2014).

Підсумовуючи все сказане вище, можна зазначити, що дослідження цієї важливої групи корисних для сільського господарства біоагентів в Україні, фактично, знаходяться в зародковому стані. За весь період досліджень вдалось здійснити пошук ЕПН (Steinernematidae та Heterorhabditidae) у природних і окультурених стаціях, визначити видову належність в різних біоценозах, а також встановити певну ентомоцидну активність виділених ізолятів на різних видах комах. Проте, багато інших теоретичних і першочергових практичних питань, зокрема: характер їх поширення та особливості моніторингу в агроєкосистемах; проведення обстежень мікроценозів комах, з подальшим встановленням причин загибелі та відбір загиблих особин за типовими для ЕПН ознаками ураження; первинний відбір патогенних ізолятів, використання популяцій, пристосованих до екстремальних умов навколишнього природного середовища та їх традиційна селекція; визначення технологічних параметрів культивування місцевих ізолятів ЕПН та створення методів масового їх розмноження і, нарешті, отримання виробничого високопродуктивного штаму з подальшим переведенням його в препаративну форму, – й досі залишились невирішеними, і на які слід зосередити науковцям в майбутньому.

У вивченні ентомопатогенних нематод переважає фауністичний підхід. Переважання робіт по фауні ЕПН, на нашу думку, викликано тим, що ми не

повною мірою маємо необхідну інформацію щодо неї на території України. Відтак, очевидно, що вивчення фауни ЕПН і їх поширення варто визнати одним із основних напрямків ентомонематології в нашій країні ще на ряд років. Це, без сумніву, поки є відчутним гальмом у їх подальшому прикладному вивченні у якості біоагентів проти шкідників сільськогосподарських культур.

1.3. Географічне поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis*

За останні роки накопичено багато фактичного матеріалу щодо біогеографії ентомопатогенних нематод (ЕПН), що безсумнівно вносить істотний вклад у пізнання просторових тенденцій та закономірностей їх розселення в різних країнах світу (Hominick *et al.*, 1996; Hominick, 2002; Сігарьова *та ін.*, 2010; Yakovlev, Kharchenko, 2016).

Ентомопатогенні нематоди є широко поширеними (= *sensu lato*). Як свідчать дані літератури, ЕПН з родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* зареєстровані на всіх континентах світу, окрім Антарктиди (Griffin *et al.*, 1990). На сьогоднішній день, серед цієї екологічної групи нематод встановлено помітне переважання *Steinernema* spp. у видовому складі над *Heterorhabditis* spp. Дане твердження актуальне як на глобальному рівні, так і на локальному (в контексті держави) (Сігарьова *та ін.*, 2010; Сігарьова *та ін.*, 2021a).

Так, з різних країн світу (>70 країн) ідентифіковано близько 100 валідних видів *Steinernema* spp. та 21 вид *Heterorhabditis* spp. (Bhat *et al.*, 2020). Найбільшу кількість видів *Steinernema* spp. зареєстровано в Китаї (n=19), а найбільшу кількість видів *Heterorhabditis* spp. (n=7) – у Сполучених Штатах Америки. Найбільшу кількість ЕПН обох родів виявлено в Китаї (n=23) (Yakovlev, Kharchenko, 2016). З описаних видів *Steinernema* – 15 були знайдені або зареєстровані в Європі та/або неєвропейських регіонах

Середземномор'я, і лише 4 види були зареєстровані в Європі з роду *Heterorhabditis* (Tarasco Eustachio *et al.*, 2023). Як припускають автори Yakovlev, Kharchenko (2016), виявлення та характер поширення видів ЕПН (*Steinernema*, *Heterorhabditis*) залежать від інтенсивності дослідженості різних країн нарівні з біологічними особливостями ЕПН і окремими умовами у різних країнах.

Більшість нових видів описано в країнах Азії (Китай, Пакистан, Південна Корея, Оман, Індія, Індонезія, Іран, Ліван, Туреччина, Непал, Малайзія, В'єтнам, Японія, Саудівська Аравія, Ізраїль, Шрі-Ланка, Таїланд та ін.), однак дослідження в деяких азіатських країнах все ще перебувають у «зародковому стані» (Bhat *et al.*, 2020). Спостерігається помітне переважання *Steinernema* spp. у видовому складі над *Heterorhabditis* spp. Деякі нові види зареєстровано в Австралії, але це не стосується Нової Зеландії, де було проведено дуже мало досліджень або ж вони взагалі відсутні (більшість країн Океанії, окрім Папуа-Нова Гвінея та Фіджі). У видовому відношенні тут переважають *Heterorhabditis* spp. над *Steinernema* spp. Так само обмаль інформації про цих нематод надходить із Центральної Америки та Карибського басейну, а наявні повідомлення щодо виявлення їх у Гватемалі, Гваделупі, Коста-Рікі, Пуерто-Ріко та Кубі свідчать про майже однакове видове різноманіття серед *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. з невеликим переважанням перших. Натомість, у Північній Америці (Канада, США, Мексика) описано багато нових видів (особливо в США), але різкого переважання *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. також не спостерігається, тоді як у Південній Америці (Аргентина, Бразилія, Венесуела, Чилі, Колумбія) описано кілька місцевих видів нематод. Тут тенденція щодо розподілу також не порушується – представники *Steinernema* spp. дещо переважають над *Heterorhabditis* spp. Європейські країни (Бельгія, Данія, Італія, Німеччина, Португалія, Франція, Англія, Ірландія, Чеська Республіка, Болгарія та інші) активно досліджують видову різноманітність ЕПН. Найбільшим видовим складом відзначається рід *Steinernema* spp. у

порівнянні із *Heterorhabditis* spp. Повідомлялося про багато нових видів та інших раніше описаних видів з Африки, в таких країнах, як Алжир, Бенін, Єгипет, Камерун, Кенія, Марокко, Нігерія, Танзанія, Ефіопія, однак значна її частина досі залишається недослідженою. Представники *Steinernema* spp. незначно переважають у видовому відношенні над *Heterorhabditis* spp. Щодо Антарктики, то з метою пошуку ізолятів ЕПН (*Steinernema*, *Heterorhabditis*), які б адаптувалися до дії низьких температур, Christine T. Griffin *et al.* (1990) обстежено ґрунти із субантарктики, а саме: о. Південна Джорджія (Георгія) і о. Сайні, які розташовані у морській Антарктиці. Результати аналізу засвідчили про відсутність ентомопатогенних нематод у цій місцевості. Однак, твердження щодо наявності/відсутності ЕПН в Антарктиці ще вимагає свого однозначного підтвердження, особливо для субантарктики. Разом з тим, проведений нами аналіз літературного огляду (Holovachov, 2014) щодо поширення наземних і прісноводних нематод в усіх регіонах Арктики (архіпелаг Шпіцберген, о. Ян-Маєн, о. Ісландія, о. Гренландія, територія Нунавут, Північно-Західні території, штат Аляска, гирло річки Лена, п-ів Таймир, архіпелаг Північна Земля і Нова Земля), який включає список із 391 виду, що належать до 146 родів, 54 родин і 10 рядів, засвідчив про відсутність відомостей про ентомопатогенні нематоди (*Steinernema*, *Heterorhabditis*).

В цілому варто підкреслити, що у межах роду *Steinernema* два види – *S. carpocapsae* та *S. feltiae*, схоже, мають глобальне поширення (космополіти). Інші види *Steinernema* spp. мають більш обмежене географічне поширення (Nominick, 2002). Дане твердження є не зовсім однозначним, адже існує чимало відомостей, де ідентифікація ЕПН «зупинялась» на рівні роду.

Дещо інша картина спостерігається щодо роду *Heterorhabditis*. Як уже зазначалося, представників *Heterorhabditis* у 5 разів менше порівняно із *Steinernema*, до того ж, наявні дані свідчать, що набагато менше ізолятів *Heterorhabditis* (у порівнянні з *Steinernema*) ідентифіковано на видовому рівні через відносно консервативні морфологічні ознаки, а позитивна

ідентифікація вимагає молекулярних методів дослідження або методів схрещування (кросбридингу). У межах роду *Heterorhabditis* існує один полівалентний вид *H. indicus*, місця поширення якого, здається, тяжіють до тропічних країн, іншим широко поширеним видом (= *sensu lato*) є *H. bacteriophora* (Hominick, 2002). Список ЕПН (*Steinernema*, *Heterorhabditis*) постійно поповнюється новими «видами» і збільшується у геометричній прогресії, а отже варто очікувати, що ареал багатьох відомих видів ЕПН буде розширюватись.

Таким чином, підсумовуючи наведену інформацію, можна стверджувати, що незважаючи на постійні фауністичні дослідження ЕПН на різних континентах світу, кількість не досліджених локацій ще досі велика (зокрема в Африці, країнах Океанії), і тому все ще необхідні подальші дослідження для вивчення неохоплених географічних районів, зокрема і в Україні, з метою виявлення та подальшого використання додаткових видів ентомопатогенних нематод.

1.4. Ентомопатогенні нематоди – природні регулятори чисельності комах-шкідників в агроценозах

Склад гетеротрофної частини будь-якого біоценозу надзвичайно різноманітний та динамічний. У багатьох випадках, окремі види зооценозу і мікробіоценозу екосистеми, формують активні паразитарні комплекси – взаємодія за типом «хижак-жертва», «паразит-хазяїн», що позитивно впливають на стійкість та видову стабільність біоценозів (Wall *et al.* 2015). Велике значення в ґрунтовому середовищі екосистем належить ентомопатогенним організмам, які спричиняють різні інфекційні та паразитарні хвороби: гельмінтозної (гельмінтози, нематодози), грибної (мікози), бактеріальної (бактеріози), вірусної (вірози) і протозоонозної (протозоонози) етіології (Дядечко *та ін.*, 2001; Deka *et al.* 2021).

Захворювання комах значним чином впливають на динаміку чисельності популяцій у природі та культурі. У природі захворювання комах часто мають досить складну етіологію, оскільки часто викликаються декількома збудниками (змішана інфекція, чи мікст-інфекція). Це сприяє більш швидкому розвитку епізоотій охоплюючи великі райони, впливає на поведінку та фізіологію призводячи до глибоких змін в організмі жертв (Білик *та ін.*, 2017; Spescha *et al.* 2023; Puza, Tarasco, 2023).

Паразитизм гельмінтів, зокрема нематод, у комах – менш часте явище, ніж серед хребетних тварин і людини. Ця екологічна група нематод пристосувалася до існування у тілі комах, викликаючи нематодні захворювання (нематодози).

Нематодози викликають круглі черви класу Nematoda. Їх тіло прозоре, нитко- або веретеноподібне, звужується до одного або двох кінців, в поперечному розрізі кругле, вкрите щільною кутикулою, довжина варіює від декількох десятків мікрон до 35 см. Усього відомо більше 1000 видів паразитичних ентомонематод, які так чи інакше пов'язані з комахами – від випадкових зв'язків до справжніх паразитичних форм. Ними уражаються комахи більше ніж 100 родин із 21 ряду, серед яких в переважній більшості жуки, лускокрилі, двокрилі та інші (Білик *та ін.*, 2017).

Найбільше значення в зниженні чисельності комах серед усієї екологічної групи ентомонематод мають представники з двох родин рабдитид – Steienernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida). Завдяки їх облігатному мутуалістичному зв'язку із кишечними бактеріями-симбіонтами родини Enterobacteriaceae Rahn, 1937 (підрозділ 1.5), вони здатні знищувати комах та розвиватися в їхніх трупах, що дозволяє використовувати їх з практичною метою в якості біоконтролю для захисту рослин від економічно важливих комах-шкідників (Сігарьова, Харченко, 2019; Yadav *et al.*, 2023).

У природі, шанси знайти комах уражених ентомопатогенними нематодами (ЕПН) становлять в середньому менше 3% (Orozco *et al.*, 2014),

за винятком виникнення широкої епізоотії із значною екстенсивністю інвазії або дослідження великої вибірки комах. Яскравим прикладом і підтвердженням цього є огляд (Nielsen, Philipsen 2003), який проводили в агроценозах Данії, з метою отримання інформації щодо можливого впливу ентомонематод на популяції шкідливих комах, головним чином на весняну капустяну муху *Delia radicum* L., 1758 (Diptera: Anthomyiidae). Протягом двох років, на полях при вирощуванні капусти за органічною технологією, а також на посівах люцерни й гороху зібрано та проаналізовано понад 6000 комах: *Bibio* spp. (Diptera), *Agriotes lineatus* L., 1767 (Elateridae), *Hepialus lupulinus* L., 1758 (Hepialidae), *Phyllopertha horticola* L., 1758 і *Pterostichus nigrita* Paykull, 1790 (Scarabaeidae), *Cantharis* sp. (Cantharidae), Curculionidae (вид комах не ідентифіковано), з поміж яких 4000 припадали на *D. radicum*. Результати досліджень засвідчили, що 69 ос. різних видів комах інвазовано трьома видами ентомопатогенних нематод (*Steinernema feltiae* Filipjev, 1934, *S. affine* (Bovien, 1937), *S. intermedium* (Poinar, 1985)) з роду *Steinernema* (Rhabditida: Steienernematidae), серед них лише 4 екз. *Delia radicum*.

Дослідження Akhurst *et al.*, 1992 показово демонструють особливості прояву епізоотичного процесу за ураження ентомопатогенними нематодами шкідливих комах-фітофагів (Coleoptera: Scarabaeidae) на плантаціях цукрової тростини. Так, ними виявлено два види ЕПН з роду *Heterorhabditis* (Rhabditida: Heterorhabditidae), що спричинили широку епізоотію серед чотирьох видів комах: *Lepidiota crinita* Brenske, 1900, *L. negatoria* Blackburn, 1912, *L. pictilicollis* Lea, 1916 та *Antitrogon consanguineus* Blackburn, 1911, які живляться цукровою тростиною. Епізоотія поширилася на 5 га, і, за оцінками Akhurst *et al.*, відмічали десятки тисяч комах інфіковані на момент відбору проб. Гетерорабдитиди (*Heterorhabditis* sp. А, *Heterorhabditis* sp. В) виявлено у 65% пробах ґрунту, а 3% проб містили обидва види (*Heterorhabditis* spp. А та В). Рівень зараження серед личинок комах, зібраних з різних частин полів, варіював від 26 до 100%.

У вітчизняній науковій літературі зареєстровано лише один випадок природної нематодної епізоотії, викликаній ентомопатогенними нематодами *Steinernema* (Steinernematidae) серед личинок звичайного бурякового довгоноса *B. punctiventris* Germar, 1824 на посівах буряків цукрових Весело-Подільської дослідно-селекційної станції (Полтавська область) у 1952 році (Сігарьова *та ін.*, 2020). Із тих пір більше випадків нематодних інфекцій (викликаних ЕПН з родин Steinernematidae, Heterorhabditidae) серед комах не було зафіксовано.

Встановлено, що інтенсивність зараження комах ЕПН у природних умовах залежить від багатьох ендогенних та екзогенних факторів (Labaude, Griffin, 2018). Головним чином, від кількості інвазійних личинок нематод, які знаходяться в зоні перебування жертви та від тривалості вільного контакту паразита з хазяїном, а також температури зовнішнього середовища. Нематоли активно проникають також в комах, які загинули від інших нематод, або ж які загинули, наприклад, під дією пестицидів.

Окрім цього, слід зазначити, що на зараження комах, впливає і вид рослини, якою безпосередньо живиться фітофаг. За останні роки в галузі біохімії рослин отримано переконливі свідчення того, що деякі рослини при пошкодженні їх комахами-фітофагами виділяють у навколишнє природне середовище специфічні леткі речовини, які «приманюють» до себе природних ворогів (хижаків чи паразитів) (Clavijo McCormick *et al.*, 2012).

Так, швейцарські вчені (Rasman *et al.*, 2005) виявили, що якщо ґрунтоживучі личинки західного кукурудзяного жука *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1868 починають жити коренями кукурудзи, то в ґрунт виділяються специфічні леткі речовини (передусім Е-бета-каріофілен), які стимулюють личинок ентомопатогенних нематод *Heterorhabditis megidis* (Rhabditida: Heterorhabditidae). Разом з тим, встановлено, що дана особливість властива тільки давнім європейським сортам кукурудзи і одному з найближчих диких родичів кукурудзи – *Zea mays parviglumis*. Нові ж американські сорти кукурудзи (які все більше культивовані зараз в Європі),

не виробляють каріофілену у відповідь на напад шкідників, а відтак, сильно ними ушкоджуються. Зважаючи на вищенаведене, автори (Rasman *et al.*, 2005) наголошують, що при селекції нових сортів (кукурудзи зокрема), необхідно приділяти особливу увагу їх здатності виробляти Е-бета-каріофілен й інші подібні речовини, які слугують для «заманювання» природних ворогів комах-фітофагів.

1.5. Біолого-екологічні особливості ентомопатогенних нематод з родин STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE

Впродовж багатьох років нематоди з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae залишались маловивченими із-за складності їх виявлення і діагностування, що обумовлено особливостями біології. Особливістю біології ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) є те, що вони досить подібні між собою, проте сам тип трофічного зв'язку з комахами-хазяями виник у цих двох групах незалежно один від одного. Так, нематоди родини Heterorhabditidae – це родичі нематоди *Caenorhabditis elegans*, а Steinernematidae близькі до ґрунтових нематод-панагролаймід (Яковлєв, 2017).

Ентомопатогенні нематоди (ЕНП) ведуть прихований спосіб життя – розвиток личинок і дорослих особин розірваний у просторі та часі, у зв'язку з чим виявляються або тільки інвазійні личинки в ґрунті, або ж їх дорослі стадії – в личинках і лялечках комах-хазяїв. Відповідно до цього, перші знахідки ЕПН пов'язані з аналізом причин загибелі різних комах, їх розтином та подальшим виділенням з трупів жертв. Обстеження ґрунтів з метою виділення інвазійних личинок, дослідники почали займатися вже після однозначного встановлення життєвих циклів їх розвитку (Poinar, Grewal 2012).

Життєвий цикл ентомопатогенних нематод (ЕНП) розпочинається з того, що личинка третьої стадії, яка є єдиною вільноживучою стадією цих

нематод, розшукує та інфікує жертву – личинку комах в ґрунті. Інвазійні личинки (ІЛ) пасивно (з кормом) чи активно, наблизившись до комах-хазяїна проникають всередину тіла. Воротами інфекції (місце, через яке проникає патоген у тіло хазяїна) у стейнернематид зазвичай слугують дихальця або ж інші природні отвори (рот, анус) у тілі комах, на відміну від гетерорабдитид, які проникають всередину тіла переважно через міжсегментні мембрани кутикули, причому в більшості випадків у районі голови та стравоходу, використовуючи при цьому свій дорсальний кутикулярний зуб (Burnell, Stock, 2000).

Так, дослідження (Nguyen, Smart, 1991) проведені за сумісного утримання в чашках Петрі нематод *Steinernema scapterisci* Nguyen & Smart, 1990 з капустянками *Scapteriscus acletus* Rehn & Hebard, 1916, дозволили встановити, що через 3 год нематоди були виявлені в передньому відділі травного каналу (стравохід і зоб), у задній частині – від місця впадіння мальпігієвих судин до анального отвору їх виявлено не було. Інвазійні личинки також виявлені в трахеях, особливо в грудному відділі. На основі цих даних, можна зробити висновок, що основним місцем проникнення є ротовий отвір та дихальця. Як показали результати аналізу загиблих комах, майже 85% нематод дочірнього покоління локалізовано у грудному відділі, 13% – голові та 2% – черевці. Спосіб проникнення та подальша локалізація ЕПН в тілі жертви – комах-хазяїна (топічна специфічність), є вкрай важливими для пізнання механізмів розвитку патологічного процесу.

Одразу ж після проникнення ІЛ у порожнину тіла жертви, за рахунок високого внутрішнього гідростатичного тиску тіла у поєднанні з його незначним діаметром (8-15 мкм), нематоди «продавлюють» внутрішні тканини комах, і таким чином потрапляють до гемолімфи. Після чого, виходять із «інвазійного» (латентного) стану: у них активізується стравохід і бактерії-симбіонти, що зберігаються у середній кишці, звільняються і потрапляють у гемоцель комах. Гемолімфа комах забезпечує сприятливе середовище для росту бактеріальних клітин, які продукують токсини та

екзоферменти (Burnell, Stock, 2000). У результаті зараження бактеріями та механічного ушкодження нематодами внутрішніх органів комахи, останні через 2-3 доби гинуть від септицемії. У біомасі внутрішніх органів загиблої комахи, що піддалися розкладу, а також у скупченнях бактерій і формується перше покоління *Steinernematidae*, що складається з самців і самиць (рис. 1.1).

У *Heterorhabditidae* у першому поколінні наявні тільки протерандричні гермафродити, що мають фенотип самиць. Перше покоління нематод (у великих та середніх за розміром комах) утворює зазвичай ще одне покоління, особини якого дещо менші за розмірами (рис. 1.1). Друге покоління нематод вичерпує запаси їжі у трупі хазяїна, і із накопиченням метаболітів та зниженням доступності їжі виникає ситуація, при якій у момент линьки з першої на другу личинкову стадію ювенільні нематоди розвиваються у так звану інвазійну або дауер-личинку (*Dauerlarve*, або *Latenzlarven*) (від нім. *dauern* – "заклювати"). Варто наголосити, що навіть одна інвазійна личинка *H. bacteriophora*, потрапивши всередину тіла комахи, може спричинити інфекцію, з подальшим утворенням двох, а інколи, навіть і трьох поколінь. Патологічний процес, як правило, буде продовжуватися доти, доки вміст тіла комахи-хазяїна не зруйнується повністю.

У вітчизняній літературі слово «*dauerlarve*» не перекладається зовсім або ж перекладається буквально, як «тривала» або «що триває» личинка, тому адекватним терміном для цього слова можна вважати – «латентна личинка». Інвазійні (латентні) личинки мігрують у навколишнє середовище, і цикл таким чином – замикається. Разом із собою вони відносять і декілька бактеріальних клітин-сателітів.

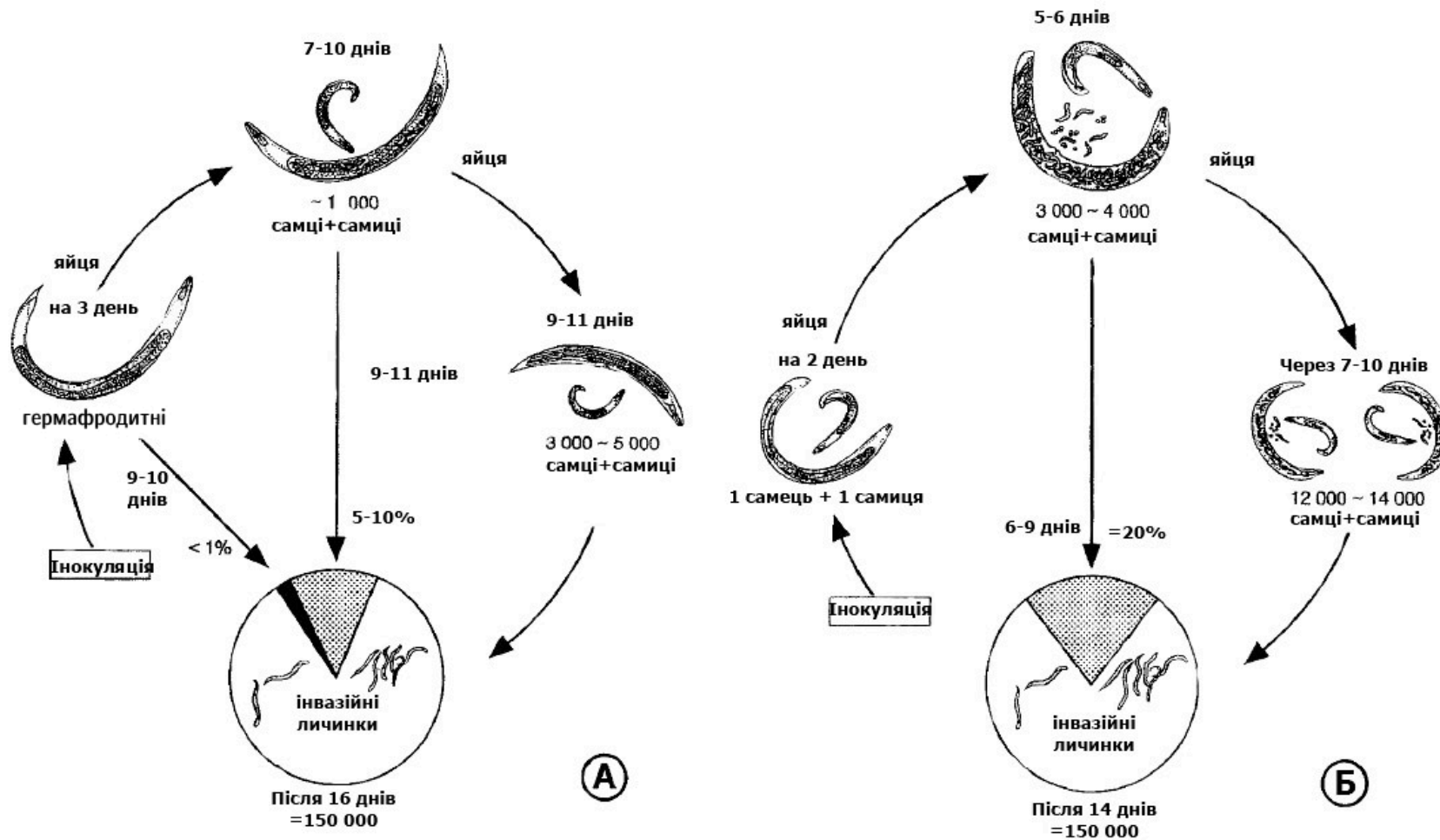


Рис. 1.1. Життєві цикли розвитку ентомопатогенних нематод у личинці *Galleria mellonella*: А – на прикладі *Heterorhabditis bacteriophora*; Б – на прикладі *Steinernema carpocapsae* (після інфікування однією та двома інвазійними личинками на комаху, відповідно); за: Wang, Bedding, 1996

Личинки, що мігрували, здатні досить тривалий час (до 3 років) зберігатись в ґрунті, не потребуючи при цьому живлення, та не втрачаючи своїх патогенних властивостей, а отже, здатні відшукувати і заражати нових хазяїв.

Самі по собі ентомопатогенні нематоди (ЕПН) з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* не є смертельно небезпечними для комах, адже не мають спеціальних структур для атакування та знищення останніх. Натомість, вони використовують інший характерний спосіб: інвазуючи комах, вони вивільняють симбіотичні бактерії (γ -Proteobacteria: Enterobacteriaceae), які продукують токсини, що в кінцевому результаті призводить до загибелі комах.

Вперше наявність бактерій всередині личинок ентомопатогенних нематод описана в 1937 році видатним дослідником Проспером Бов'єном. У своїй монографії про паразитів і хвороби личинок двокрилих із ґрунтів Данії він припустив, що помічені їм паличкоподібні тільця в передній частині кишечника личинок стейнернематид – це бактерії. Істинна природа цих паличкоподібних структур, а надалі і важлива роль бактерій-сателітів у життєвому циклі стейнернематид була виявлена лише в 60-ті роки ХХ ст. Джорджем Пойнаром разом із Г. М. Томасом (Poinar, 1966). Саме вони вперше показали, що нормальний розвиток нематоди виду *Neoaplectana carpocapsae* DD-136 (= *Steinernema carpocapsae*) відбувається тільки в присутності їх симбіотичних бактерій (без них вони розвиваються лише в окремих випадках), яких вони на той час віднесли до виду *Achromobacter nematophilus*. Пізніше даний вид бактерії було перенесено до нового роду *Xenorhabdus* (Thomas, Poinar, 1979; Poinar, Grewal, 2012).

На сьогодні дослідженнями встановлено, що всі види роду *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae) вступають у мутуалістичні відносини з видами *Xenorhabdus* Thomas, Poinar, 1979 emend. Thomas, Poinar, 1983 (Enterobacteriaceae), тоді як усі види *Heterorhabditis* spp. (Rhabditida: Heterorhabditidae) утворюють симбіотичні асоціації з видами *Photorhabdus*

Boemare et al., 1993 (Enterobacteriaceae) (табл. 1.1). Виявлення даного симбіозу між ентомопатогенними нематодами та асоційованими з ними бактеріями стало важливим кроком для їх застосування як комерційних засобів біологічного контролю.

Таблиця 1.1

Зв'язок між різними видами-хазяїнами ентомопатогенних нематод та їх бактеріями-симбіонтами (за: Stock, Goodrich-Blair, 2008)

Ентомопатогенні нематоди	Бактерії-симбіонти
STEINERNEMATIDAE	ENTEROBACTERIACEAE
<i>Steinernema</i> Travassos, 1927	<i>Xenorhabdus</i>
<i>S. abbasi</i> Elawad, Ahmad & Reid, 1997	<i>X. indica</i>
<i>S. aciari</i> Qui, Yan, Zhou, Nguyen & Pang, 2005	—
<i>S. affine</i> (Bovien, 1937) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding, 1982	<i>X. bovienii</i>
<i>S. akhursti</i> Qui, Hu, Zhou, Mei, Nguyen & Pang, 2005	—
<i>S. anatoliense</i> Hazir, Stock & Keskin, 2003	<i>X. bovienii</i>
<i>S. apuliae</i> Triggiani, Mrácek and Reid, 2004	—
<i>S. arenarium</i> (Artyukhovsky, 1967) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding, 1982	<i>X. kozodoii</i>
<i>S. ashiunense</i> Phan, Takemoto & Futai, 2006	—
<i>S. bedding</i> Qui, Hu, Zhou, Pang & Nguyen, 2005	—
<i>S. asiaticum</i> Anis, Shahina, Reid & Rowe, 2002	—
<i>S. bicornutum</i> Tallosi, Peters & Ehlers, 1995	<i>X. budapestensis</i>
<i>S. carpocapsae</i> (Weiser, 1955) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding, 1982	<i>X. nematophila</i>
<i>S. ceratophorum</i> Jian, Reid & Hunt, 1997	
<i>S. costaricense</i> Stock, Uribe-Lorio & Mora, 2007	<i>X. szentirmaii</i>
<i>S. cubanum</i> Mrácek, Hernandez & Boemare, 1994	<i>X. poinarii</i>
<i>S. diaprepesi</i> Nguyen & Duncan, 2002	<i>X. doucetiae</i>
<i>S. feltiae</i> (Filipjev, 1934) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding, 1982	<i>X. bovienii</i>
<i>S. glaseri</i> (Steiner, 1929) Wouts, Mrácek, Gerdin & Bedding, 1982	<i>X. poinarii</i>

Ентомопатогенні нематоди	Бактерії-симбіонти
STEINERNEMATIDAE	ENTEROBACTERIACEAE
<i>Steinernema</i> Travassos, 1927	<i>Xenorhabdus</i>
<i>S. hermaphroditum</i> Stock, Griffin & Chaenari, 2004	<i>X. griffinae</i>
<i>S. intermedium</i> (Poinar, 1985) Mamiya, 1988	<i>X. bovienii</i>
<i>S. jolietii</i> Spiridonov, Krasomil-Osterfeld & Moens, 2004	<i>X. bovienii</i>
<i>S. kariii</i> Waturu, Hunt & Reid, 1997	<i>X. hominickii</i>
<i>S. kraussei</i> (Steiner, 1923) Travassos, 1927	<i>X. bovienii</i>
<i>S. kushidai</i> Mamiya, 1988	<i>X. japonica</i>
<i>S. leizhouense</i> Nguyen, Qui, Zhou & Pang, 2006	—
<i>S. litorale</i> Yoshida, 2004	<i>X. bovienii</i>
<i>S. loci</i> Phan, Nguyen & Moens, 2001	—
<i>S. longicaudum</i> Shen & Wang, 1992	—
<i>S. monticolum</i> Stock, Choo & Kaya, 1997	<i>X. hominickii</i>
<i>S. neocurtillae</i> Nguyen & Smart, 1992	—
<i>S. oregonense</i> Liu & Berry, 1996	<i>X. bovienii</i>
<i>S. pakistanense</i> Shahina, Anis, Reid, Rowe & Maqbool, 2001	—
<i>S. puertoricense</i> Román & Figueroa, 1994	<i>X. romanii</i>
<i>S. puntauense</i> Stock, Uribe-Lorio & Mora, 2007	<i>X. bovienii</i>
<i>S. rarum</i> (de Doucet, 1986) Mamiya, 1988	<i>X. szentirmaii</i>
<i>S. riobrave</i> Cabanillas, Poinar & Raulston, 1994	<i>X. cabanillasii</i>
<i>S. ritteri</i> de Doucet & Doucet, 1990	—
<i>S. robustispiculum</i> Phan, Subbotin, Waeyenberge & Moens, 2004	—
<i>S. sangi</i> Phan, Nguyen & Moens, 2001	—
<i>S. sasonense</i> Phan, Spiridonov, Subbotin & Moens, 2006	—
<i>S. serratum</i> Li, 1992*	<i>X. ehlersii</i>
<i>S. scapterisci</i> Nguyen & Smart, 1990	<i>X. innexi</i>
<i>S. scarabaei</i> Stock & Koppenhöfer, 2003	<i>X. koppenhoeferii</i>
<i>S. siamkayai</i> Stock, Somsook & Kaya, 1998	<i>X. stockiae</i>
<i>S. sichuanense</i> Mráček, Nguyen, Tailliez, Boemare & Chen, 2006	—

Ентомопатогенні нематоди	Бактерії-симбіонти
STEINERNEMATIDAE	ENTEROBACTERIACEAE
<i>Steinernema</i> Travassos, 1927	<i>Xenorhabdus</i>
<i>S. silvaticum</i> Sturhan, Spiridonov & Mráček, 2005	<i>X. bovienii</i>
<i>S. tami</i> Luc, Nguyen, Spiridonov & Reid, 2000	—
<i>S. thanhi</i> Phan, Nguyen & Moens, 2001	—
<i>S. websteri</i> Cutler & Stock, 2003	<i>X. nematophila</i>
<i>S. weiseri</i> Mráček, Sturhan & Reid, 2003	<i>X. bovienii</i>
<i>S. thermophilum</i> Ganguly & Singh, 2000	<i>X. indica</i>
<i>S. yirgalemense</i> Nguyen, Tesfamariam, Gozel, Gaugler & Adams, 2004	—
<i>Neosteinerinema</i> Nguyen & Smart, 1994	
<i>Neosteinerinema longicurvicauda</i> Nguyen & Smart, 1994	—
HETERORHABDITIDAE	ENTEROBACTERIACEAE
<i>Heterorhabdus</i> Poinar, 1976	<i>Photorhabdus</i>
<i>H. amazonensis</i> Andaló, Nguyen & Moino, 2006	—
<i>H. bacteriophora</i> Poinar, 1976	<i>P. luminescens</i> subsp. <i>luminescens</i> (ізолят Brecon) <i>P. luninescens</i> subsp. <i>laumondii</i> (штам HP88) <i>P. temperata</i> (штам NC1)
<i>H. baujardi</i> Phan, Subbotin, Nguyen & Moens, 2003	—
<i>H. brevicaudis</i> Liu, 1994*	—
<i>H. downesi</i> Stock, Burnell & Griffin, 2002	<i>P. temperata</i>
<i>H. floridensis</i> Nguyen, Gozel, Koppenhofer & Adams, 2006	—
<i>H. indica</i> Poinar, Karunakar & David, 1992	<i>P. luminescens</i> subsp. <i>akhurstii</i>
<i>H. marelata</i> Liu & Berry, 1996	
<i>H. megidis</i> Poinar, Jackson & Klein, 1987	<i>P. temperata</i>
<i>H. mexicana</i> Nguyen, Shapiro-Ilan, Stuart, McCoy, James & Adams, 2004	—
<i>H. poinari</i> Kakulia & Mikaia, 1997*	—
<i>H. taysearae</i> Shamseldean, Abou El-Sooud, Abd-Elgawad & Saleh, 1996	—
<i>H. zealandica</i> Poinar, 1990	<i>P. temperata</i>

Умовні позначення: тире (—) – відомості відсутні; * – *nomina dubia*.

До бактерій з родів *Xenorhabdus* spp. та *Photorhabdus* spp. родини Enterobacteriaceae (кишечні бактерії) належать дрібні грамнегативні палички, з перитрихіально розташованими джгутиками, що не утворюють спор, кислостійкі, факультативні анаероби. Вважається, що вони відрізняються від інших представників родини Enterobacteriaceae тим, що не нездатні відновлювати нітрати до нітритів, що є основною характерною рисою цієї родини. Ще однією унікальною особливістю даних бактерій є їх фенотипова мінливість, тобто існування первинної і вторинної форми (Sajnaga, Kazimierczak, 2020). Разом з тим, лише бактерії роду *Photorhabdus* позитивно реагують на каталазу і біolumінесценцію, тому їх можна легко відрізнити від бактерій роду *Xenorhabdus* за цими двома ознаками. Здатність до біolumінесценції є основною фенотиповою характеристикою бактерій *Photorhabdus*. Фактично, *Photorhabdus* є єдиними відомими біolumінесцентними наземними бактеріями, які здатні виробляти світло; однак, функція цієї ознаки у них досі не в'яснена (Sajnaga, Kazimierczak, 2020).

Бактерії-симбіонти *Xenorhabdus* та *Photorhabdus* знаходяться у спеціалізованому пухирці, який називається везікулою, розміщеному в передній частині кишечника (харктерні для *Sternainema*), або ж у розширеному просвіті кишечника (харктерні для *Heterorhabditis*) інвазійної личинки ЕПН і потрапляють у гемоцель комахи відразу після проникнення нематоди до неї. Всередині тіла комахи, бактерії переносяться гемолімфою, і одночасно швидко розмножуються в ній, внаслідок чого комаха гине від септицемії, і нематоди розпочинають свій розвиток, живлячись залишками тіла комахи та мікросимбіонтами. При цьому варто відзначити, що симбіотичні бактерії виділяють значну кількість бактеріоцинів, антибіотиків, які затримують розкладання тканин тіла хазяїна та інших біологічно-активних речовин, пригнічуючи розвиток чужорідної мікрофлори у трупі загиблої комахи, тим самим створюючи особливе середовище, призначене

виключно для повноцінного розвитку ЕПН. Доцільно відзначити, що симбіотичні бактерії ЕПН ніколи не були знайдені вільноживучими в ґрунті.

На цьому тлі варто зазначити той факт, що завдяки своїм бактеріям-сателітам, енмопатогенні нематоди – паразити-маніпулятори так, як в тандемі з ними, змінюють не тільки фізіологію, а й поведінку своїх жертв – комах-хазяїв.

Згідно із дослідженнями Fenton *et al.* (2011), *Heterorhabditis bacteriophora* і їх симбіотичні бактерії (*Photorhabdus* sp.), характеризуються досить складною поведінкою, яка дещо відрізняється від «типових» паразитів, і поправу може вважатись унікальною. Замість того, щоб примушувати своїх хазяїв «потрапляти до лап» хижаків (як поступають більшість паразитичних організмів), вони, навпаки, примушують хижаків відступати. Адже, коли нематода інфікує личинок комах, то поступово, за безпосередньої участі бактерій *Photorhabdus*, змінює колір тіла свого хазяїна на яскраво червоний. Таке забарвлення несе в собі візуальне попередження, що личинка небезпечна, до того ж, скоріше за все, на думку Fenton *et al.* даний попереджувальний сигнал підкріплюється виділенням хімічних речовин, що в сукупності знижує ймовірність споживання інфікованих особин.

Експериментальні дослідження Fenton *et al.* підтвердили, що комахоїдні птахи вільшанки *Erithacus rubecula* L. 1758 уникають таких яскраво забарвлених комах. Подібна етіологія пояснюється тим, що ентомопаразит розвивається в личинці, живлячись за її рахунок, тому йому вкрай не вигідно щоб з комахою-хазяїном щось сталося, адже в цьому випадку він також загине. Отже, це яскравий приклад того, як одна і та ж бактерія може мати два різні способи існування і, в одному випадку допомагати (мутуалістичні симбіонти в тілі нематоди), а в іншому, – зашкоджувати (хвороботворні мікроорганізми для комах).

Водночас, завдяки короткій тривалості життя і простоти процесу лабораторного культивування, ЕПН з обох родин рабдитид – *Steinernematidae*

та Heterorhabditidae все частіше використовуються як модельні організми у фундаментальних дослідженнях симбіозу і паразитизму (Labaude, Griffin, 2018). Дослідження біології та екології ЕПН, таких як механізми зараження та фактори, що впливають на їх виживання і поведінку, лежать в основі розробок їх ефективності в польових умовах.

Висновки до розділу 1

1. Таксономічно ентомопатогенні нематоди відносяться до типу Nematoda Diesing, 1861, класу Chromadorea Inglis, 1983, підкласу Chromadoria Pearse, 1942, ряду Rhabditida Chitwood, 1933. Більшість ідентифікованих видів ентомопатогенних нематод (≈ 100) належать до типового роду *Steinernema* Travassos, 1927 родини Steienernematidae Filipjev, 1934 (= Neoplectanidae Sobolev, 1953), і у 5 разів менше до типового роду *Heterorhabditis* Poinar, 1976 родини Heterorhabditidae Poinar, 1976.

2. Першим описаним видом ентомопатогенних нематод був *Aplectana kraussei* Steiner, 1923 (тепер *Steinernema kraussei*), виявлений у тілі пильщика (Tenthredinidae) на початку 20-х років XX ст. Майже одночасно з їх відкриттям, розпочались і перші спроби практичного застосування проти різних комах-шкідників. На початку 50-х років XX ст. описано перший вид ентомопатогенних нематод в Україні під назвою *Neoplectana bothynoderi* Kirjanova et Putschkova, sp. n. (= *Steinernema feltiae*), який був виділений із тіла бурякових довгоносиків (*Bothynoderes punctiventris* Germar, 1824). Нині, обидві родини – Steienernematidae та Heterorhabditidae – широко вивчаються завдяки своєму великому потенціалу в якості біологічних агентів у захисті рослин від численних комах-шкідників у багатьох країнах світу. В Україні їх вивчення характеризується слабким розвитком у цьому контексті, а у вивченні ентомопатогенних нематод переважає фауністичний підхід. На території України зареєстровано чотири види ентомопатогенних нематод з родин Steienernematidae та Heterorhabditidae.

3. Ентомопатогенні нематоди (*Steinernema*, *Heterorhabditis*) зареєстровані на всіх континентах світу, окрім Антарктиди, і майже в усіх природних зонах, на різних широтах і висотах над рівнем моря. Встановлено помітне переважання *Steinernema* spp. у видовому складі над *Heterorhabditis* spp., проте таксономічний статус деяких з них ще й досі під питанням. Попри постійні дослідження ентомопатогенних нематод в багатьох країнах на різних континентах, існує значна кількість ще не досліджених локацій. Це вимагає подальших наукових досліджень для глибшого аналізу невивчених географічних регіонів.

4. Нематоди, пов'язані з комахами, представляють велику й різноманітну групу інфекційних агентів. Однак найбільшу увагу дослідників привертають представники двох родин рабдитид – *Steinernematidae* Chitwood et Chitwood, 1937 та *Heterorhabditidae* Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida), яких визначають як «ентомопатогенні нематоди», і які мають велику вагу у регулюванні чисельності небезпечних шкідників із багатьох рядів та родин на різних сільськогосподарських культурах.

5. Ентомопатогенні нематоди (Rhabditida: *Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) – ендопаразити (ентомопатогени) комах, особливості біології яких досить подібні між собою, зокрема життєві цикли розвитку та утворення мутуалістичного нематодно-бактеріального комплексу з кишковими грам-негативними бактеріями (γ -Proteobacteria: *Enterobacteriaceae*).

РОЗДІЛ 2

МІСЦЕ, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення досліджень

Для виявлення природних популяцій ентомопатогенних нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae, у літньо-осінній період протягом 2016-2021 років проводили локально-вибіркові обстеження культурних (штучних) ценозів: посівних площ різноманітних культур сільськогосподарських, багаторічних насаджень (плодові сади, плантації декоративних рослин).

Серед особливо важливих для України культур сільськогосподарських, за даними Державної служби статистики України (Сільське господарство ... 2021), належать (за низхідною шкалою): пшениця, соняшник, кукурудза, картопля, соя, ріпак, буряки цукрові, культури плодові та ягідні тощо. На значно меншій площі вирощують: рис, горох, люцерну, хміль, льон, коноплі, тютюн, конюшину та ін. Зважаючи на це, наші нематологічні обстеження агроценозів, більшою мірою, приурочені до цих основних (стратегічних) та додаткових культур сільськогосподарських.

Відбирали ґрунтові проби та закладали ґрунтові «живі» пастки в 22 населених пунктах 17 районів 7 областей України – Житомирській (3 р-ни, 5 н. п., Чернігівській (3 р-ни, 4 н. п.), Київській (3 р-ни, 3 н. п.), Вінницькій (1 р-н, 1 н. п.), Хмельницькій (3 р-ни, 4 н. п.), Черкаській (3 р-ни, 4 н. п.) та Одеській (1 р-н, 1 н. п.) (табл. 2.1; рис. 2.1), території яких знаходяться у межах трьох основних ґрунтово-кліматичних зон країни – Полісся, Лісостепу та Степу (рис. 2.1).

У Житомирській області обстеженню підлягали: Овруцький р-н (м. Овруч), Любарський р-н (с. Бичева) та Попільнянський р-н (с. Харліївка, с. Красногірка, с. Василівка). Всього по області відібрано 28 проб. У

Чернігівській області обстежено: Козелецький р-н (м. Остер, с. Морівськ), Чернігівський р-н (с. Боромики) та Менський р-н (с. Кисилівка). Всього по області відібрано 91 пробу.

Щодо Київської області, то тут було обстежено: Бородянський р-н (с. Козинці), м. Київ (урочище Китаєво) та Баришівський р-н (сmt Баришівка). Всього по області відібрано 77 проб.

У Черкаській області обстежено: Жашківський р-н (с. Скибин, с. Хижня), Тальнівський р-н (с. Соколівочка) та Корсунь-Шевченківський р-н (м. Корсунь-Шевченківський). Всього по області відібрано 30 проб.

У Хмельницькій області обстеженню підлягали: Волочиський р-н (с. Бокиївка, с. Ожигівці), Теофіпольський р-н (с. Борщівка) та Городоцький р-н (с. Куманів). Загалом у Хмельницькій області було відібрано 49 проб.

У Вінницькій та Одеській області обстежено по одному району: Хмельницький р-н (с. Семки) та Біляївський р-н (с. Мирне), відповідно. Всього по областям відібрано 22 та 15 проб, відповідно (табл. 2.1).

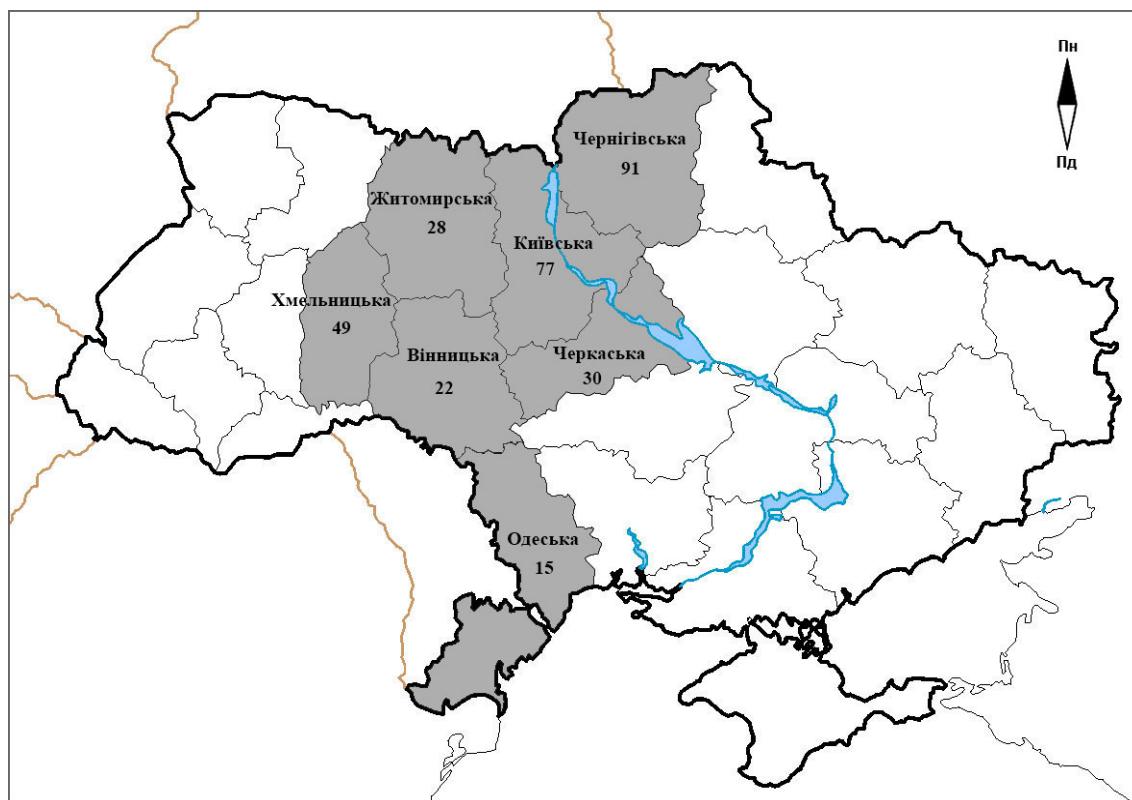


Рис. 2.1. Карта-схема відбору ґрунтових проб / закладання «живих» пасток. Цифри – кількість відібраних проб. *Оригінал.*

Таблиця 2.1

Місця відбору ґрунтових проб та закладання «живих» пасток при проведенні
нематологічних обстежень у агроценозах України (2016-2021 роки)

Географічні відомості (район, населений пункт)			Агроценоз	Кількість відібраних проб, шт		
				г. п.	ж. п.	Разом
ЖИТОМИРСЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Овруцький р-н	м. Овруч	насадження плодоносних садів (зерняткові та кісточкові культури)	7	3	10
2.	Любарський р-н	с. Бичева	посіви сої	6	—	6
3.	Попільнянський р-н	с. Харліївка	посіви сої, буряків цукрових	4	—	4
		с. Красногірка	посіви сої	5	—	5
		с. Василівка	посіви буряків цукрових	3	—	3
Всього по області				25	3	28
ЧЕРНІГІВСЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Козелецький р-н	м. Остер	насадження плодоносних садів (зерняткові культури)	—	3	3
		с. Морівськ	посіви гречки, соняшника, вівса	18	35	53
2.	Чернігівський р-н	с. Боромики	посіви люцерни; насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові культури)	16	16	32
3.	Менський р-н	с. Кисилівка	насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові культури)	—	3	3

Продовження таблиці 2.1

Географічні відомості (район, населений пункт)			Агроценоз	Кількість відібраних проб, шт		
				г. п.	ж. п.	Разом
ЧЕРНІГІВСЬКА ОБЛАСТЬ						
Всього по області				34	57	91
КИЇВСЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Бородянський р-н	с. Козинці	посіви картоплі; насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові культури)	3	—	3
2.	м. Київ	урочище Китаєво	насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові, ягідні культури)	30	16	46
3.	Барашівський р-н	смт Барашівка	посіви квасолі, гарбузів; насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові, ягідні та горіхоплідні культури); декоративні насадження	12	16	28
Всього по області				45	32	77
ЧЕРКАСЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Жашківський р-н	с. Скибин	посіви пшениці, буряків цукрових	5	—	5
		с. Хижня	посіви пшениці, буряків цукрових	8	—	8
2.	Тальнівський р-н	с. Соколівочка	посіви пшениці	5	—	5
3.	Корсунь- Шевченківський р-н	м. Корсунь- Шевченківський	посіви пшениці, буряків цукрових	12	—	12

Продовження таблиці 2.1

Географічні відомості (район, населений пункт)			Агроценоз	Кількість відібраних проб, шт		
				г. п.	ж. п.	Разом
ЧЕРКАСЬКА ОБЛАСТЬ						
Всього по області				30	—	30
ХМЕЛЬНИЦЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Волочиський р-н	с. Бокиївка	посіви пшениці	9	—	9
		с. Ожигівці	посіви пшениці	15	—	15
2.	Теофіпольський р-н	с. Борщівка	посіви сої	13	—	13
3.	Городоцький р-н	с. Куманів	посіви пшениці	12	—	12
Всього по області				49	—	49
ВІННИЦЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Хмельницький р-н	с. Семки	посіви сої	22	—	22
Всього по області				22	—	22
ОДЕСЬКА ОБЛАСТЬ						
1.	Біляївський р-н	с. Мирне	посіви пшениці; насадження плодоносних садів (кісточкові, зерняткові та горіхоплідні культури)	15	—	15
Всього по області				15	—	15
РАЗОМ ПО ОБЛАСТЯХ				220	92	312

Умовні позначення: тире (—) – явищ не було; г. п. – ґрунтова проба; ж. п. – «жива» пастка.

Проби відбирались на посівах сільськогосподарських культур: зернові та зернобобові (*Triticum aestivum*, *Avena sativa*, *Fagopyrum esculentum*, *Phaseolus vulgaris*), технічні (*Beta vulgaris*, *Helianthus annuus*, *Glycine max*), овочеві та баштанні (*Solanum tuberosum*, *Cucurbita pepo*) та кормові (трави багаторічні – *Medicago sativa*); у насадженнях плодоносних садів: кісточкові (*Prunus domestica*, *Prunus cerasus*, *Prunus avium*, *Prunus armeniaca*, *Prunus persica*), зерняткові (*Malus domestica*, *Pyrus communis*), ягідні (*Morus nigra*, *Hippophae rhamnoides*) та горіхоплідні (*Juglans regia*), а також на плантаціях декоративних рослин (*Viburnum opulus*, *Juniperus communis*, *Thuja occidentalis*) (рис. 2.2).

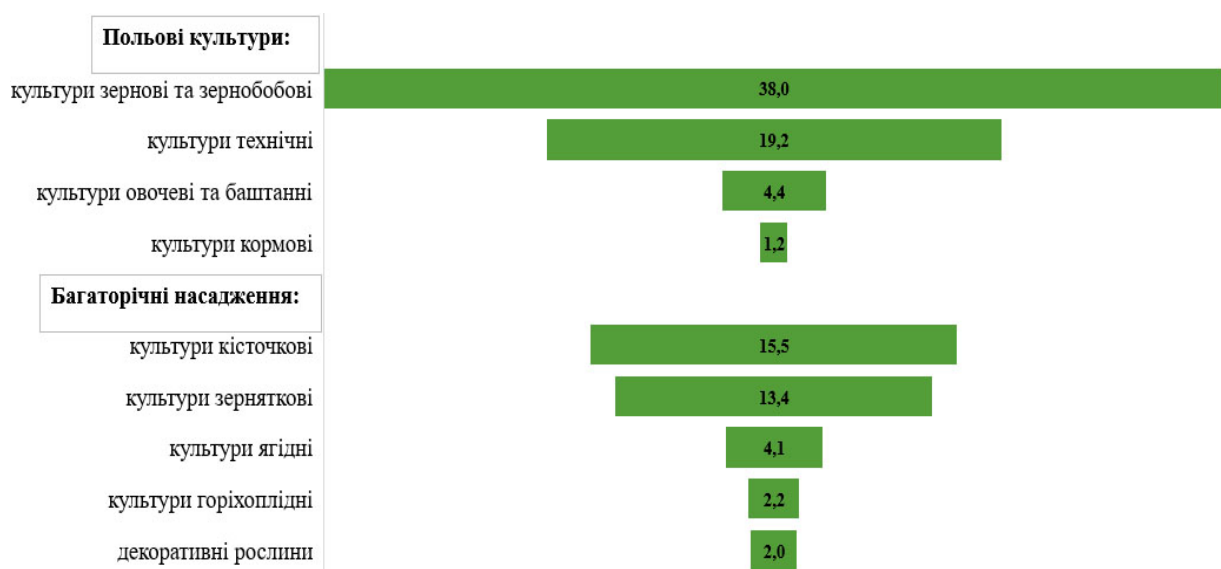


Рис. 2.2. Розподіл відібраних проб (у % від загальної кількості) у обстежуваних агроценозах України серед різних культур сільськогосподарських (2016-2021 роки).

Нематологічні аналізи проб на заселеність їх ентомопатогенними нематодами, а також проведення лабораторних дослідів із цільовими ентомопатогенами проводили на базі лабораторії нематології Інституту захисту рослин НААН України та кафедри садівництва, виноградарства, біології та хімії Одеського державного аграрного університету.

2.2. Фізико-географічна характеристика районів досліджень

Наші дослідження охоплювали обстеження найпоширеніших типів агроценозів у межах основних ґрунтово-кліматичних зон країни, а саме: Полісся, Лісостепу та Степу. Характеристику даних великих ландшафтів України викладено за Сиротенко, Чернов (2000).

Зона мішаних лісів в Україні представлена Українським Поліссям. Вона простягається з заходу на схід на 750 км. Південна межа Українського Полісся проходить поблизу Рави-Руської, Жовкви, Львова, Золочева, Кременця, Ізяслава, Шепетівки, Чуднова, Житомира, Києва, Ніжина, Кролівця, Глухова. Поверхня Українського Полісся – хвилясто-горбиста місцевість, у будові якої основну роль відіграють піщані й супіщані льодовикові відклади. Між піщаними горбами розташовані широкі плоскі западини й улоговини. Незначна розчленованість рельєфу, а в окремих місцях і близьке від поверхні залягання кристалічних порід зумовили високий рівень розташування ґрунтових вод і заболоченість окремих районів (до 70% усіх заболочених земель України).

Клімат помірно-континентальний, літо тепле, вологе, зима м'яка. Середні температури найхолоднішого місяця – січня – змінюються із заходу на схід від -4,5 до -8°C, середньолипневі – відповідно від +17 до +19°C. Зима суворіша на сході, де триває приблизно на 20 днів довше. Характерною її особливістю є часті відлиги, які в західних районах бувають тривалими й інтенсивними, що іноді призводить до повного танення снігу серед зими. Висота снігового покриву зменшується з заходу на схід від 30-40 до 15-20 см. У середньому за рік в Українському Поліссі буває 600-680 мм опадів. Близько 70% усієї їх кількості припадає на теплу пору (квітень – жовтень). Кліматичні умови та рельєф зумовлюють значну густоту річкової сітки, утворення боліт. Ґрунти зони дерново-підзолисті та болотні. Природну рослинність становлять лісові, лучні та болотні види. На більшій частині території зони переважають соснові (бори), дубово-соснові (субори) та

дубово-грабові ліси. Нині лісистість Полісся становить близько 30%. Ще У XVI – XVII ст. уся територія на захід від Дніпра була вкрита суцільними лісами. Розвиток ринкових відносин стимулював виникнення лісових промислів, до того ж, зростання кількості населення, розвиток землеробства і торгівлі хлібом призвели до різкого збільшення сільськогосподарських угідь за рахунок лісів.

Середня розораність Полісся становить понад 30%, а ділянки середньопідзолистих ґрунтів, що мають кращі водно-фізичні властивості та більшу родючість, розорані на 90%. Під луками перебуває понад 10% території. Багата і різноманітна рослинність боліт, які тут поділяють на трав'яні, мохово-трав'яні та лісові. Більшість боліт без урахування наслідків було осушено й перетворено у сільськогосподарські угіддя. Осушення боліт та їх розорювання призвели до вітрової і водної ерозії ґрунту, загибелі лісів і різнотравних луків на значних площах внаслідок зниження рівня ґрунтових вод.

Лісостепова зона (Лісостеп) майже на 1100 км простягається від Передкарпаття до Середньо-Руської височини. Південна межа зони проходить по лінії Ананьїв (неподалік від кордону з Молдовою) – Знам'янка – Олександрія – Світлогірське – Червоноград – Ізюм. На лісостепову зону припадає третина території України. Характерною особливістю зони є чергування степових і лісостепових ділянок. Особливо значні лісові масиви колись вкривали Правобережжя. В результаті господарської діяльності людини, площі лісів поступово зменшувались. Рельєф лісостепової зони різноманітний. На Правобережжі розташовані Волинська, Подільська та Придніпровська височини, а на Лівобережжі – Придніпровська низовина і західні відроги Середньо-Руської височини. Височини відповідають підняттям кристалічного фундаменту, а низовини – западинам. На лівому березі Дніпра між річками Ворсклою та Ореллю знаходиться найнижче місце лісостепової зони – 60 м над рівнем моря. Материнськими породами, на яких сформувалися ґрунти лісостепової зони, є лес, лесовидні суглинки, піщано-

глинясті відклади річок та продукти вивітрювання кристалічних порід. Ясно-сірі, сірі і темно-сірі лісові ґрунти займають великі площі на Правобережжі. На Лівобережжі переважають опідзолені чорноземи. У заплавах долин річок поширені лучні і лучночорноземні ґрунти. Оскільки лесові породи лісостепової зони легко розмиваються дощовими і талими водами, тут дуже поширені яри та балки.

Клімат лісостепової зони помірно-теплій з достатньою і сталою зволоженістю на заході і нестійкою на сході. Кліматичні умови змінюються у меридіональному і широтному напрямках. Січніві температури із заходу на схід змінюються від -5 до -8°C , липневі – від $+18$ до $+22^{\circ}\text{C}$. Взимку територія лісостепової зони з другої половини грудня вкривається снігом. Середня кількість днів із сніговим покривом на заході зони становить 50-60, на сході – 80-100. Безморозний період триває 180-200 днів на заході і 150-160 днів на сході. Кількість опадів зменшується з заходу на схід: з 550-750 мм на заході до 450 мм на південному сході. У лісостеповій зоні влітку часто бувають зливи, подекуди з градом. Більшість річок у межах зони має звивисте річище з озерами-старицями. Густота річкової сітки зменшується із заходу на схід від 200 до 150 м на 1 кв. кілометр. У лісостеповій зоні переважають широколисті дібровні ліси. Видовий склад частково змінюється із заходу на схід у такій послідовності: на крайньому заході – бук, на Придніпровській височині – граб, клен, явір, на Лівобережжі – клен гостролистий, липа, дуб. Повсюдно поширені дубові ліси (дубово-грабові дубово-кленові). Їх підлісок складається з ліщини, кизилу, брус. лини, значним є трав'яний покрив. Сосново-дубові ліси займають піщані ділянки річкових терас. Лучні ділянки трапляються лише у заплавах річок. Тут переважають справжні луки.

Людина докорінно змінила природні ландшафти у лісостеповій зоні. Лісистість за останні кілька сот років зменшилась у різних місцях від 50 до 11%. Одним з основних чинників значного зменшення площ лісів лісостепової зони були надмірні нерегульовані вирубки з метою отримання

деревини для палива, будівництва залізниць, для експорту, а також для збільшення сільськогосподарських угідь, адже ця зона з найдавніших часів була центром землеробства. Середня розораність лісостепової зони становить 75%, а на Лівобережжі – навіть 90%. Природні умови сприятливі для вирощування пшениці і кукурудзи, буряків цукрових. Степова рослинність збереглася лише на непридатних для оранки схилах та в заповіднику Михайлівська цілина, що в Сумській області. Тут поширені лучні степи.

Степова зона (Степ) займає близько 40% території України і простягається від лісостепової зони на південь до узбережжя Чорного і Азовського морів та передгір'їв Кримських гір на 500 км. Вона охоплює Причорноморську низовину та південні частини Придніпровської і Середньоросійської височин, а також рівнинну частину Кримського півострова.

У степовій зоні рівнинної території України найбільші теплові ресурси і найменша зволоженість порівняно з іншими природними зонами, тому клімат степів найбільш континентальний. Тут середня температура січня коливається із заходу на схід від -2 до -9°C, липня – відповідно від +20 до +24°C. Безморозний період триває 220 діб на заході степової зони і 150 – на північному сході. Річна сума опадів зменшується з північного заходу на південний схід від 450 до 300 мм на рік, що є причиною маловодності степових річок, особливо влітку. Сніговий покрив нестійкий, взимку часті відлиги. Рівнинність території степової зони, відкритість її холодним арктичним і жарким тропічним вітрам – є причиною ранніх весняно-осінніх приморозків і суховіїв. Природні ліси в степах займають невелику площу. Вони ростуть у балках переважно в північній частині степової зони, в заплавах річок, на надлукових піщаних терасах річок. Вододільні простори позбавлені природної рослинності, але в багатьох районах степової зони є штучно створені лісові масиви. Тут є також лісові пожезахисні смуги.

Нині у зв'язку з господарською діяльністю людини природна степова рослинність збереглась у заповідниках та на невеликих ділянках уздовж

схилів річкових долин, ярів та балок, де вона досить швидко втрачає свої особливості. Незаймані заповідні території степової зони становлять лише 0,1% площі України.

З півночі на південь степова рослинність значно змінюється. Так, у північних районах степової зони трапляються лучні степи, для яких характерні не тільки степові, а й лучні трави. У справжніх степах, що лежать далі на південь, панують вузьколисті дерновинні злаки. Ці степи поділяються на різно-травно-типчаково-ковилові з посухостійкого різнотрав'я і типчаково-ковилові з дуже бідним різнотрав'ям. Ще далі на південь лежать пустельні степи з розрідженим травостоєм, у складі якого, крім дерновинних злаків, ростуть посухостійкі напівчагарники. На крайньому півдні степової зони великі ділянки займають солончаки зі своєрідною рослинністю. Значна розораність вплинула на тваринний світ.

Орні землі степової зони становлять близько 75% її земельного фонду. Головні сільськогосподарські культури – пшениця озима, соняшник, буряки цукрові, баштанні культури. Екстенсивна (пов'язана з розширенням площ) та відвальна монокультурна (виращування тільки однієї сільськогосподарської культури) система землеробства спричинили вітрову й водну ерозію ґрунтів. Наслідки цих явищ мають сумну славу – це пилові бурі і яри, кількість яких зростає. Оранка, що деформує природний родючий шар, призвела до його виснаження. А головне – зруйнувала механізм самовідтворення чорнозему.

Великої шкоди ґрунтам завдає невміла меліорація. Надмірний полив викликав засолення ґрунтів. Масштаби цього явища набули катастрофічного характеру: північна межа засолення перемістилася на територію Донбасу.

2.3. Матеріали досліджень

Матеріалом для досліджень слугували проби ґрунту, ґрунтові «живі» пастки, зразки тест-комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) та потенційних комах-хазяїв різних видів – переважно шкідників

сільськогосподарських культур (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Scarabaeidae; Lepidoptera: Noctuidae; Orthoptera: Gryllidae; Diptera), а також інвазійні личинки та дорослі особини ентомопатогенних нематод (Rhabditida: Steienernematidae та Heterorhabditidae). Загалом, проведено відбір 220 ґрунтових проб та закладено 92 ґрунтових «живих» пасток, що разом склало 312 проб, зібрано >100 екз. потенційних комах-хазяїв.

2.4. Методики проведення досліджень

2.4.1. Культивування тест-комах *Galleria mellonella* L., 1758 як модельного об'єкта для досліджень ентомопатогенних нематод

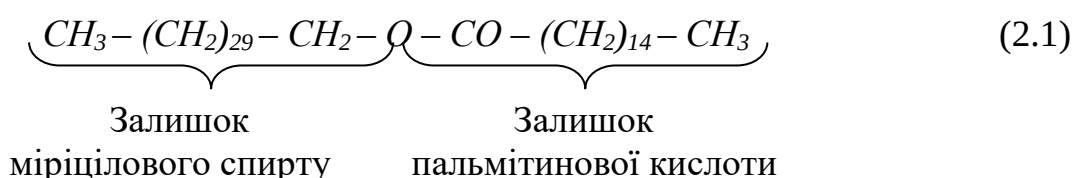
Для проведення різного роду експериментальної роботи з ентомопатогенними нематодами (ізоляція, виділення, розмноження, вивчення патогенності тощо), проводили культивування жертв – комах-хазяїв в лабораторних умовах. У наших дослідженнях, в якості тест-об'єкта, використовували велику воскову міль *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae).

Galleria mellonella L. широко поширена у всіх частинах світу. У дорослих форм передні крила фіолетово-сірі, у самців на задньому краї злегка іржаво-бурі, задні – сірі, від 30 до 41 мм в розмаху. Гусениці воскоподібні, у червні, липні й інших місяці, живляться воском на сотах бджіл і обплітають комірки павутиною, унеможливаючи вихід молодих бджіл, призводячи до їх загибелі. Так розмножується у вуликах покоління за поколінням, допоки не буде з'їдений увесь віск, коли ж останній вичерпується, то гусениці живляться відходами попередніх поколінь, при цьому наступні особини дрібнішають у розмірах.

Зважаючи на її фізіолого-біологічні характеристики: висока сприйнятливість до проникнення в організм ентомопатогенів, швидка репродукція та відсутність у циклі розвитку чітко вираженої діпаузи

(розвиток і розмноження проходить майже безперервно), а також беручи до уваги економічні витрати відносно вигодовування (рентабельність розмноження) – роблять розведення та утримання галерії в лабораторних умовах максимально легким і не утрудненим.

Для підтримання нормальної життєдіяльності та повноцінного розвитку комах в лабораторних умовах, виключно важливе значення має забезпечення режиму вигодовування, дотримання чіткої температури тощо. Віск, який слугує спеціальним природним кормом для гусениць великої воскової молі, відноситься до складних ефірів жирних кислот, але на відміну від жирів і олій вони утворюються на основі одноатомних вищих спиртів. Необхідно відзначити, що личинки великої воскової молі фактично не харчуються чистим воском, а засвоюють лише до 50% продуктів, що містяться у ньому. *Galleria* засвоює всі вищі спирти, що входять до складу воску, і частину ефірів і жирних кислот з великою молекулярною масою, причому кислоти засвоюються легше, аніж ефіри. Один із основних компонентів бджолиного воску представлений міріциловим ефіром пальмітинової кислоти (формула 2.1):



Окрім цієї сполуки бджолиний віск містить й інші ефіри, вищі жирні кислоти, спирти і вуглеводні. Також їм необхідна їжа, що містить віск разом із білковими компонентами (домішками азотистих речовин). Змішані з воском вуглеводи не використовуються, гусениці галерії можуть завершити свій розвиток на кормі без вуглеводів, у них добре виражена здатність до синтезу вуглеводів з амінокислот і ліпідів, а мед не засвоюється їхнім кишечником (Бачинська *та ін.*, 2020; Маркіна *та ін.*, 2024).

У науковій літературі описано чимало штучних дієт для успішного розведення *G. mellonella*, головними компонентами яких виступають: мед, гліцерин, екстракт дріжджів, висівки пшениці, пшеничне борошно та ін. (Alrubei, M.A.J. Al-Izzi. 1986)

Зважаючи на вищенаведені дані, альтернативним варіантом для культивування галерії обрали вощину, як найбільш придатну (щодо складу та якості всіх необхідних компонентів) та економічно вигідну (не вимагає складної технології приготування). Для розведення *G. mellonella* використовували «пасічну мерву» (відходи, отримані після пасічної переробки воскової сировини, а також старі вилучені пошкоджені і зіпсовані стільники), яку вміщували у скляні 3 л банки, які, в свою чергу, вміщували до термостату (рис. Г.1. Додатку Г). Умови інкубування складали 27 ± 2 °C, відносна вологість повітря $50\pm 5\%$, і фотоперіод 16/8 год (день/ніч). У експериментах використовували личинки останньої вікової стадії, вагою $0,20\pm 0,03$ г.

2.4.2. Методи виявлення нематод – патогенів комах з родин STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE

З метою виявлення ентомонематод використовували три базові способи, а саме: безпосередній відбір проб ґрунту, закладання ґрунтових «живих» пасток та збір (відловлювання) потенційних комах-хазяїв.

Ґрунтові проби для нематологічних досліджень відбирали за двома схемами: випадковим (рандомізованим) та систематичним (суцільним).

Випадковий відбір використовували в переважній більшості на великих площах при фрагментарних обстеженнях. Для формування середнього зразка (об'ємом не більше як 500 см^3) відбирали разові проби (5 виїмок) із 4 м^2 за допомогою звичайної ручної лопати з верхнього шару ґрунтового профілю – до глибини 15-30 см (основної зони росту коріння рослин) для польових культур чи до глибини 40 см в радіусі 1 м навколо

штамбів дерев (при обстеженні плодових насаджень). Проби ґрунту були як точковими (відібрані за один прийом з одного місця), так і об'єднаними (сума спільних точкових порцій-проб).

Інший спосіб відбору проб ґрунту – систематичний (суцільний), виконувався шляхом накладання рівномірної сітки однакового розміру квадратів (площа 1, 5 га) на ділянку обстеження (поле), з подальшим діагональним відбором середньої проби з даних елементарних квадратів на маршрутній лінії.

До кожної проби ґрунту додавався супровідний листок, в якому фіксували порядковий номер, дату, місця відбору проб ґрунту та координати точок відбору, тип рослинності (культури сільськогосподарської) тощо (Orozco *et al.*, 2014; Яковлев, Харченко, 2015; Сігарьова, Харченко, 2018).

Окрім безпосереднього відбору проб ґрунту, закладали ґрунтові «живі» пастки за використання чутливих до інфекції ентомопатогенів тест-комах *Galleria mellonella*. По дві особини личинок *G. mellonella* останньої вікової стадії (вагою $0,20 \pm 0,03$ г) поміщали у сферичні капсули з металевої сітки (чайні ситечка) і закопували у ґрунт на глибину до 10 см (у ценозах польових культур) чи до 20-30 см в радіусі 1 м від штамбу дерева, куща (багаторічні насадження) (Mohamed Zamoum *et al.*, 2011; Tarasco Eustachio *et al.*, 2023). Через 5-6 днів комах викопували для подальшого аналізу в лабораторних умовах.

При здійсненні нематологічних обстежень, збирали хворих і загиблих особин ґрунтових комах-шкідників із подальшим встановленням причини загибелі в лабораторних умовах. Усіх комах, які потрапляли в наше поле зору (здебільшого великих за розміром, добре помітних), безпосередньо збирали вручну поміщаючи в завчасно підготовлені банки (пробірки). Для виявлення дрібних комах і личинок застосовували універсальний ручний розбір проб ґрунту, при якому проби ґрунту розміщували на край підносу і невеликими порціями перебирали їх, відшукуючи комах. Перебраний субстрат відсовували в сторону, а знайдені організми (личинки, лялечки, імаго хрущів

та інших комах) поміщали в заздалегідь підготовлені пробірки (Станкевич, Горновська, 2022) для подальшого визначення виду та віку комах.

У різних обстежуваних районах склад шкідливих комах був досить різноманітний, найбільш численними серед них були твердокрилі (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Scarabaeidae), й інші види рядів Lepidoptera (Noctuidae), Orthoptera (Gryllidae), Hymenoptera (Formicidae) та Diptera. Видовий склад виявленої ґрунтової ентомофауни визначали в лабораторних умовах за допомогою визначників (Гусєв *та ін.*, 1962; Станкевич *та ін.*, 2023; Національна мережа... 2019), та консультувались з фахівцями Інституту захисту рослин НААН. Вік визначали по розмірам (ширина/довжина) головної капсули (зокрема у личинок пластинчастовусих).

2.4.3. Диференціювання нематодозів у потенційних комах-хазяїв та тест-комах серед інших патологій

Попереднє діагностування нематодозних захворювань (нематодозів) комах є трудомісткою працею, оскільки ентомопатогени мають мікроскопічні розміри і, в більшості випадків, виявляються лише з використанням спеціального обладнання. Чіткі методи вітальної гельмінтодіагностики для членистоногих не розроблені.

Збір хворих і загиблих комах-хазяїв, тест-комах базувався на використанні візуальних ознак ураження ентомопатогенними нематодами, які за літературними (Білик *та ін.*, 2017; Tarasco Eustachio *et al.*, 2023) і оригінальними даними (Ковтун, 2018а) мають свої характерні особливості (у порівнянні із іншими інфекційними та паразитарними захворюваннями). Симптоми, що спостерігалися в комах при ураженні їх нематодами з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae, залежали від видової належності паразита (патогена), фази розвитку, віку і виду комахи-хазяїна.

Основними явними ознаками нематодної інфекції були: характерна суцільна зміна кольору зовнішніх покривів тіла уражених комах на яскраво малиново-червоний (характерна для *Heterorhabditidae*) чи різні градації жовто-сірого (характерна для *Steinernematidae*); зміна розмірів і форми трупів тіла комах (уражені особини дещо збільшувалися в об'ємі, тіла розбухали і набували м'якої, пружної гумоподібної консистенції так як внутрішні органи під дією бактерій-симбіонтів перетворювалися в мутну рідину; відсутність будь-якого специфічного запаху у свіжо-загиблих комах.

2.4.4. Ізоляція ентомопатогенних нематод із проб ґрунту в лабораторних умовах

З метою ізоляції ентомопатогенних нематод із відібраних проб ґрунту застосовували метод біопроб (біотестування) (Orozco *et al.*, 2014). Для цього, ґрунтові проби ретельно перемішували, вилучали різноманітні камінці, залишки рослин та відбирали по 250-300 см³ заповнюючи пластикові стакани, в кожен з яких вносили по 3–5 личинок старшого віку великої воскової моли. Ґрунт, при необхідності, зволожували відстояною водопровідною водою за допомогою ручного обприскувача, з метою підвищення здатності нематод до руху в напрямку жертви. Стакани з ґрунтом, в свою чергу, обв'язували бяззю і розміщували на піддоні, перевернувши догори дном. Кожен стакан підписували (дата та місце відбору проб) і залишали для експозиції на 5–6 діб. Кожного дня оглядали стан гусениць, вилучали загиблих та замінювали їх новими.

2.4.5. Виділення ентомопатогенних нематод із зразків тест-комах в лабораторних умовах

Виділення нематод із загиблих тест-комах з чіткими ознаками (симптомами) нематодного ураження здійснювали шляхом застосування

«водної пастки» (пастка Уайта) (White, 1927). Водна пастка Уайта являє собою заповнену 20 мл дистильованою водою чашку Петрі (Ø 100 мм), котра, в свою чергу, містить перевернуту чашку Петрі меншого розміру (Ø 50 чи 60 мм) з вологим фільтрувальним папером посередині, на якому розміщуються личинки з ознаками нематодної інфекції. Через 10-25 днів (в залежності від виду і штаму ЕПН) спостерігали за міграцією інвазійних личинок (ІЛ) по вологому фільтрувальному паперу в шар води на дні більшої (Ø 100 мм) чашки Петрі.

Окрім цього, комах піддавали гельмінтологічному розтину з подальшим ретельним переглядом їх під стереоскопічним мікроскопом МБС-9 (Сігарьова, Корма, 2005; Білик *та ін.*, 2017).

Перш ніж приступати до мікроскопування, досліджуваних комах попередньо поверхнево стерилізували для видалення сапрофітної мікрофлори, для чого швидко проводили їх через полум'я спиртівки або занурювали у дезінфікуючі рідини з наступною промивкою у стерильній воді: 70%-ий етиловий спирт (5 хв.), 5%-ий розчин формаліну (15 хв.). При ураженні комах нематодами у водному, неокрашеному препараті при малому та великому збільшенні мікроскопа проглядаються всі стадії розвитку гельмінтів. Усі ізоляти ЕПН зберігали окремо у вигляді водної суспензії в 250 мл конічних колбах в холодильнику за температури 4°C у 0,001% розчині формаліну в фізіологічному розчині кухонної солі з концентрацією 1000-3000 екз. нематод/мл (Яковлєв, 2017).

2.4.6. Штучне інфікування тест-комах виявленими ізолятами ентомопатогенних нематод

Для отримання різних стадій розвитку ентомопатогенних нематод (ЕПН) проводили штучне інфікування тест-комах – личинок великої воскової молі *Galleria mellonella* L., 1758 в лабораторних умовах.

Для цього, за допомогою просякнutoї ефіром (чи хлороформом) шерстяної нитки анестезували дослідних комах, а потім обприскували суспензією нематод (не менше 100 інвазійних личинок/комахи) у попередньо простерилізованих чашках Петрі з вкладеним фільтрувальним папером (Harry Kaya, Patricia Stock, 1997). Чашки Петрі із зараженими тест-об'єктами витримували у затемненому місці (чи при розсіяному світлі) за кімнатної температури (22-24 °C).

У залежності від виду і штаму ЕПН, на 2–3-й день після інокуляції, спостерігали за утворенням першого покоління стейнернематид (складається з самців (♂1) і самиць (♀1)) та гетерорабдитид (наявні тільки протерандричні гермафродити, що мають фенотип самиць). На 5–10-й день у стейнернематид, а дещо пізніше (на 7–10-й день) у гетерорабдитид, спостерігали за утворенням другого покоління, що також складається із самців (♂2) і самиць (♀2). Останнє покоління ЕПН вичерпувало запаси їжі в трупі хазяїна, і ювенільні нематоди розвивались у так звану інвазійну личинку, які евазували у зовнішнє середовище.

2.4.7. Фіксація ентомопатогенних нематод та виготовлення препаратів для світлової мікроскопії

Для виготовлення напів-постійних тотальних мікропрепаратів на водно-гліцериновій основі, досліджуваних нематод попередньо фіксували у розчині ТАФ (2 мл триетаноламіну, 7 мл 40% розчину формальдегіду на 91 мл дистильованої води) та витримували у закритому від прямих сонячних променів місці протягом доби. Після цього, нематод відмивали у дистильованій воді та вміщували у розчин Зайнхорста №1 (95% етиловий спирт, гліцерин та дистильована вода у співвідношенні 20:1:79) та витримували 12 годин, після чого переміщали до розчину Зайнхорста №2 (95% етиловий спирт та гліцерин у співвідношенні 95:5) (Яковлев, Харченко, 2015).

Після цього, проводили вибірку нематод – не менше 10 ос. личинок, самців і самиць під стереоскопічним мікроскопом МБС-9, вибираючи останніх ентомологічною голкою на предметне скло в краплину розчину гліцерину (16 частин води + 1 частина гліцерину), пофарбованого поліхромною синькою, і закривали покривним скельцем, останнє покривали лаком. Після цього препарати витримували 1-2 доби за температури не більше +40°C в термостаті, з метою рівномірного профарбування внутрішньої будови нематод, що в подальшому полегшить процес мікроскопування.

2.4.8. Ідентифікація ентомопатогенних нематод (STEINERNEMATIDAE та HETERORHABDITIDAE)

Ідентифікація ентомопатогенних нематод умовно складалася з двох етапів: первинного, проведеного за застосування непрямих методів (за ознаками ураження тест-комах), та остаточного із використанням прямих методів, які є абсолютно визначеними, зокрема морфологічних та морфометричних досліджень під світловим мікроскопом.

Непрямі методи ідентифікації проводили на підставі макроскопічного аналізу (наочно, за допомогою ручної лупи [зб. $\times 10$] або мікроскопу МБС-9) комплексу патологічних змін, що відмічали у дослідних заражених і загиблих тест-комах *G. mellonella* при проникненні й подальшому паразитуванні ентомопатогенів. Даний спосіб дозволяв здійснити первинну родову диференціацію нематод перед остаточною.

Ідентифікацію ентомопатогенних нематод (на родовому рівні) здійснювали на основі аналізу патологічного стану хазяїна, а саме: характерній суцільній зміні кольору зовнішніх покривів тіла (епікутикули) уражених тест-комах *G. mellonella*, які під дією грам-негативних симбіотичних бактерій з родів *Xenorhabdus* та *Photorhabdus* нематод набували яскраво малиново-червоного (характерна для *Heterorhabditis* spp.)

чи різних градацій сірого, злегка жовтуватого кольору (характерна для *Steinernema* spp.).

2.4.8.1. Дослідження морфології та морфометрія

Для визначення остаточної видової належності виявлених ізолятів ентомопатогенних нематод (*Steinernematidae* та *Heterorhabditidae*) проводили мікроскопування тотальних напів-постійних пофарбованих мікропрепаратів методами світлової мікроскопії.

Досліджували морфолого-анатомічні ознаки (поверхневі структури зовнішньої кутикули, трофіко-сенсорний, трофіко-генітальний та каудальний відділи тіла) та морфометричні параметри різних стадій онтогенезу ентомопатогенних нематод – інвазійних личинок, самців, самиць чи гермафродитних особин першої та другої генерацій (у першу чергу самців (♂) та інвазійних личинок третього віку (L3)). Проводили порівняння їх між собою і із наявними літературними даними, користуючись ключами для визначення ентомопатогенних нематод (Nguyen, Smart, 1996; Lucskai, 2000), а також монографіями та статтями, присвяченими окремим таксонам (Stock, Harry Kaya, 1996; Nguyen *et al.*, 2007; Mracek, Zdenek, 2014; Mracek *et al.*, 2018).

З основних морфологічних особливостей відмічали: будову латеральних полів у інвазійних личинок; особливості будови, форма та забарвлення спікул, губурнакулуму, наявність та тип бурси, число і розміщення статевих сосочків, а також наявність мукронального відростка хвостового кінця у самців; наявність епіптігми вульви, агрегованість спермійів у статевих трубках самиць. Серед інших додаткових морфологічних особливостей вказували на форму хвостової частини і кінчика хвоста, а також характерний вигин тіла у мертвих нематод (Яковлев, Харченко, 2015).

Порівняльну морфометричну оцінку показників у ентомопатогенних нематод проводили за загальноприйнятими абсолютними вимірами (і їх

співвідношеннями) (Nguyen, 2007). Використовували наступні скорочення та співвідношення:

«n» = кількість досліджених екземплярів;

«L» = довжина тіла;

«W» = максимальний діаметр тіла;

«EP» = дистанція від апікального кінця до отвору екскреторної пори;

«ES» = довжина стравоходу;

«NR» = дистанція від апікального кінця до нервового кільця;

«TL» = довжина хвоста;

«ABW» = діаметр тіла на рівні анусу;

«SL» = довжина спікули;

«GL» = довжина губернакулуму;

«MUC» = наявність/відсутність мукрона, його довжина;

«V» = вульва;

«HT» = довжина гіалінової частини хвоста.

На основі вищезазначених морфометричних показників розраховано індекси (Nguyen, 2007):

$$D\% = (EP/ES) \times 100;$$

$$E\% = (EP/TL) \times 100;$$

$$SW\% = (SL/ABW) \times 100;$$

$$GS\% = (GL/SL) \times 100;$$

$$H\% = (HT/TL) \times 100;$$

у т. ч. індекси Де Мана, а саме: $a = L/W$; $b = L/ES$; $c = L/TL$; $c' = TL/ABW$.

Огляд діагностичних ознак та вимірювання нематод проводили під світловим мікроскопом Carl Zeiss Primo Star при загальному збільшенні 160-640^x (при 1600^x з використанням імерсійного масла) із використанням системи аналізу зображень ToupView 3.7 (for Digital Camera). Мікрофотографування об'єктів дослідження проводили за допомогою цифрової камери для мікроскопа ToupCam SCMOS03000KPA 3.0MP.

2.4.9. Оцінка інсектицидної активності ентомопатогенних нематод щодо ґрунтових шкідливих комах

Дослідження інсектицидної дії виявлених ізолятів ентомопатогенів *Steinernema* sp. щодо цільових комах-шкідників – личинок західного травневого хруща *Melolontha melolontha* L., 1758 останнього віку, зібраних у природних умовах, проводили у лабораторних умовах шляхом обприскування суспензією нематод (з розрахунку 100 інвазійних личинок (L3)/комаху) попередньо анестезованих ефіром (чи хлороформом) дослідних комах у простерилізованих чашках Петрі з вкладеним фільтрувальним папером. Чашки Петрі із зараженими комахами *M. melolontha* витримували у затемненому місці (чи при розсіяному світлі) за кімнатної температури (22-24 °C) (Harry Kaya, Patricia Stock, 1997). Оцінено ефективність (реєстрація % смертності комах з інтервалом у 24 год) і репродуктивний потенціал – здатність нематоди розвиватися в тілі загиблого хазяїна та продукувати інфекційні личинки (шляхом гельмінтологічного розтину та підрахунку кількості нематод) *Steinernema* spp. на личинках західного травневого хруща (Стефановська, Кава, 2012; Граціанова та ін., 2012; Сігарьова, Харченко, 2018).

Для порівняння використовували комерційний біологічний препарат Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі ентомопатогенної нематоди виду *Steinernema feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982. Препарат Entonem – біологічний засіб контролю різних комах – шкідників культур у закритому ґрунті та міських зелених насаджень. Згідно рекомендацій виробника застосовують проти таких шкідників: *Lycoriella* spp., *Bradysia* spp., *Scatella* spp., *Liriomyza* spp., *Otiorhynchus* spp., *Spodoptera* spp., *Agrotis* spp., *Tuta absoluta* Meyrick, 1917, *Thaumetopoea processione* L., 1758, *Korscheltellus lupulina* L., 1758, *Spodoptera littoralis* Boisduval, 1833, *Helicoverpa zea* Boddie, 1850, *Chrysodeixis chalcites* Esper, 1789, *Autographa gamma* L., 1758 та ін.

2.4.10. Математично-статистична обробка даних

Математично-статистичну обробку отриманих первинних даних здійснювали методами описової та варіаційної статистики, з використанням програм обробки даних «SPSS Statistics 17.0» та «Microsoft Excel 2013».

Для опису загальних кількісних закономірностей (у дослідженнях морфометричних показників ентомопатогенних нематод; оцінці ентомоцидної дії ентомопатогенних нематод щодо шкідливих комах) використовували основні статистичні показники – міру центральної тенденції із вираховуванням середнього арифметичного ($\bar{X}$), та міру мінливості із вираховування мінімуму (min) та максимуму (max). Аналіз тенденцій щодо поширення ентомопатогенних нематод, ентомоцидної дії ентомопатогенних нематод відносно комах-шкідників у відповідних порівнюваних групах проводили за допомогою розрахунку U-критерія Манна-Уїтні, порогом статистичної значущості визнали загальноприйнятий 5%-й рівень (або при $p \leq 0,05$).

Частоту трапляння (у %) родів/видів ентомопатогенних нематод визначали у відсотках як відношення числа проб, в яких даний рід/вид траплявся, до загальної кількості відібраних та проаналізованих проб (Bedding, Akhurst, 1975; Vafa, Ayatollah, 2022) за формулою (2.2):

$$P\% = (n / N) \times 100, \quad (2.2)$$

де P – індекс частоти трапляння, %, n – кількість проб, в яких виявлено даний рід (вид), шт; N – загальна кількість відібраних та досліджених проб, шт.

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Частота трапляння нематод (RHABDITIDA: STEIENERNEMATIDAE ТА HETERORHABDITIDAE) серед ентомопатогенних організмів в агроценозах України

У результаті проведених нами досліджень встановлено, що серед 312 проаналізованих проб (220 ґрунтових проб + 92 «живих» пасток), відібраних в агроценозах різних регіонів України: Житомирська область (N=28 проб), Чернігівська область (N=91 проба), Київська область (N=77 проб), Вінницька область (N=22 проби), Хмельницька область (N=49 проб), Черкаська область (N=30 проб) та Одеська область (N=15 проб) – 30,5% виявились позитивними щодо ентомопатогенних організмів різної етіології (Nematoda, Fungi, Bacteria, Insecta), які викликають інфекційні та паразитарні захворювання комах у формі моно- та змішаної (мікст) інфекцій (рис. 3.1-3.3).

Як видно з наведених даних діаграми (рис. 3.1), найбільшу частку серед них – 15% (46 проб) займає саме нематодозна інфекція (збудники – нематоди з родів *Steinernema* Travassos, 1927 та *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (Rhabditida: Steienernematidae та Heterorhabditidae)). Відомо, що симптоми, які спостерігаються у комах при ураженні їх ентомопатогенними організмами залежать від видової належності паразита (патогена), фази розвитку, віку і виду комахи-хазяїна тощо.

За нашими спостереженнями (Ковтун, 2018a), основними характерними ознаками нематодної інфекції на тест-комах *G. mellonella* є: характерна зміна кольору зовнішніх покривів тіла уражених комах на яскраво малиново-червоний (характерна для *Heterorhabditis* spp.) чи різні градації сірого (характерна для *Steinernema* spp.); зміна розмірів і форми трупів тіла комах (уражені особини дещо збільшувались в об'ємі, тіла розбухали і набували м'якої, пружної гумоподібної консистенції так як внутрішні органи

під дією бактерій-симбіонтів перетворювалися в мутну рідину; відсутність будь-якого специфічного запаху у свіжо-загиблих комах (рис. 3.2; рис. 3.3) .

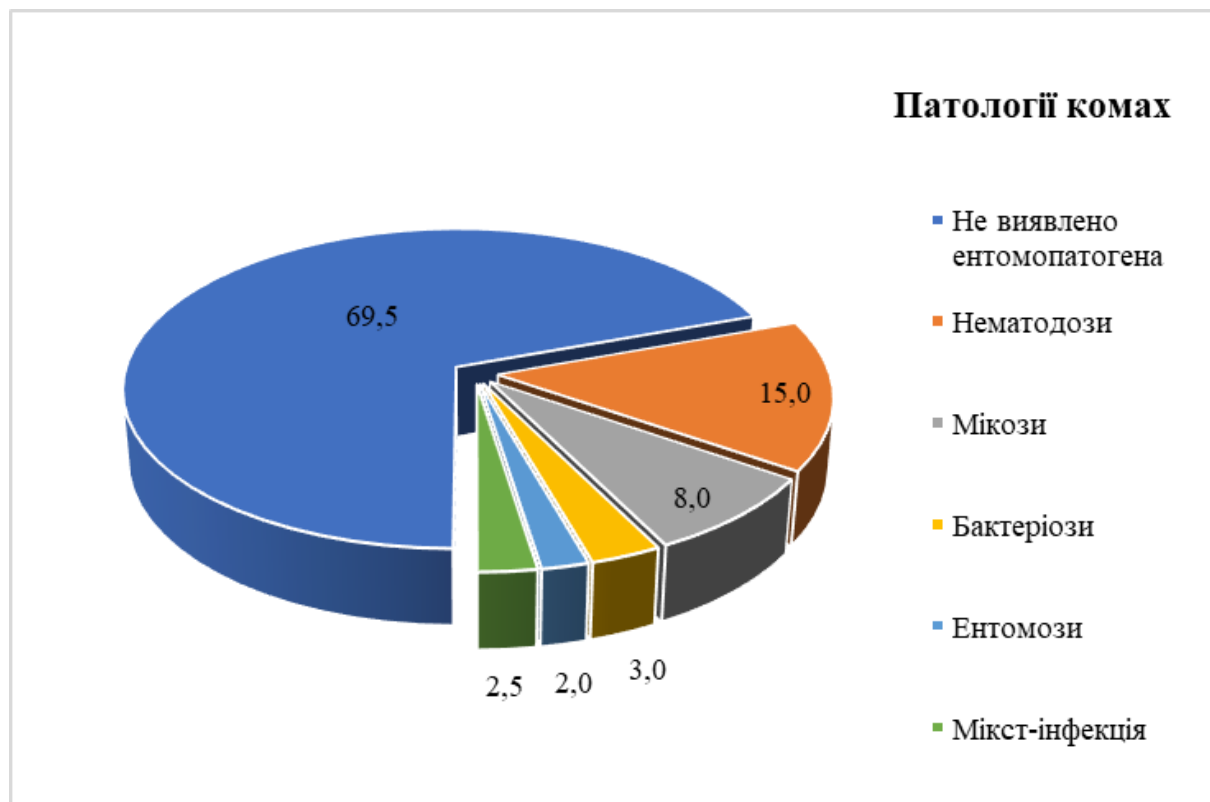


Рис. 3.1. Поширеність інфекційних та паразитарних збудників захворювань серед тест-комах *Galleria mellonella* у формі моно- та змішаної (мікст) інфекції (%) в досліджуваних пробах ґрунту та «живих» пастках, виявлених в ґрунтах агроценозів України (2016-2021 роки)

Окрім нематодної інфекції, в досліджуваних пробах діагностовано численні мікози, які зумовлюють наступні грибні патогени (рис. 3.1; рис. 3.3): збудник білої мускардини – види із роду *Beauveria* Vuill., 1912 (Hypocreales: Clavicipitaceae), збудник зеленої мускардини – види із роду *Metarhizium* Sorokin, 1879 (Hypocreales: Clavicipitaceae) та види із роду *Akanthomyces* Lebert, 1858 (Hypocreales: Cordycipitaceae) – на які сумарно припадає 8% позитивних проб. При мікозах, тіла комах проростали ниткоподібними гіфами гриба, внаслідок цього ставали щільними (муміфікованими) та крихкими, із труднощами відокремлювалися від субстрату. Зовні, в залежності від збудника, трупи комах покривалися білим

або зеленим нальотом із спор (рис. 3.3). Серед мікозів особливо широко розповсюдженими є – ентомофторози, що викликаються представниками родини Entomophthoraceae та мускардинози – викликаються видами із роду *Bauveria*, менш розповсюдженими є – кордіцепсимікози, збудниками якого є гриби з роду *Cordyceps* Fr., 1818 (Korosi *et al.* 2019; Perez-Gonzalez *et al.* 2014; Mantzoukas *et al.* 2022; Tkaczuk *et al.* 2016).

Аналіз зовнішнього вигляду деяких загиблих тест-комах давав можливість судити про бактеріальний характер захворювання (бактеріози), які складали 3% позитивних проб (рис. 3.1; рис. 3.3). При бактеріозах свіжо-загиблі личинки комах ставали м'явими, тіла їх дещо темнішали. Клітини гіподерми загиблих комах залишалися щільними, так як шкіряні покриви не розривалися, а трупи мали неприємний гнильний запах (Heba *et al.* 2022). Також, за період досліджень, нами відмічено випадки зараження ентомозами (міазами) – ендопаразитичними личинками мух (Diptera: Tachinidae) – 2% серед загальної кількості досліджених проб (рис. 3.1).

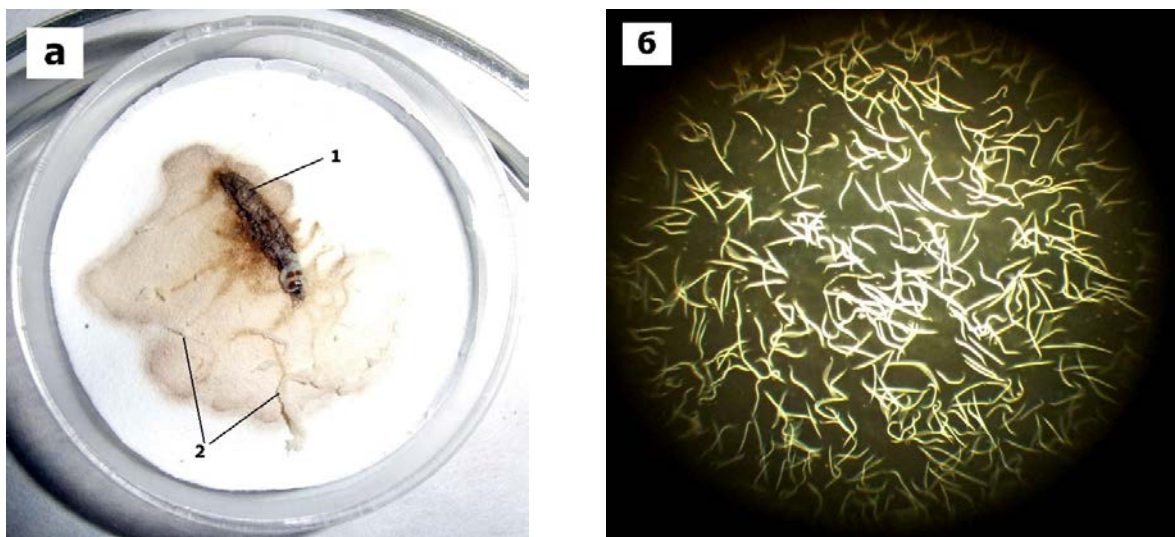


Рис. 3.2. Особливості прояву нематодної інфекції: а – евазія інвазійних личинок ЕПН від залишків тіла *G. mellonella* у пастці Уайта: (1) – загибла комаха-хазяїн *G. mellonella*, (2) – інвазійні личинки ЕПН; б – загальний вигляд інвазійних личинок ЕПН (нативний водний препарат). Оригінал.

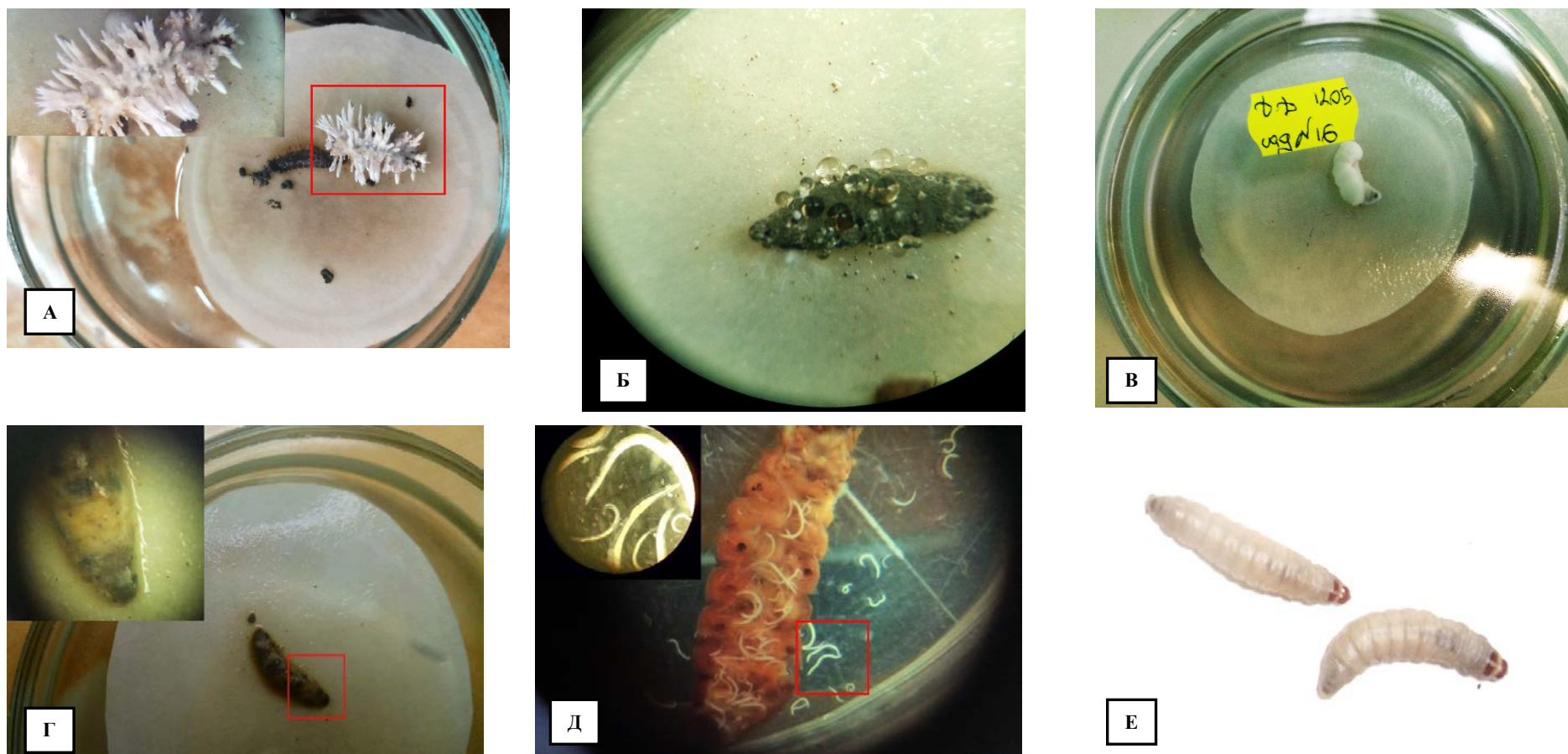


Рис. 3.3. Прояв різних інфекційних та паразитарних патологій на личинках тест-комахах *Galleria mellonella*: А-В – мікози: А – збудник *Akanthomyces* sp., Б – збудник *Metarhizium* sp., В – збудник *Beauveria* sp.; Г – бактеріоз; Д – нематодоз (збудник *Heterorhabditis* sp.); Е – не уражені особини *G. mellonella* (контроль). Виділені фрагменти прямокутною рамкою на рисунку показано більш крупним планом. Оригінал.

Рідко спостерігали змішану інфекцію (мікст-інфекцію), що викликала декількома збудниками різної етіології, зокрема нематодами та грибами (мускардіоз), чи нематодами та личинками мух (міазами). Змішана інфекція була виявлена у 2,5% від загальної кількості досліджених проб (рис. 3.1), з найвищим показником ураження комах *G. mellonella* при нематодозі із мікозом (мускардіоз).

Відомо, що змішана інфекція досить часто явище серед патологій комах, яке призводить до більш глибоких змін в організмі жертви, впливає на розвиток і чисельність нащадків, а також сприяє більш швидкому розвитку епізоотій (Дядечко *та ін.*, 2001; Spescha *et al.*, 2023; Puza, Tarasco, 2023).

За нашими спостереженнями (Kovtun, Petrenko, 2023), у випадку ентомофаго-нематодної паразитарної асоціації при нематодозі із ентомозом (міазами), можна стверджувати про явище гіперпаразитизму в природних умовах, так як личинки паразитичних мух, які заразили комах *G. mellonella*, у свою чергу, були інфіковані ентомопатогенними нематодами у тілі загиблої комах. Подібного випадку мікст-інфекції в доступній науковій літературі взагалі не згадується. Даний факт представляє значний науковий та практичний інтерес, оскільки, наприклад, дозволяє раціональніше здійснювати комбіноване використання обох груп біологічних засобів контролю шкідників для підвищення їхньої інсектицидної ефективності.

Крім цього, слід також наголосити, що досліджуючи зразки загиблих тест-комах *G. mellonella*, нами встановлено наступний факт: у двох випадках ентомопатогенних нематод всередині тіла заражених ними особин *Galleria* виявлено не було. Однак, зовнішній вигляд загиблих комах (яскраво червоний колір забарвлення покривів тіла) та типовий вигляд залишків внутрішніх органів комах, що піддалися розкладу під дією бактерій-симбіонтів, чітко вказували саме на нематодоз (збудник – *Heterorhabditis* sp.).

Відсутність ентомопатогенних нематод, на нашу думку, можна пояснити тим, що спрацювала захисна імунна реакція організму комах на вторгнення ентомопатогена, а саме інкапсуляція нематод з подальшою їх

меланізацією (Ebrahimi *et al.* 2011). Проте, все-таки, інвазійні личинки нематод після проникнення всередину тіла комах встигли інокулювати в гемоцелі симбіотичні бактерії, перш ніж відбулась інкапсуляція. Напевно, високо ймовірно, успіх здолання захисного бар'єру можна пояснити невеликою кількістю проникнення нематод всередину тіла комах-хазяїна, їх слабкою патогенністю.

Результати наших обстежень різних агроценозів свідчать, що в цілому багаторічні сільськогосподарські насадження достовірно більше заселені ентомопатогенними організмами, ніж сільськогосподарські посіви польових культур – 82,7% проти 17,3% від усіх позитивних проб (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$). На нашу думку, це можна пояснити тим, що багаторічні насадження характеризуються більшою видовою різноманітністю членистоногих, які безпосередньо забезпечують відновлюваність популяцій ентомопатогенів (ентомопатогенних нематод зокрема).

Не менш актуальним і складним є питання частоти зараження ентомопатогенними нематодами шкідливих комах, та їх гостальної специфічності (харчової спеціалізації) у біоценозах. Як показав аналіз вітчизняних літературних даних, досі не зафіксовано випадків природніх епізоотій, викликаних ентомопатогенними нематодами, окрім однієї, викликаної 80 років тому (!), у 1952 році на посівах буряків цукрових Весело-Подільської селекційної станції (Полтавська область) серед личинок бурякових довгоносиків *B. punctiventris* (Яковлєв, 2017; Сігарьова та ін., 2020).

Лабораторний аналіз зібраних та відловлених нами в природних умовах ґрунтових комах на предмет їх зараження ентомопатогенами – не виявив в них інвазій. Вважаємо, що це пов'язано, у першу чергу, з малим обсягом вибірки комах. Адже ми не ставили за мету провести ентомологічні обстеження мікроценозів комах в агроценозах, а просто відбирали хворих і загиблих особин комах, які потрапляли в наше поле зору (здебільшого добре помітних, великих за розміром), з подальшим встановленням причин

загибелі. У різних обстежуваних районах склад шкідливих комах був досить різноманітний (рис. 3.4). Найбільшу частку становили личинки жуків-коваликів (Coleoptera: Elateridae) – дротяники, чорнотілок (Coleoptera: Tenebrionidae) – несправжні дротяники, личинки та імаго пластинчатовусих жуків – хрущі (Coleoptera: Scarabaeoidea: Melolonthinae).

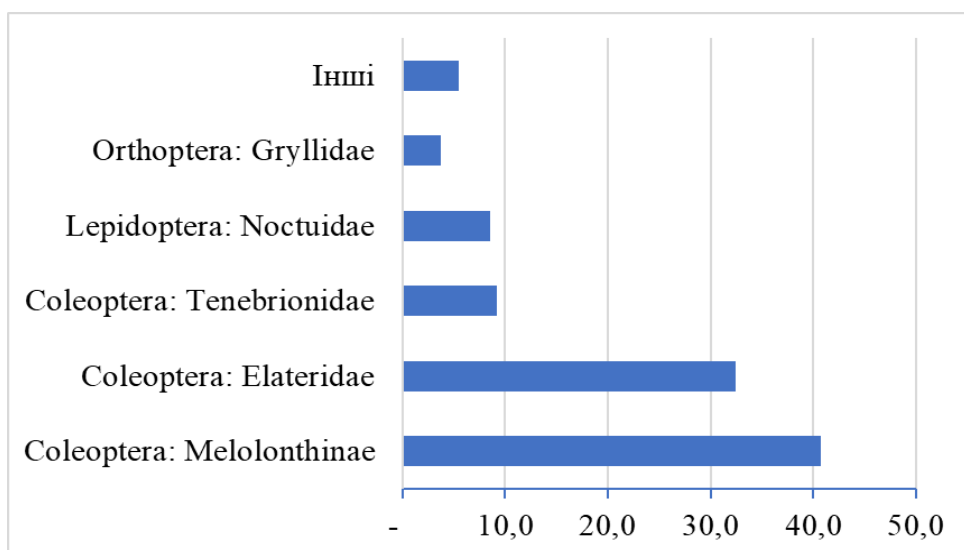


Рис. 3.4. Склад основних родин класу комах – *Insecta*, виявлених у різних обстежуваних агроценозах України, у % від загальної кількості (за період 2016-2021 років).

У верхньому шарі ґрунту, окрім вищезазначених комах, були виявлені гусениці підгризаючих метеликів-совок (Lepidoptera: Noctuidae), деякі цвіркуни (Orthoptera: Gryllidae), мурахи (Hymenoptera: Formicidae), пупарії мух (Diptera) тощо. Усі вони, за деяким виключенням, згідно з даними літератури (Сікура, Гунчак, 2018; Сігарьова *та ін.*, 2021a), потенційно могли бути хазяями для ентомопатогенних нематод.

1. Ковтун А. М. Особливості діагностики нематодозів комах, викликані ентомонематодами з родин Steienernematidae та Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida). *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній*

медицині: III Всеукраїнська науково–практична інтернет-конференція. (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.). Полтава, 2018. С. 101-104.

2. **Kovtun A.,** Petrenko S. Frequency of occurrence and identification of nematodes among entomopathogenic organisms in agrocoenoses of Ukraine. *GEO&BIO*. 2023. Vol. 24. P. 214–224.

3.2. Заселеність агроценозів України ентомопатогенними нематодами (STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE)

Частота виявлення позитивних проб (% проб) із ентомопатогенними нематодами (ЕПН), їх родова різноманітність значно варіювали в залежності від місць обстежень (регіонів, областей), типу агрофітоценозу (посіви польових культур, багаторічні насадження тощо), а також від домінуючого виду-утворювача агроценозу (виду-едифікатора) (табл. 3.1; табл. 3.2).

Відносний показник заселеності (частота трапляння, %) ЕПН в районах зони Лісостепу не достовірно перевищував ($U = 5$ при $p < 0,05$) райони із зони Полісся – 16,9% та 13,6% заражених проб відповідно.

У степовій зоні, зокрема в Одеській області, нами не було виявлено ентомопатогенних нематод. Попри це, аналіз літературних даних свідчить, що у Степу України виявлено локалітети представників ентомопатогенних нематод у агроценозах (садові насадження) Миколаївської області та природних біоценозах (заповідники) Херсонської та Запорізької областей (Сігарьова *та ін.*, 2021a; Яковлєв, 2012; Яковлєв, Харченко, 2013).

Основні пункти виявлення ентомопатогенних нематод були зосереджені в 3-х областях, а саме: Чернігівська область – Козелецький р-н (м. Остер, с. Морівськ), Чернігівський р-н (с. Боромики), Менський р-н (с. Кисилівка); Житомирська область – Овруцький р-н (м. Овруч); Київська область – Баришівський р-н (смт Баришівка).

Частота виявлення представників ЕПН була неоднаковою в різних областях, і коливалась в межах від 12,0% (Чернігівська обл.) до 43,7% (Київська обл.) (табл. 3.1; рис. 3.5).

Таблиця 3.1

Особливості розподілу ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* (Steinernematidae) та *Heterorhabditis* (Heterorhabditidae) в агроценозах по зонам/регіонам досліджень (за результатами обстежень 2016-2021 років)

№ п/п	Географічні відомості (область)	Кількість проб*			
		Досліджено <i>N, шт</i>	Заражено <i>n, шт (P, %)</i>		
			всього	з них	
				<i>St. spp.</i>	<i>Het. spp.</i>
ПОЛІССЯ					
1.	Чернігівська	91	11 (12,0)	10 (90,9)	1 (9,1)
2.	Житомирська	28	7 (25,0)	5 (71,4)	2 (28,6)
3.	Київська	13	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Всього Полісся		132	18 (13,6)	15 (83,3)	3 (16,7)
ЛІСОСТЕП					
1.	Київська	64	28 (43,7)	13 (46,4)	15 (53,6)
2.	Хмельницька	49	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
3.	Черкаська	30	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
4.	Вінницька	22	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Всього Лісостеп		165	28 (16,9)	13 (46,4)	15 (53,6)

Продовження таблиці 3.1

№ п/п	Географічні відомості (область)	Кількість проб*			
		Досліджено <i>N, шт</i>	Заражено <i>n, шт (P, %)</i>		
			всього	з них	
				<i>St. spp.</i>	<i>Het. spp.</i>
СТЕП					
1.	Одеська	15	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Всього Степ		15	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Разом П+ЛС+С		312	46 (14,7)	28 (60,8)	18 (39,2)

Примітка: * – ґрунтові проби разом із «живими» пастками.

Умовні скорочення: *N* – кількість відібраних та проаналізованих проб; *n* – кількість ЕПН-позитивних проб; %*P* – частота виявлення; *St.* – *Steinernema*; *Het.* – *Heterorhabditis*; П – Полісся; ЛС – Лісостеп; С – Степ.

За весь весняно-осінній період обстежень 2016-2021 років, найбільш масово представники ентомопатогенних нематод виявлено в травні-червні, ніж в інші місяці (зокрема, в липні-вересні), це може бути пов'язано з тим, що роки обстежень характеризувалися значними тривалими посушливими весняними і літніми періодами. Посушливим можна назвати 2018/2019, дуже посушливим – 2017/2018 і особливо посушливим – 2019/2020 роки. Це могло позначитися на виявленні вологолюбних ентомопатогенних нематод під час відбору ґрунтових проб, особливо в зоні Лісостепу та Степу. Адже, лабораторний аналіз 104 шт проб ґрунту, відібраних під час обстежень польових ценозів у Хмельницькій, Вінницькій. Черкаській та Одеській областях, не дав позитивного результату щодо ентомопатогенних нематод (табл. 3.1; рис. 3.5).

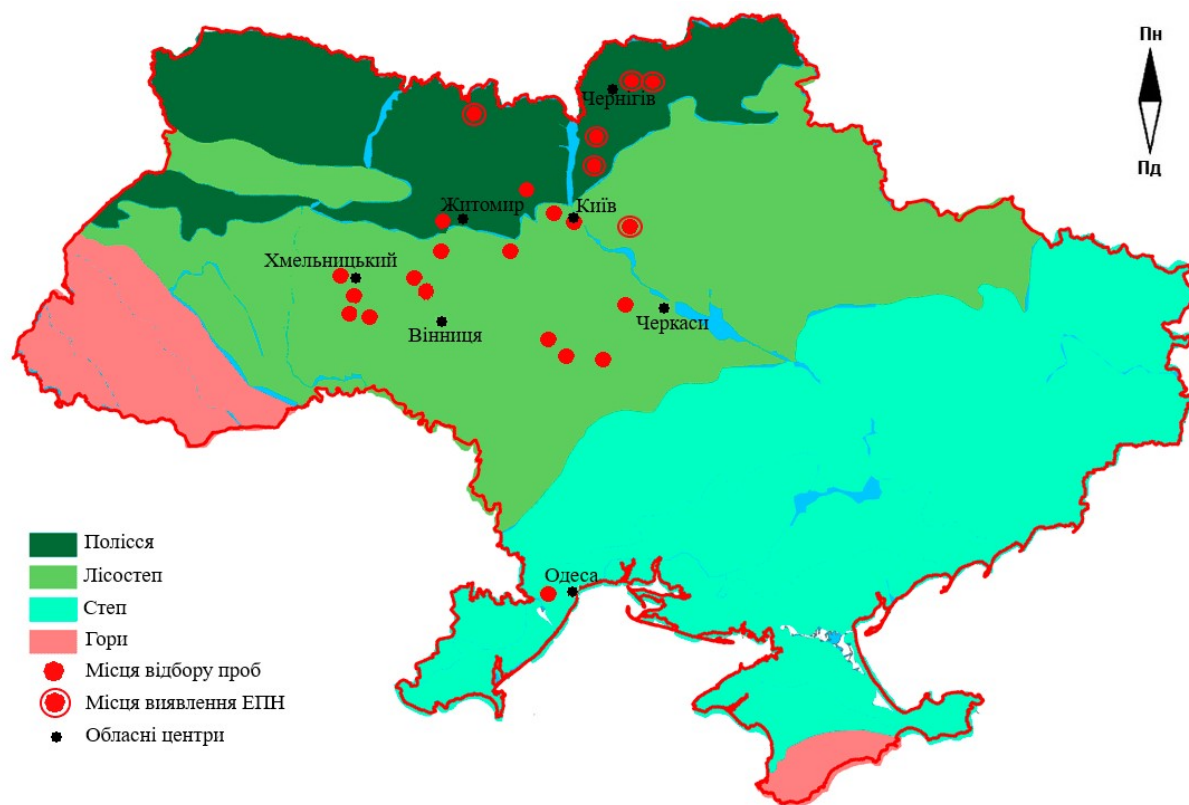


Рис. 3.5. Мапа місць відбору проб та основних пунктів виявлення ентомопатогенних нематод (ЕПН) (див. легенду). *Оригінал*.

Слід зауважити, що у більшості із відібраних проб ґрунту у Хмельницькій області (переважно з агроценозів буряків цукрових) нами було виявлено надзвичайно велику кількість енхітреїд (*Enchytraeidae*) – дрібні, безбарвні кільчасті черви (*Oligochaeta*). Відомо, що активність цих червів як біологічних регуляторів може впливати на біорізноманіття, в тому числі на взаємодію між рослинами та шкідниками. У прикореневій зоні енхітреїди часто ведуть хижацький спосіб життя, виступаючи антагоністами паразитичних нематод. Дорослі енхітреїди можуть поїдати фітопаразитичних нематод, зокрема *Heterodera. Schacti* Schmidt, 1871. При високій чисельності цих червів фітонематоди швидко зникають і процес зараження кореневої системи припиняється. Зазвичай, енхітреїди заковтують залишки рослин, екскременти колембол, водорості, гриби і бактерії.

Результати нематологічних обстежень агроценозів засвідчили, що в цілому, багаторічні насадження достовірно більше заселені

ентомопатогенними нематодами у 4,8 разів ($U = 27,5$, z -показник = 2,29464 при $p < 0,055$), аніж посіви польових культур – 12,1% проти 2,5% (у % від загальної кількості досліджених проб) (табл. 3.2). Останнє можна пояснити специфічністю мікрокліматичних умов. Так, щільний покрив, який створюють рослини в плодоносних садах, зумовлює мізерні коливання температури і вологості, тим самим забезпечуючи сприйнятливіші умови для оптимальної життєдіяльності вільноіснуючих генерацій ентومопатогенних нематод. До того ж, багаторічні насадження характеризується більшою видовою різноманітністю членистоногих. У деревному ярусі культурних насаджень шукають притулку багато комах-шкідників, які безпосередньо забезпечують відновлюваність популяцій ентомопатогенних нематод, що збільшує шанси на виявлення ентомопатогенів. Навпаки, у посівах польових культур, часте культивування земельних ділянок, сприяє їх висушуванню, до того ж ґрунт піддається прямій дії сонячного проміння.

Окрім цього, негативним чинником є й інтенсивне використання пестицидів, хімічних добрив, які пригнічують й обмежують розвиток комах-шкідників і, тому, заважають утворенню сталого паразитарного комплексу («паразит-хазяїн») між шкідливими комахами та нематодами. Останнє, особливо притаманне для промислових сільськогосподарських угідь, хімічний «пресинг» в яких надмірний.

Так, дані Dziegielewska (2012) засвідчили, що в садах без хімічних обробок (порівняно з обробленими) спостерігається вища видова різноманітність та вища зустрічальність ентомопатогенних нематод. Крім того, існує чимало наукових даних (Shulong Chen *et al.*, 2003; Negrisoli Jr. *et al.*, 2008), які свідчать про значний негативний вплив ряду найбільш поширених пестицидів (*e.g.*, тіофанат-метил, тіаметоксам, імідоклоприд, альдикарб, карбофуран, хлорпірифос, гептенофос) на життєздатність та біологічну активність самих ентомопатогенних нематод (*Steinernema*, *Heterorhabditis*).

Таблиця 3.2

Частота трапляння ентомопатогенних нематод (*Steinernema*, *Heterorhabditis*) в агроценозах сільськогосподарських культур Полісся (N=132 проби), Лісостепу (N=165 проби) та Степу (N=15 проб) України (за період 2016-2021 роки)

Вид культури	Зони і області								Всього
	Полісся			Лісостеп				Степ	
	Чн	Жт	Кв	Хм	Вн	Кв	Чк	Од	
I. БАГАТОРІЧНІ НАСАДЖЕННЯ *									
Ia. Плодові сади									
1.1. зерняткові культури									
Malus domestica	4/22 [#]	1/2	0/1	—	—	5/6	—	0/5	10/36
Pyrus communis	0/2	1/2	—	—	—	1/2	—	—	2/6
1.2. кісточкові культури									
Prunus domestica	1/5	2/2	—	—	—	1/4	—	—	4/11
Prunus cerasus	0/5	1/2	—	—	—	0/2	—	—	1/9
Prunus armeniaca	—	—	—	—	—	4/11	—	—	4/11
Prunus avium	—	—	0/1	—	—	0/10	—	—	0/11
Prunus persica	—	2/2	—	—	—	—	—	0/4	2/6
1.3. горіхоплідні культури									
Juglans regia	—	—	—	—	—	3/4	—	0/3	3/7
1.4. ягідні культури									
Morus nigra	—	—	—	—	—	3/6	—	—	3/6
Hippophae rhamnoides	—	—	—	—	—	6/7	—	—	6/7

Продовження таблиці 3.2

Вид культури	Зони і області								Всього
	Полісся			Лісостеп				Степ	
	Чн	Жт	Кв	Хм	Вн	Кв	Чк	Од	
I. БАГАТОРІЧНІ НАСАДЖЕННЯ									
Iб. Декоративні насадження									
<i>Viburnum opulus</i>	—	—	—	—	—	0/2	—	—	0/2
<i>Juniperus communis</i>	—	—	—	—	—	1/2	—	—	1/2
<i>Thuja occidentalis</i>	—	—	—	—	—	2/2	—	—	2/2
Всього I. багаторічні насадження	5/34	7/10	0/2	—	—	26/58	—	0/12	38/116
II. ПОЛЬОВІ КУЛЬТУРИ									
2.1. культури зернові та зернобобові									
<i>Triticum aestivum</i>	—	—	—	0/36	—	—	0/26	0/3	0/65
<i>Avena sativa</i>	0/3	—	—	—	—	—	—	—	0/3
<i>Fagopyrum esculentum</i>	2/47	—	—	—	—	—	—	—	2/47
<i>Phaseolus vulgaris</i>	—	—	—	—	—	1/3	—	—	1/3
2.2. культури технічні									
<i>Beta vulgaris</i>	—	0/12	—	—	—	—	0/4	—	0/16
<i>Helianthus annuus</i>	3/3	—	—	—	—	—	—	—	3/3
<i>Glycine max</i>	—	0/6	—	0/13	0/22	—	—	—	0/41
2.3. картопля, культури овочеві та баштанні продовольчі									
<i>Solanum tuberosum</i>	—	—	0/11	—	—	—	—	—	0/11
<i>Cucurbita pepo</i>	—	—	—	—	—	1/3	—	—	1/3

Продовження таблиці 3.2

Вид культури	Зони і області								Всього
	Полісся			Лісостеп				Степ	
	Чн	Жт	Кв	Хм	Вн	Кв	Чк	Од	
II. ПОЛЬОВІ КУЛЬТУРИ									
2.4. культури кормові (трави багаторічні)									
Medicago sativa	1/4	—	—	—	—	—	—	—	1/4
Всього	6/57	0/18	0/11	0/49	0/22	2/6	0/30	0/3	8/196
II. польові культури									
Разом I+II	11/91	7/28	0/13	0/49	0/22	28/64	0/30	0/15	46/312

Примітка: # – кількість ЕПН-позитивних проб (чисельник), шт / загальна кількість проаналізованих проб (знаменник), шт.; * – достовірна різниця між показниками варіантів порівняння «I. Багаторічні насадження» і «II. Польові культури» (U-критерій Манна-Уїтні; $p < 0,05$).

Умовні позначення: тире (–) – явищ не було.

Найбільша кількість позитивних проб, в яких виявлено ЕПН, припадає на багаторічні насадження (38 шт, або 82,6%), зокрема старі необроблювальні плодоносні сади, представлені: розоцвітими, Rosaceae (кісточкові, зерняткові культури), ягідними (шовковицеві, Moraceae; маслинкові, Elaeagnaceae), та горіхоплідними (горіхові, Juglandaceae) культурами. Також ентомопатогенні нематоди знаходили в насадженнях хвойних вічнозелених декоративних культур (кипарисові, Cupressaceae). Значно в меншій мірі вони траплялись в ценозах різноманітних польових культур (8 шт, або 17,4%), зокрема бобових (Fabaceae), гарбузових (Cucurbitaceae), гречкових (Polygonaceae) та айстрових (Asteraceae).

Так, найбільшу кількість (10 шт, або 21,7%) серед усіх 46 шт позитивних проб отримано з-під насаджень яблуні домашньої (*Malus domestica* Borkh., 1803), а найменшу (по 1 шт, або 2,1%) виявлено серед наступних культур: вишні звичайної (*Prunus cerasus* L., 1753), ялівецю звичайного (*Juniperus communis* L., 1753), люцерни посівної (*Medicago sativa* L., 1753), квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris* L., 1753) та гарбуза звичайного (*Cucurbita pepo* L., 1753) (табл. 3.2).

При цьому слід наголосити, що нематологічний аналіз ґрунтових проб, відібраних нами на промислових посівах сої (*Glycine max* (L.) Merr., 1917), пшениці звичайної (*Triticum aestivum* subsp. *aestivum* L. 1753) та буряків цукрових (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris* L., 1753) в ряді районів Житомирської, Черкаської, Хмельницької, Вінницької та Одеської областей, не виявив нематод – патогенів для комах (табл. 3.2). Можна висловити припущення, що інтенсивне застосування хімічних обробок, істотно впливає на зниження шкідливої ентомофауни агроценозів, представники яких являються потенційною харчовою базою для ентомонематод.

За нашими спостереженнями, представники роду *Steinernema* помітно переважали над *Heterorhabditis* (у співвідношенні 1,5:1), але виявлена різниця не була статистично достовірною ($U = 30,5$, z -показник = 0,10502 при $p < 0,055$) і носила характер тенденції (табл. 3.1). Порівняння наших результатів

із літературними даними (Hominick *et al.*, 1996; Hominick, 2002; Yakovlev, Kharchenko, 2016; Bhat *et al.*, 2020) дозволило зробити висновок, що така тенденція зберігається у багатьох країнах світу.

Слід зазначити, що популяції *Steinernema* spp. були поширені в різних агроценозах, тоді як *Heterorhabditis* spp. зустрічалися виключно в плодових садах і хвойних декоративних багаторічних насадженнях. Очевидно, що гетерорабдитиди є більш вибагливими до мікросередовища і потребують високої вологості ґрунту та відносно стабільного температурного режиму, особливо взимку. Такі умови, якраз, забезпечує ґрунт, що вкритий підстилкою листяних насаджень (листяна підстилка), і захищений від прямих сонячних променів кронами дерев.

Обговорення

Дані літератури щодо особливостей поширення ентомопатогенних нематод в багатьох питаннях залишаються гіпотетичними, дискусійними та суперечливими. Частина сучасних дослідників схиляється до думки, що ентомопатогенні нематоди частіше зустрічаються у не змінених під впливом людської діяльності природних екосистемах, а на думку інших, ентомопатогенні нематоди є основними мешканцями штучних екосистем (агроекосистем). Також досить часто ЕПН «знаходили притулок» на територіях міст у групових насадженнях дерев на вулицях, узбіччях доріг тощо. Хай там що, але одне можна сказати напевне – ентомопатогенні нематоди заселяють як природні, так і антропогенно змінені біоценози.

Не дивлячись на те, що перші знахідки ентомопатогенних нематод були отримані саме із загиблих комах, в природних популяціях рівень зараження комах не такий вже і високий. Згідно з даними літератури, шанси знайти комах природним чином уражених нематодною інфекцією становить менше 3% (Orozco *et al.*, 2014), якщо тільки не буде широкомасштабної епідемії (епізоотія) (Akhurst *et al.*, 1992), або великої вибірки комах (Nielsen

& Philipsen, 2003). Разом з тим слід зауважити, що усі відомі знахідки ентомопатогенних нематод в Україні пов'язані лише з аналізом проб ґрунту відібраних у різних біоценозах (Яковлев, 2012; Яковлев 2017; Яковлев, Харченко, 2013; Сігарьова, Харченко, 2018; Сігарьова *та ін.*, 2021a). Ентомологічні обстеження мікроценозів комах, з подальшим встановленням причин загибелі та відбір загинув особин за типовими для ентомопатогенних нематод ознаками ураження до цього часу не проводилися, ця інформація й досі залишається «білою плямою» ентомонематології в Україні.

Цілеспрямовані нематологічні обстеження Яковлев (2012; 2017) природних екосистем заповідного фонду України (заповідники, національні природні парки, місцеві ландшафтні парки) засвідчили про незначну їх заселеність ентомопатогенними нематодами. Виявлено 13 ґрунтових проб (чи 3% від загальної кількості досліджених проб), які містили ЕПН тільки з родини *Steienernematidae*, роду *Steinernema* (2 види – *S. feltiae* та *S. arenarium*). Гетерорабдитиди ж не виявлено. Ентомопатогенні нематоди виділено із проб, відібраних в Закарпатській, Київській, Черкаській, Херсонській та Запорізькій областях, а також з АР Крим.

Водночас, варто згадати широкомасштабні порівняльні дослідження, проведені Сігарьовою *та ін.* (2010; 2012; 2021), щодо виявлення ентомопатогенних нематод в різних біоценозах (у т. ч. в агробіотопах) на території України. Матеріали, зібрані в різних областях (Київська, Вінницька, Хмельницька, Сумська, Запорізька, Миколаївська і Закарпатська) та в АР Крим, автори аналізували окремо. Так згідно обстежень авторів, загальний процент заражених ґрунтових проб ентомопатогенними нематодами, з-поміж 747 шт. відібраних, був на рівні 13,6%. Встановлено, що виявлені ізоляти ентомопатогенів належали до двох родів – *Steinernema* (2 види – *S. feltiae* та *S. carpocapsae*) та *Heterorhabditis* (один вид – *H. bacteriophora*).

За результатами обстежень агроценозів у вищезазначених областях України було проаналізовано 354 ґрунтові проби, з яких 80 шт. (22,6%)

містили ентомопатогенні нематоди. Більш зараженими виявилися польові ценози (рілля) – 27,9% ЕПН-позитивних проб, в той час як в садах цей показник становив 17,7%. Аналіз проб ґрунту, відібраних при обстеженні соснових розсадників, насаджень горіха волоського, персика та слив у садах, не виявив ентомопатогенних нематод. Одержані авторами результати досліджень дещо не узгоджуються з нашими даними (Ковтун, 2016a; Ковтун, 2016b; Sigareva *et al.*, 2019), які вказують на заселеність садів із вищезгаданими фруктовими насадженнями (горіх волоський, персик, слива) ентомопатогенними нематодами в умовах зони Полісся та Лісостепу.

При дослідженні ЕПН-фауни АР Крим авторами встановлено, що із 393 відібраних ґрунтових проб лише 22 шт. (5,6%) містили ентомопатогенні нематоди. Найбільший відсоток заселених проб відмічено в плодово-ягідних ценозах (сади і виноградники) – 8,2 та 5,4% відповідно; найменший – в лісово-паркових ценозах (декоративні культури, лучна та лісова рослинність) – 4,9%. У результаті проведених досліджень встановлено, що у ґрунтових пробах, які відібрані з-під насаджень шовковиці, садженців ялівцю, а також посівів соняшника, не відмічено ентомопатогенні нематоди. Ці дані суперечать нашим даним (Ковтун, 2016c; Ковтун, 2016d; Сігарьова *та ін.*, 2017; Sigareva *et al.*, 2019), можливо, причина цього полягає в тому, що обстеженнями Сігарьової *та ін.* було охоплено жаркі посушливі степові та гірські райони Криму, на відміну від наших нематологічних обстежень, які проводили в основному в умовах екологічних факторів зони Полісся та Лісостепу.

Аналізуючи загальну частоту заселення біоценозів ентомонематодами обох родів необхідно зазначити, що в лісостеповій, поліській зонах України та в Карпатах переважали представники роду *Steinernema* (97,5% всіх ЕПН-позитивних проб), які надавали перевагу агроценозам з польовими культурами. У Криму навпаки – автори частіше виявляли представників роду *Heterorhabditis* (86,4% всіх ЕПН-позитивних проб), яких в основному виділяли з біоценозів садів, виноградників та декоративних культур.

Отже, результати наших досліджень (Ковтун, 2016a; Ковтун, 2016b; Ковтун, 2016c; Ковтун, 2016d; Сігарьова *та ін.*, 2017; Sigareva *et al.*, 2019), в чомусь узгоджуються, а в чомусь розходяться із даними попередніх еколого-фауністичних робіт по ентомогельмінтофауні країни. Як видно з вище викладених даних, частота виявлення ентомопатогенних нематод у агроценозах значно вища (у 5 разів), у порівнянні з природними біоценозами. Щодо видового складу нематод, то він також більш різноманітний саме в агробіотопах, де виявлені представники обох родів (*Steinernema*, *Heterorhabditis*). При цьому, судячи з одержаних даних, деякі представники (зокрема *Heterorhabditis bacteriophora*) трапляються тільки в агроценозах країни певного типу, що засвідчує про стенотопність даного виду.

Однак, ці та інші твердження, все ще вимагають однозначного підтвердження, особливо це стосується агроєкосистем. Особливість цього питання полягає в тому, що саме у агроценозах, які представлені посівами і насадженнями культурних рослин з усім співтовариством організмів, що їх населяють, здійснюється вся повнота міжвидових і міжпопуляційних відносин, у т. ч. хижацтво, паразитизм і антагонізм, які безпосередньо лежать в основі біометоду захисту рослин.

1. Ковтун А.М. Ентомонематологічні обстеження агроценозів України – як джерело виявлення чинників потенційного біоконтролю комах-шкідників. *Захист і карантин рослин*. 2016a. Вип. 62. С. 133–142).
2. Ковтун А. М. Нові знахідки нематод – патогенів комах (*Steinernema* sp., *Heterorhabditis* sp.) в агроценозах Полісся та Північного Лісостепу України. *Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Вінниця, 2016b. С. 51-52.
3. Ковтун А. М. Поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* в агробіоценозах Полісся та Лісостепової

зони України. *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК*: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених (Житомир, 14 липня 2016 рік). Житомир, 2016с. С. 58-62.

4. Ковтун А. М. Частота виявлення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* — природних регуляторів чисельності шкідливих комах в агроценозах України. *Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин*: міжнародна науково-практична конференція (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Київ, 2016d. С. 44-46.
5. Сігарьова Д. Д., **Ковтун А. М.**, Болтовська О. В. Нематоди – патогени комах (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) як складова частина агроценозів України. *XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП)* (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Львів, 2017. С. 61.
6. Sigareva D.D., **Kovtun A.M.**, Korniyushin V.V. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae) from agricultural ecosystems in forest (Polissya) and forest-steppe natural zones of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2019. 53(4). P. 285-296.

3.3. Видовий склад ентомопатогенних нематод (RHABDITIDA: STEINERNEMATIDAE, HETERORHABDITIDAE) в агроценозах України

У результаті проведених досліджень встановлено, що 14,7% проб виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae et Heterorhabditidae). Ентомопатогенні нематоди виділено з Житомирської, Чернігівської та Київської областей (див. рис. 3.5). Варто зазначити, що нами уперше виділено ентомопатогенні нематоди з Житомирської та Чернігівської областей (Ковтун, 2023a). Проаналізовані

нами літературні дані дають підстави стверджувати, що обстеження агроценозів (Сігарьова *та ін.*, 2010; 2012; 2021), а також природних біоценозів (Yakovlev *et al.*, 2014; Яковлєв, 2017) у вищезгаданих областях – не виявили ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae).

У попередньому підрозділі 3.2, дана детальна оцінка щодо особливостей поширення ентомопатогенних нематод (на родовому рівні) у агроценозах досліджуваних регіонів України, їх зустрічальності в агроценозах різного типу, а також залежно від виду-еdifікатора агроценозу. У даному підрозділі ми наводимо вичерпний опис виявлених нами видів ЕПН (Steinernematidae, Heterorhabditidae) в агроценозах України. Зокрема, коротко подається інформація про особливості біології та наукове значення, загальний ареал і поширення видів в Україні, описуються умови існування видів, подана загальна морфологічна характеристика та морфометрія видів, а також стисло висвітлено господарське (комерційне) значення, інші аспекти практичного використання видів.

Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод із агроценозів різних зон та регіонів країни на основі дослідження основних морфолого-морфометричних параметрів (табл. 3.3-3.5) віднесено до трьох видів: два представники – *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (близький до представників групи «*glaseri*», відомих як «довготілесні нематоди») роду *Steinernema* родини Steinernematidae, та один вид – *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 роду *Heterorhabditis* родини Heterorhabditidae. Один із них був звичайним та поширеним (*S. carpocapsae*), інші – відносно звичайним та рідкісним (*Steinernema* ex gr. «*glaseri*», *H. bacteriophora*) (Ковтун, 2018b; Ковтун, 2021; Ковтун, 2023a).

Встановлено, що ентомопатогенні нематоди проявляють неабияку мінливість за багатьма проаналізованими морфометричними характеристиками та індексами (М (min-max), мкм), що ускладнювало процес ідентифікації окремих ізолятів, зокрема це стосується *Steinernema* ex gr.

«*glaseri*» (Ковтун, Бондар, 2021; Ковтун, 2023a). За аналізом морфолого-морфометричних параметрів інвазійних личинок (ІЛ), даний ізолят віднесено нами до т. зв. морфологічної групи «*glaseri*» (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003). Наразі існує 5 таких груп, які показують взаємозв'язок між певними близькими видами ЕПН роду *Steinernema*, і базуються, головним чином, на довжині тіла інвазійних личинок: група «*glaseri*» (ІЛ L=1000 мкм); група «*feltiae*» (ІЛ L=700-1000 мкм); група «*intermedium*» (ІЛ L= 600-700 мкм); група «*carpocapsae*» (ІЛ L=600 мкм). Існує ще одна невелика група «*bicornutum*», ІЛ якої відрізняються від решти тим, що мають дві характерні рогоподібні структури в області голови (Nguyen *et al.*, 2007).

Нижче наводимо відомості про місця існування знайдених нами видів, поширення їх в Україні та світі, морфометричні особливості виявлених ізолятів, а також ілюстрації і детальні описи окремих ізолятів ентомопатогенних нематод.

Тип NEMATODA Diesing, 1861

Клас CHROMADOREa Inglis, 1983

Підклас CHROMADORIA Pearse, 1942

Ряд RHABDITIDA Chitwood, 1933

Підряд RHABDITINA Chitwood, 1933

Інфраряд RHABDITOMORPHA De Ley & Blaxter, 2002

Надродина RHABDITOIDEA Orley, 1880

Родина STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934

= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953

Під *Steinernema* Travassos, 1927b

= *Steineria* Travassos, 1927 *nec* *Steineria* Micoletzky, 1922

= *Neoaplectana* Steiner, 1929

= *Patanodontus* de Villalobos & Camino, 1997

Вид *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982 (рис. 3.6-3.8)

- = *Neoaplectana carpocapsae* Weiser, 1955
- = *Neoaplectana feltiae* sensu Stanuszek, 1974 nec Filipjev, 1934
- = *Neoaplectana feltiae pieridarum* Stanuszek, 1974
- = *Neoaplectana pieridarum* Stanuszek, 1974
- = *Steinernema feltiae pieridarum* (Stanuszek, 1974b) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982
- = *Steinernema pieridarum* (Stanuszek, 1974b) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982
- = *Neoaplectana carpocapsae pieridarum* Stanuszek, 1974
- = *Neoaplectana dutkyi* Turco, Thames & Hopkins, 1971
- = *Steinernema dutkyi* (Turco, Thames & Hopkins, 1971) Wouts, Mracek, Gerdin & Bedding, 1982
- = *Steinernema anatoliense* Hazir, Stock & Keskin, 2003 n. syn.
- = *Steinernema websteri* Cutler & Stock, 2003 n. syn.
- = *Steinernema meghalayense* Ganguly, Rathour & Singh, 2011 n. syn

Особливості біології та наукове значення. Ендопаразит (ентомопатоген) комах та інших артропод (Arthropoda), виступає облігатним хайяїном для кишечних грам-негативних симбіотичних бактерій *Xenorhabdus nematophila* (γ-Proteobacteria: Enterobacteriaceae), утворюючи з ними мутуалістичний нематодно-бактеріальний комплекс. *Steinernema carpocapsae* є однією із найбільш вивчених нематод через її високу летальність для різних видів комах і ефективне комерційне використання як біологічного засобу боротьби з комахами-шкідниками (Tarasco Eustachio *et al.*, 2023; Tatyana Stefanovska *et al.*, 2023). *S. carpocapsae* та її бактеріальний симбіонт широко вивчаються як генетичні моделі для вивчення патогенезу та симбіозу. Вони також є чудовим об'єктом для вивчення паразитизму у ссавців (зокрема вивчення механізмів пошуку хазяїна за допомогою сенсорних сигналів), оскільки вони тісно пов'язані з нематодами Strongyloididae (Serra *et al.*, 2019).

Ареал виду та його поширення в Україні. Вид зареєстрований на всіх континентах, у багатьох країнах Північної та Південної Америки, Австралії, Африки, Європи та Азії, окрім Антарктиди (Bhat *et al.*, 2020; Tatyana Stefanovska *et al.*, 2023). В Україні виявлений в зонах Полісся та Лісостепу. Адм. регіони: Київська, Вінницька, Житомирська та Чернігівська області (Сігарьова *та ін.*, 2010; 2012; 2021; Sigareva *et al.*, 2019; Ковтун, 2023a).

(Примітка. Ми наводимо нові місцезнаходження даного виду для території України. *Steinernema carpocapsae* уперше виявлена в Чернігівській та Житомирській області).

Умови існування. Звичайний та відносно поширений вид у фауні України, нами виділений із ґрунту сільськогосподарських угідь, представленими плодовими насадженнями – кісточкові, зерняткові, ягідні та горіхоплідні культури (*Malus domestica*, *Pyrus communis*, *Prunus domestica*, *Prunus cerasus*, *Prunus armeniaca*, *Prunus avium*, *Prunus persica*, *Juglans regia*, *Morus nigra*, *Hippophae rhamnoides*, *Viburnum opulus*), а також польовими культурами – гречки, соняшника, вівса, квасолі, гарбузів та люцерни. Інші дослідження, проведені в Україні (Сігарьова *та ін.*, 2010; 2021), виявили даний вид також здебільшого в агроценозах, зокрема в садах (насадження абрикоса, груші та смородини), польових культурах (посіви буряка цукрового) та природних біоценозах (грабові ділянки лісу).

Загальна морфологічна характеристика. Морфологічні характеристики нематод виявлених ізолятів *Steinernema carpocapsae* знаходяться у межах раніше описаних для даного виду. Проведені морфометричні дослідження (табл. 3.3) показали, що інвазійні личинки, виділені нами з різних зон (Полісся, Лісостеп) та регіонів країни (Житомирська, Чернігівська та Київська області), не мали істотних відмінностей. Довжина личинок виявлених ізолятів у середньому коливалася від 522 мкм до 530 мкм, що узгоджується з іншими дослідженнями (Shishiniova *et al.*, 1998; Сігарьова *та ін.*, 2021a). Самці 1-ї генерації (♂¹)

виявлених ізолятів також не відрізнялись від описів інших вчених. Варто також відзначити, що форма хвоста варіювали всередині популяцій, але їх розміри суттєво не відрізнялись. Отже, такий фактор, як географічна віддаленість (різні природні зони країни), відіграє незначну роль у морфології *S. carpocapsae*. До того ж, серед ♂1 усіх досліджуваних нами ізолятів не було виявлено мукрону (MUC) на кінці хвоста. Як відомо з даних літери (Mracek *et al.*, 2018), мукрон у самців *Steinernema* spp. може бути відсутнім або присутнім у першому, або в другому поколінні, або ж відсутнім в обох поколіннях, з різною варіабельною формою. Як правило, види з помітним ниткоподібним мукроном належать до груп «*kraussei/feltiae*» і «*carpocapsae*», тоді як переважно «немукронні» види зустрічаються в групах «*glaseri*» і «*riobrave*» (Mracek *et al.*, 2018). Морфометричні дані інвазійних личинок третього віку (L3) та самців першого покоління (♂1) наведені в таблиці 3.3.

Окремо варто відзначити, що аналізуючи і порівнюючи наші дані із даними Сігарьова *та ін.*, 2021а було виявлено помилку щодо значень індексів «с'» (у L3) та «%E» (у ♂1), коректність яких піддається сумніву у роботі авторів. Так, у співвідношенні «с'» (TL/ABW) автори не навели значення «ABW» у своїх дослідженнях, без якого неможливо розрахувати даний індекс, а значення індексу «E%» є аж надто завеликим (табл. 3.3). Адже, як зазначають Zdenek Mracek *et al.* (2014), співвідношення «с'» – це часто ігнорована і мало використовувана ознака, яка може досить точно розрізняти види навіть у межах однієї морфологічної групи. Наприклад, для видів групи "*carpocapsae*" воно варіює від 3,1 до 4,6 (за Phan *et al.*, 2014; по: Zdenek Mracek *et al.*, 2014). У наших вимірюваннях і розрахунках довжина хвоста (TL) варіювала від 46 до 55,5 мкм, а при діленні на діаметр тіла на рівні анусу (ABW) середнє значення співвідношення «с'» наших трьох ізолятів варіювало від 1,6 (1,5-2,3) у ізоляті Мор-1 із Чернігівської області до 2,0 (1,5-2,7) у ізоляті Овр-1 із Житомирської області. За даними Nguyen *et al.* (2007) (по: Zdenek Mracek *et al.*, 2014), співвідношення «%E» становить 60

(54-66). На противагу цьому, наші результати варіювали від 65 (60-72) у ізоляті DD-5 із Київської області до 70 (64-78) у ізоляті Ovr-1 із Житомирської області (табл. 3.3).

Самиці I-генерації (♀1) (n=10). Тіло набуває форми спіралі при гарячій фіксації. Головна область подібна як у самців. Вульва у вигляді поперечної щілини. Хвіст короткий, конічний (рис. 3.6).

Самці I-генерації (♂1) (n=10). Тіло С-подібне у розслабленому стані. Кутикула гладка. Стома неглибока. Глотка з циліндричним прокорпусом, злегка розширеним метакорпусом, за яким слідує істмус і базальний бульбус із клапаном. Нервове кільце оточує істмус. Екскреторна пора розташовується спереду від нервового кільця. Спікули парні, симетричні, злегка зігнуті. Довжина губернакулума приблизно 65% від спікули, у формі човна. Хвіст короткий та конусоподібний, мукро на кінці не проглядається, бурса відсутня (рис. 3.7).

Інвазійні личинки третього віку (L3) (n=10). Тіло тонке, вкрите оболонкою. Глотка довга і вузька, часто дегенерована. Нервове кільце локалізовано на 60% довжини глотки. Хвіст подовжений і конічний (рис. 3.8).

Господарське та комерційне значення *S. carpocapsae*. Має сільськогосподарське значення, є основою для створення біологічних препаратів (біопестицидів) інсектицидної дії для захисту рослин сільськогосподарського та інших призначень, багаторічних і лісових насаджень, рослинності закритого ґрунту тощо. Серед лідерів компаній-виробників біопестицидів на основі *S. carpocapsae* у Європі та США є: Enema GmbH, BASF, Helix (Німеччина); Andermatt Biocontrol, Boden Nützlinge (Швейцарія); Koppert (Нідерланди); Asa Jung Laboratory, BioLogic, HydroGardens, M&R Durango, ORTHO Biosafe, Biovector, Exhibit, XGNAT, Sanoplant, Proactant (США) (Martinez, Heriberto *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2023). Інші антибіотичні властивості *S. carpocapsae* (нематичидні, фунгіцидні та бактерицидні зокрема) вивчені недостатньо.

Таблиця 3.3

Порівняльна морфометрична характеристика популяцій *Steinernema carpocapsae* (інвазійних личинок (L3) та самців (♂1) першого покоління) із різних зон та регіонів України та за літературними даними*

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Болгарія S. c. ¹	Україна S. c. ²
	Жт (S. c. ізолят Ovr-1)	Чн (S. c. ізолят Mor-1)	Кв (S. c. ізолят DD-5)		
Інвазійні личинки (L3)					
n	10	10	10	25	10
L	530 (516-548)	522 (445-550)	527 (513-552)	613,6 (568-643)	505,5 (408,9-618,3)
a	24,5 (22,3-28,1)	22 (20,5-27)	24 (21-26)	24,57 (22,39-28,13)	19,5 (13,6-27,6)
b	5 (4,6-4,3)	4,5 (4-5,5)	5,3 (4-5,8)	4,61 (4,35-5)	4,3 (2,2-6,5)
c	10,5 (9,9-11,7)	8,5 (7-11,3)	9 (8,5-11)	10,54 (9,95-11,71)	9,9 (6,5-16,2)
c'	2,0 (1,5-2,7)	1,6 (1,5-2,3)	1,8 (1,69-2,4)	—	3,8 [#] (2,3-5,6)
W	24 (21-27)	22 (19-26)	23,5 (21,3-26,4)	25,01 (23-26)	26,5 (18,8-39,9)
EP	36,2 (32,4-39)	31,6 (30-37,4)	33 (30-36)	41,4 (37-46)	34,9 (20,2-60,8)

Продовження таблиці 3.3

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Болгарія S. с. ¹	Україна S. с. ²
	ЖТ (S. с. ізолят Ovr-1)	ЧН (S. с. ізолят Mor-1)	Кв (S. с. ізолят DD-5)		
Інвазійні личинки (L3)					
n	10	10	10	25	10
NR	84,5 (77-92)	82,0 (72,5-82,5)	79 (75-88)	84,39 (77-92)	87,4 (60,3-125,6)
ES	105 (102-108)	100 (96-110)	107 (102-113)	133,1 (123-143)	120,8 (83,1- 190,5)
TL	50,5 (47,5-55)	46 (44-51)	48,5 (46-59)	58,3 (48-63)	52,1 (31,5-73,8)
ABW	25 (17-36)	28 (19-34)	28,6 (19-32)	13,57 (12-14)	—#
D%	35 (34-38)	31 (30-37)	30 (26-32)	31,11 (29,17-32,95)	33,3 (16,5-65,1)
E%	70 (64-78)	69 (60-77)	65 (60-72)	71,09 (65,85-76,47)	77,1 (40,3-138,5)
Самці І-генерації (♂1)					
n	10	10	10	20	10
L	1282 (1074-1378)	1510 (1110-1766)	1293 (1124-1424)	1387,53 (1145-1776)	1430,6 (1060,2-2003,2)
W	170 (140-182)	135 (78-168)	113 (96-126)	104,49 (77-134)	6,0 (61,4-138,2)

Продовження таблиці 3.3

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Болгарія S. c. ¹	Україна S. c. ²
	ЖТ (S. c. ізолят Ovr-1)	Чн (S. c. ізолят Mor-1)	Кв (S. c. ізолят DD- 5)		
Самці І-генерації (♂1)					
n	10	10	10	20	10
TL	21,5 (15-27)	25 (18-30)	19 (16-20,4)	30,69 (25,5-37)	20,8 (12,3-37,5)
ABW	59 (44-73)	52 (44-73)	62 (44-73)	41,47 (34,5-48,5)	—
SL	67 (66-68)	67,9 (66-72)	61,3 (57,6-63)	61,24 (54-68,5)	68,5 (53,2-81,5)
GL	42 (39-44)	45 (42-54)	42 (38-45)	48,68 (45,5-54,5)	39,8 (24,0-50,0)
EP	66 (64-84)	69 (60-73)	60 (55-65)	58,31 (48,5-68,5)	51,0 (35,5-72,0)
NR	118 (107-130,5)	121,5 (109-130)	110 (101,5-116,6)	116,63 (105,5-128,5)	—
ES	165 (140-196)	168 (138-189)	141 (125-148)	163,02 (145,5-180)	145,0 (76,0- 292,3)
D%	45 (40-50)	41 (32-49)	39 (37-41)	35,85 (28,81-42,86)	33,4 (18,2-49,9)
E%	73,5 (64,3-77,3)	64,8 (56,7-70,3)	75,4 (67,1-80,8)	—	267,3# (118,9- 480,0) #

Продовження таблиці 3.3

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Болгарія S. c. ¹	Україна S. c. ²
	ЖТ (S. c. ізолят Ovr-1)	Чн (S. c. ізолят Mor-1)	Кв (S. c. ізолят DD-5)		
Самці І-генерації (♂1)					
n	10	10	10	20	10
GS%	60 (57-71)	67 (60-75)	71 (63-84)	79,64 (70,83-90,48)	60 (40-70)
SW%	122 (110-136)	130 (114-140)	98 (91-113)	148 (129-167)	140 (70-220)
MUC	—	—	—	+ (короткий)	—

Примітки: * – вимірювання наведено в мкм і представлено у формі: М (min-max); ** – оригінальні дані; # – значення некоректне, або викликає сумніви; ¹ – за Shishiniova *et al.*, 1998; ² – за Сігарьова *та ін.*, 2021а.

Умовні позначення: тире (—) – відомості відсутні; S. c. – *Steinernema carpocapsae*; ЖТ – Житомирська область; ЧН – Чернігівська область; Кв – Київська область.

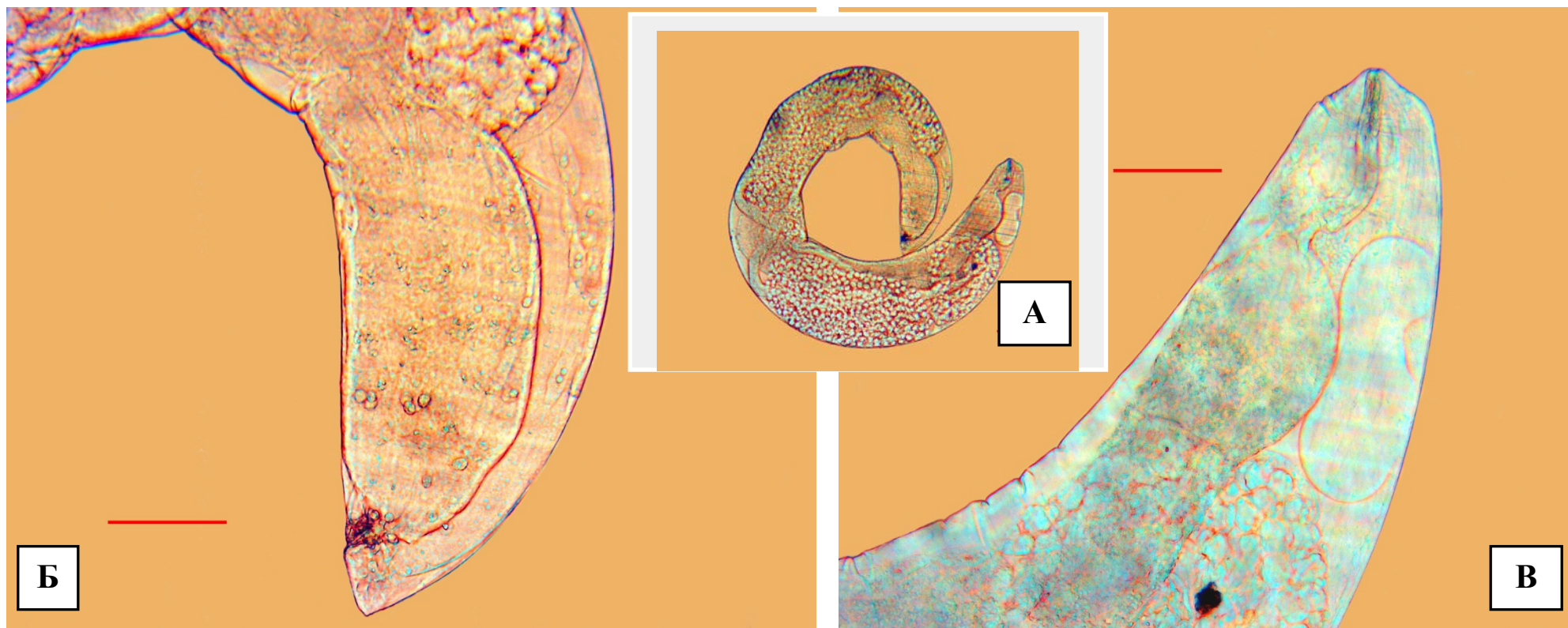


Рис. 3.6. *Steinernema carpocapsae* (ізолят DD-5), ♀ I-ї генерації: А – загальний вигляд; Б – каудальний (хвостовий) кінець тіла; В – передній кінець тіла (світлова мікроскопія; масштабні шкали: (Б, В) = 300 μm). Оригінал.

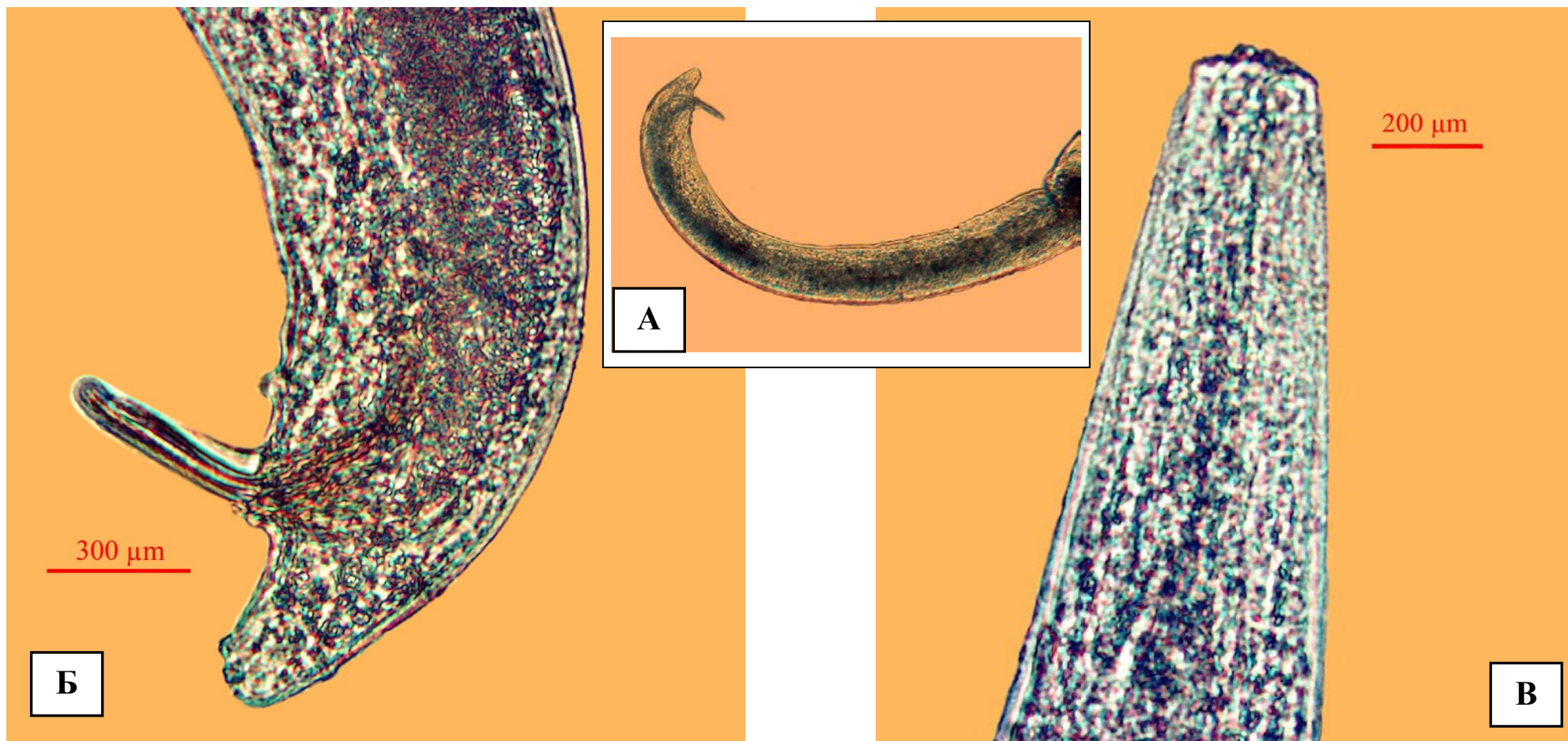


Рис. 3.7. *Steinernema carpocapsae* (ізолят DD-5), ♂ I-ї генерації: А – загальний вигляд (середня та задня частини тіла); Б – каудальний (хвостовий) кінець тіла; В – передній кінець тіла (світлова мікроскопія; масштабні шкали: =як на рисунках). Оригінал.

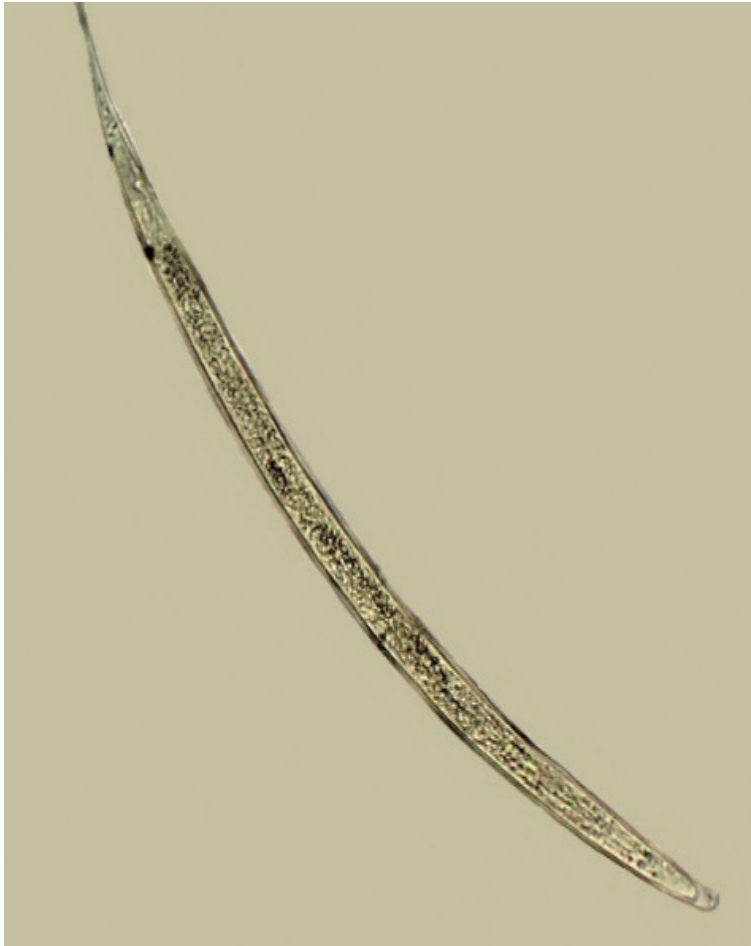


Рис. 3.8. Загальний вигляд інвазійної личини (L3) *Steinernema carpocapsae* (ізолят DD-5) (світлова мікроскопія). Оригінал.

Групи тварин, що вражаються *S. carpocapsae*. Має широкий спектр хазяїв, ними уражуються близько 200 видів комах на різних стадіях розвитку з різних рядів та родин, серед яких в переважній більшості: BLATTODEA: Blattellidae; COLEOPTERA: Cerambycidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Scolytidae, Tenebrionidae; DIPTERA: Agromyzidae, Anthomyiidae, Phoridae, Tephritidae, Tipulidae; HETEROPTERA: Coreidae; LEPIDOPTERA: Carposinidae, Cossidae, Noctuidae, Olethreutidae, Pterophoridae, Pyralidae, Psychidae, Sesiidae; ORTHOPTERA: Acrididae; SIPHONAPTERA: Pulicidae; THYSANOPTERA: Thripidae та багато інших. Також володіє іншими антибіотичними властивостями, зокрема щодо фітопаразитичних нематод NEMATODA (Parwinder S. Grewal *et al.*, 2001; Sikandar *et al.*, 2021) та можливою ортологією його токсинів для нематод-паразитів ссавців (Serra *et al.*, 2019).

Родина STEINERNEMATIDAE Filipjev, 1934

= NEOAPLECTANIDAE Sobolev, 1953

Під *Steinernema* Travassos, 1927b

= *Steineria* Travassos, 1927 *nec* *Steineria* Micoletzky, 1922

= *Neoaplectana* Steiner, 1929

= *Patanodontus* de Villalobos & Camino, 1997

Вид *Steinernema* ex gr. «glaseri» (*glaseri*-подібні види *Steinernema*, відомі як «довготілесні нематоди» *S. glaseri* (Steiner, 1929) n.comb. (Wouts *et al.*, 1982); *S. arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982 [(= *Neoaplectana arenaria* Artyukhovsky, 1967), (= *N. anomali* Kozodoi, 1984), (= *S. anomalae* (Kozodoi, 1984) Curran, 1989)] (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003) (рис. 3.9))

Особливості біології та наукове значення. Ендопаразити (ентомопатогени) комах та інших членистоногих (Arthropoda), виступають облігатними хазяїнами для кишечних грам-негативних симбіотичних бактерій з роду *Xenorhabdus* (γ -Proteobacteria: Enterobacteriaceae), утворюючи з ними мутуалістичний нематодно-бактеріальний комплекс. Десять з 31 описаних і визнаних на сьогодні видів *Steinernema* належать до групи *S. «glaseri»*, відомих як «довготілесні нематоди» (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003).

Ареал виду та його поширення в Україні. Представники групи *Steinernema «glaseri»* відомі у ряді європейських країн: Росії, Польщі, Словацької Республіки, Чехії, Швейцарії, південної Італії, південної Франції, Іспанії та Азорських островів (Португалія); країнах Південного та Східного Середземномор'я, зокрема Марокко та Палестині. У Німеччині та інших країнах Західної та Північної Європи нематоди групи «*glaseri*», схоже, відсутні (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003; Triggiani, Tarasco, 2003).

В Україні виявлений єдиний ідентифікований вид групи «*glaseri*» – *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982 [(=

Neoaplectana arenaria Artyukhovsky, 1967), (= *N. anomali* Kozodoi, 1984), (= *S. anomalae* (Kozodoi, 1984) Curran, 1989)], виділений з об'єктів природнозаповідного фонду України, зокрема на території Чорнобильської зони відчуження ЧАЕС в зоні періодичного радіологічного контролю, а також на території Чорноморського Біосферного заповіднику (Yakovlev *et al.*, 2017; Яковлєв, 2017). *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» нами виявлений в зоні Полісся (адм. регіон: Чернігівська обл.) (Ковтун, 2023а).

(Примітка. Ми наводимо нове місцезнаходження даного «виду» для території України. *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» уперше виявлений в Чернігівській області).

Умови існування. Представники групи *Steinernema* «*glaseri*» зареєстровані з широкого спектру біотопів, але переважно були ізольовані з піщаних ґрунтів у країнах Європи, Середземномор'я (Sturhan Dieter, Mracek Zdenek, 2003; Triggiani, Tarasco, 2003). *Steinernema arenarium* – рідкісний вид у фауні України, виявлений у піщаному та дерново підзолистому ґрунті природних біоценозів з такими домінантами рослинного покриву: *Festuceta beckeri*, *Artemisieta marschalliana*, *Phragmites australis*, *Bolboschaenus maritinus*, *Puccinella gigantea* Grossh; *Quercus robur*, *Pinus sylvestris* (Yakovlev *et al.*, 2017; Яковлєв, 2017). *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» нами виділений з посівів *Fagopyrum sagittatum*, також на піщаних ґрунтах.

Загальна морфологічна характеристика. Як уже було зазначено вище, за аналізом морфолого-морфометричних параметрів саме інвазійних личинок (L3), виявлений нами ізолят Мог-5 із Чернігівської області віднесено до групи «довготілесних нематод» *Steinernema* «*glaseri*-group» (рис. 3.9; табл. 3.4). Довжина ІЛ перевищувала 1000 мкм, розташування екскреторної пори спостерігалось в задній частині тіла та відмічалось низьке значення індексу «с'» серед досліджених екземплярів, що відрізняє його від решти видів інших морфологічних груп *Steinernema* («*feltiae*», «*intermedium*», «*carpocapsae*» та «*bicornutum*»).

З огляду на те, що у фауні України виявлений єдиний ідентифікований представник з групи «*glaseri*» – *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts та ін., 1982 (Yakovlev *et al.*, 2017), з високим ступенем імовірності можна припустити, що виявлений нами ізолят належить саме до групи «довготілесних нематод» *Steinernema* «*glaseri*-group». Уточнення того, чи виявлений нами ізолят *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» є конспецифічним із *S. arenarium*, виявленим Yakovlev *et al.* (2017), чи навіть новим видом, потребує більш детального дослідження із застосуванням генетично-молекулярних методів, а також проведення експериментів по схрещуванню (кросбридингу).

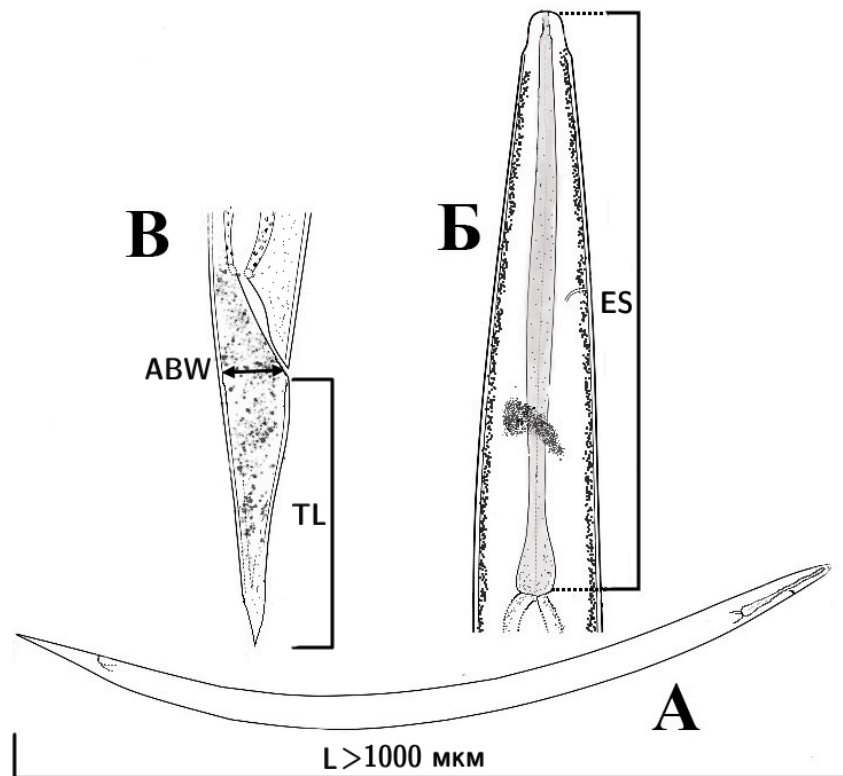


Рис. 3.9. Загальний вигляд інвазійної личини (L3) *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (ізолят Mor5): А – загальний вигляд; Б – передній (апикальний) кінець тіла: ES – довжина стравоходу; В – каудальний (хвостовий) кінець тіла: ABW – ширина тіла на рівні анусу; TL – довжина хвоста. Оригінал.

Таблиця 3.4

Порівняльна морфометрична характеристика інвазійних личинок (L3) деяких видів *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (*Steinernema glaseri*, *Steinernema arenarium*) та *S.* «*glaseri*»-подібних популяцій виявлених в Україні та за літературними даними*

Параметри	Оригінальні дані	За літературними даними				
	Чн <i>S.</i> « <i>glaseri</i> » (ізолят Mor5)	Італія <i>S.</i> « <i>glaseri</i> » ¹	Марокко <i>S.</i> « <i>glaseri</i> » ¹	Росія <i>S. arenarium</i> ²	Україна <i>S. arenarium</i> ³	США <i>S. glaseri</i> ⁴
Інвазійні личинки (L3)						
n	10	10	10	50	20	25
L	1150 (920-1420)	1000 (900-1150)	1036 (900-1100)	1217 (930-1580)	1010 (894-1099)	1130 (864-1448)
a	28 (22-36,5)	28 (22-32)	31 (26-35)	33,3 (24,7-39,6)	30 (23-35)	29 (26-35)
b	7,1 (6,5-7,7)	7,0 (6,3-7,4)	7,1 (6,3-7,6)	7,8 (5,9-9,2)	7 (6-10)	7,3 (6,3-7,8)
c	13,8 (12,4-15,2)	15,0 (14-16)	14,5 (13,6-16,3)	15,1 (12,2-17,9)	15 (13-17)	14,7 (13,6-15,7)
c'	2,9 (2,3-2,6)	—	—	—	—	—
W	38 (31,3-44,1)	—	—	—	34 (28-40)	—
EP	—	—	—	—	—	—
NR	—	—	—	—	106 (83-123)	—

Продовження таблиці 3.4

Параметри	Оригінальні дані	За літературними даними				
	ЧН <i>S. g.</i> (ізолят Mor5)	Італія <i>S. «glaseri»</i> ¹	Марокко <i>S. «glaseri»</i> ¹	Росія <i>S. arenarium</i> ²	Україна <i>S. arenarium</i> ³	США <i>S. glaseri</i> ⁴
Інвазійні личинки (L3)						
n	10	10	10	50	20	25
ES	—	—	—	—	138 (110-173)	—
TL	74 (59-91,3)	66 (56-77)	72 (64-78)	81 (65-95)	69 (63-75)	78 (62-87)
ABW	25 (22,5-38,2)	—	—	—	23 (19-28)	—
D%	—	61 (56-66)	58 (55-64)	63 (53-68)	62 (49-75)	65 (58-71)
E%	—	—	—	—	123 (113-140)	—
HT	25 (22-32)	27 (23-31)	46 (40-50)	—	27 (20-35)	—
H%	33,7 (28-47)	41 (39-42)	46 (40-50)	41 (23-57)	39 (31-48)	—

Примітки: * – вимірювання наведено в мкм і представлено у формі: M (min-max); ¹ – за Sturhan Dieter, Mráček Zdenek, 2003; ² – за Artyukhovsky *et al.*, 1997 (по Sturhan Dieter, Mráček Zdenek, 2003); ³ – за Yakovlev *et al.*, 2017; ⁴ – за Poinar, 1990 (по Sturhan Dieter, Mráček Zdenek, 2003).

Умовні позначення: тире (—) – відомості відсутні; *S. g.* – *Steinernema glaseri*; ЧН – Чернігівська область.

Тип NEMATODA Diesing, 1861

Клас CHROMADOREA Inglis, 1983

Підклас CHROMADORIA Pearse, 1942

Ряд RHABDITIDA Chitwood, 1933

Підряд RHABDITINA Chitwood, 1933

Інфраряд RHABDITOMORPHA De Ley & Blaxter, 2002

Надродина STRONGYLOIDOIDEA Baird, 1853

Родина HETERORHABDITIDAE Poinar, 1976

Рід *Heterorhabditis* Poinar, 1976

= *Chromonema* Khan, Brooks & Hirschmann, 1976

Вид *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 (рис. 3.10-3.13)

= *Chromonema heliothidis* Khan, Brooks & Hirschmann, 1976

= *Heterorhabditis heliothidis* (Khan, Brooks & Hirschmann, 1976)

Poinar, Thomas & Hess, 1977

= *Heterorhabditis argentinensis* Stock, 1993

Особливості біології та наукове значення. Ендопаразит (ентомопатоген) комах та інших членистоногих (Arthropoda), виступає облігатним хаїяїном для кишечних грам-негативних симбіотичних бактерій *Photorhabdus luminescens* (γ -Proteobacteria: Enterobacteriaceae), утворюючи з ними мутуалістичний нематодно-бактеріальний комплекс. *H. bacteriophora* також має значення як модель для вивчення процесів, не вивчених у *Caenorhabditis elegans*, зокрема паразитизм, симбіоз і гетерогенне визначення статі (Cicche, 2007).

Ареал виду та його поширення в Україні. Вид зареєстрований у багатьох країнах Північної та Південної Америки, Австралії, Африки, Європи та Азії, окрім Антарктиди (Bhat *et al.*, 2020). В Україні виявлений в зонах Полісся, Лісостепу та Степу. Адм. регіони: Київська, Миколаївська, Житомирська та Чернігівська області (Сігарьова *та ін.*, 2010; 2012; 2021;

Sigareva *et al.*, 2019; Ковтун, 2023a). Єдиний представник роду у фауні України.

(Примітка. Виявлені в Чернігівській та Житомирській області локалітети є новими місцезнаходженнями даного виду на території України. *Heterorhabditis bacteriophora* уперше виявлено в даних областях).

Умови існування. Відносно звичайний або рідкісний вид в Україні, нами виділений із сільськогосподарських угідь, представленими плодовими насадженнями – кісточкові, зерняткові, ягідні та горіхоплідні культури (*Malus domestica*, *Pyrus communis*, *Prunus domestica*, *Prunus cerasus*, *Prunus armeniac*, *Prunus avium*, *Prunus persica* *Juglans regia*, *Morus nigra*, *Hippophae rhamnoides*), а також декоративними насадженнями вічнозелених рослин – *Juniperus communis*, *Thuja occidentalis*. Інші дослідження, проведені в Україні (Сігарьова *та ін.*, 2010; 2021), виявили даний вид виключно в агроценозах, зокрема в садах (насадження яблуні), а в природніх біоценозах вид поки не виявлено.

Загальна морфологічна характеристика. Загалом, морфологічні характеристики нематод виявлених нами популяцій *H. bacteriophora* знаходяться у межах раніше описаних для даного виду (Stock, Harry Kaya, 1996; Сігарьова *та ін.*, 2021a), зокрема і першоопису (Poinar, 1976). У виявленої нами популяції з Київської області дещо більші розміри довжини хвоста у самців, у порівнянні із ізолятами *H. bacteriophora* з інших регіонів. Також виявлено наявність у них покресленості кутикули з 4-5 повздовжніми лініями (валиками), які виразніше проявляються ближче до хвостового відділу. Морфометричні параметри наведені в таблиці 3.5.

Знову ж таки, як і у наведеному вище випадку зі *S. carpocapsae*, коректність співвідношення «с'» (у L3) *H. bacteriophora* піддається сумніву у Сігарьова *та ін.*, 2021a. Так, у індексі «с'» (TL/ABW) автори вчергове не навели значення «ABW» у своєму дослідженні (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Порівняльна морфометрична характеристика популяцій *Heterorhabditis bacteriophora* (інвазійних личинок (L3) та самців (♂2) другого покоління) із різних зон та регіонів України та за літературними даними*

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Австралія <i>Н. b.</i> ¹	Україна <i>Н. b.</i> ²
	ЖТ (<i>Н. b.</i> ізолят Оvr-2)	Чн (<i>Н. b.</i> ізолят Ost-4)	Кв (<i>Н. b.</i> ізолят DD-14)		
Інвазійні личинки (L3)					
n	10	10	10	15	10
L	550 (506-610)	512 (504-520)	600 (520-660)	588 (512–671)	627,4 (560,5-757,0)
a	23 (21–25)	20 (19–24)	23 (19,5-26)	25 (17–30)	23,5 (19,4-28,7)
b	4,9 (4,6–5,5)	4,5 (4,1–5,8)	5,1 (4,0-5,9)	4,5 (4,0–5,1)	5,5 (4,3-6,7)
c	6,3 (5,9–6,8)	6,0 (5,5-6,7)	6,6 (5,4-8,2)	6,2 (5,5–7,0)	7,5 (5,6-11)
c'	5,9 (5,3–6,6)	6,6 (4,9-6,5)	6,2 (4,0-7,0)	—	5,7 [#] (3,6-8,1) [#]
W	21,4 (19-24)	20,3 (19-22)	23 (21-25)	23 (18–31)	27,0 21,9-34,9
EP	100 (82-106)	89 (86,4-90)	105 (89-108)	103 (87–110)	104,2 84,2-150,0

Продовження таблиці 3.5

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Австралія Н. в. ¹	Україна Н. в. ²
	ЖТ (Н. в. ізолят Ovr-2)	Чн (Н. в. ізолят Ost-4)	Кв (Н. в. ізолят DD-14)		
Інвазійні личинки (L3)					
n	10	10	10	15	10
NR	78 (68–88)	82 (68-88)	80 (70-90)	85 (72–93)	79,2 (50,8-113,6)
ES	117 (110-120)	109 (106-112)	116 (108-120)	125 (100–139)	114,9 95,2-151,1
TL	85 (80-90)	90 (80-95)	94,4 (78-114)	98 (83–112)	83,8 50,8-113,6
ABW	16 (14-19)	14 (13-17)	14 (13-16)	—	—#
D%	84 (82-89)	81 (79-85)	93 (70-100)	84 (76–92)	91,4 82,7-111,1
E%	110 (100-120)	100 (90-110)	108 (100-117)	112 (103–130)	116,4 74,1-129,3
Самці 2-ї генерації (♂2)					
n	10	10	10	15	10
L	968 (890-1026)	850 (770-940)	925 (895-1018)	820 (780–960)	819,4 (718,4-952,3)
W	44,7 (42-48)	47,5 (45-48)	57,5 (39,5-62)	43 (—)	50,3 (39,9-89,6)

Продовження таблиці 3.5

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Австралія Н. в. ¹	Україна Н. в. ²
	ЖТ (Н. в. ізолят Ovr-2)	Чн (Н. в. ізолят Ost-4)	Кв (Н. в. ізолят DD-14)		
Самці 2-ї генерації (♂2)					
n	10	10	10	15	10
TL	22 (18-24)	27 (24-31)	35,5 (31-42,3)	28 (—)	17,8 (12,8-25,2)
ABW	23,2 (18,3-26,7)	21 (13-25,5)	23,1 (19-25,4)	23 (—)	—
SL	38,3 (37-43)	42,6 (37-48)	41,2 (33,8-46,5)	40 (36–44)	36,9 (26,1-43,5)
GL	22,7 (19-24)	24,3 (23-26)	21,5 (18,3-23,9)	20 (—)	19,6 (17,3-22,9)
EP	134 (107-162)	136,4 (115,5-169,0)	97,6 (84,5-119,7)	121 (114–130)	110 (95-117)
NR	70 (62-78)	65 (57-88)	68 (53-93)	72 (65-81)	—
ES	100 (89-102)	103 (98-107)	115,3 (101,4-139,4)	103 (99-105)	92,0 (68,4-104,9)
D%	118,4 (104,8-150,7)	86,8 (77,9-107,6)	92 (77,9-107,6)	117 (—)	119,6 (111,2-123,9)
E%	448 (334-611)	489 (402-585)	470 (394-570)	—	—

Продовження таблиці 3.5

Параметри	Зони і області**			За літературними даними	
	Полісся		Лісостеп	Австралія <i>Н. b.</i> ¹	Україна <i>Н. b.</i> ²
	ЖТ (<i>Н. b.</i> ізолят Ovr-2)	Чн (<i>Н. b.</i> ізолят Ost-4)	Кв (<i>Н. b.</i> ізолят DD-14)		
Самці 2-ї генерації (♂2)					
п	10	10	10	15	10
GS%	52,2 (43,7-57,7)	48,0 (43-61)	49,8 (42,3-65)	50 (—)	50 (50-70)
SW%	179,8 (150,2-220,4)	180,6 (117,6-230,8)	180,6 (117,6-230,8)	174 (—)	140 (100-190)
MUC	—	—	—	—	—

Примітки: * – вимірювання наведено в мкм і представлено у формі: М (min-max); ** – оригінальні дані; # – значення некоректне, або викликає сумніви; ¹ – за Poinar, 1976; ² – за Сігарьова *та ін.*, 2021а.

Умовні позначення: тире (—) – відомості відсутні; *H. b.* – *Heterorhabditis bacteriophora*; Жт – Житомирська область; Чн – Чернігівська область; Кв – Київська область.

Самиці I-ї генерації (гермафродитні) (n=10) помітно більші за самок другої генерації (рис. 3.10). Голова чітко округла, слабо відокремлена від тіла. Ротова порожнина оточена губами, що несуть конічні губні папіли (сосочки). Ясно видно циліндричний стравохід, з виразним термінальним бульбусом. Нервове кільце оточує істмус відразу попереду бульбусу. Видільна пора локалізується на рівні основи стравоходу або позаду нього на відстані 9-14 мкм. Яєчники парні, дзеркальні, вульва розташовується ближче до середини тіла. Хвіст короткий, різкого звуження не простежується, на кінці утворює пальцеподібний виступ, термінус до деякої міри відокремлений. Анус спереду ясно прикритий кутикулою (рис. 3.10).

Самиці II-ї генерації (♀2) (n=10) схожі на самок першої генерації. Голова овальна, злегка відокремлена від тіла, її висота складає 7,2 (7,0-8,2) мкм, ширина 21,5 (20,8-22,4) мкм. Видільна пора розташована позаду основи стравоходу. Хвіст конічний, на відміну від самиць I-ї генерації простежується звуження в середній частині, термінус більш загострений (рис. 3.11).

Самці II-ї генерації (♂2) (n=10). Довжина тіла варіює від 850 до 968 мкм, ширина – 43,0-54,5 мкм. Поверхня кутикули виразно покреслена 4-5 повздовжніми лініями (валиками), які виразніше проявляються ближче до хвостового відділу. Голова зовсім не відокремлена від тіла, ротова порожнина дуже маленька. Відстань від голови до основи стравоходу складає 102,6 (97,5-110) мкм, видільна пора не проглядається. Сім'яник один, дзеркальний, спікули парні, симетричні, довжиною від 38,3 до 41,2 мкм, прямі, на дистальному кінці загострені. Головка спікул варіює по формі. Губернакулум паличкоподібний, довжиною від 21,5 до 24,3 мкм. Хвіст конічний, 22-35,5 мкм, з вузьким вентрально вигнутим термінусом. Бурса відкрита, чітко огортає хвіст, присутні 9 пар папіл – одна пара розташована на рівні проксимального (ближнього) кінця спікул, дві пари – ближче до клоаки, і 6 пар – постанально (рис. 3.12).

Інвазійні личинки третього віку (L3) (n=10). Тіло вкрите додатковою кутикулярною оболонкою, видільна пора відкривається спереду на межі

стравоходу з кишківником, майже на рівні нервового кільця. Хвіст вузькоконічний, у 5 разів більше ширини в області ануса. Термінус хвоста дуже загострений (рис. 3.13).

Господарське та комерційне значення *H. bacteriophora*. Має прикладне значення для біологічного контролю комах-фітофагів в посівах та насадженнях сільськогосподарських культур, декоративних рослин до невідчутного господарського рівня. Є основою для створення біологічних препаратів ентомоцидної дії для захисту рослин. Серед лідерів компаній-виробників біопестицидів на основі *H. bacteriophora* є: E-nema GmbH, BASF (Німеччина); Andermatt Biocontrol (Швейцарія); Koppert (Нідерланди); BioLogic, M&R Durango, Otinem (США) (Martinez, Heriberto *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2023). Інші антибіотичні властивості *H. bacteriophora* (нематцидні, фунгіцидні та бактерицидні зокрема) вивчені недостатньо (Enrique, Edwin, 2002; Sajid Aleem Khan *et al.*, 2009; Milena Caccia *et al.*, 2013; Mahfouz M. M. Abd-Elgawad *et al.*, 2013).

Групи тварин, що вражаються *H. bacteriophora*. Ними уражаються близько 200 видів комах на різних стадіях розвитку з різних рядів та родин, серед яких в переважній більшості: COLEOPTERA: Cerambycidae, Curculionidae, Scarabaeidae, Scolytidae; DIPTERA: Muscidae, Tephritidae; LEPIDOPTERA: Sesiidae; THYSANOPTERA: Thripidae та багато інших. Також володіє іншими антибіотичними властивостями, зокрема щодо фітопаразитичних нематод NEMATODA (Parwinder S. Grewal *et al.*, 2001; Sikandar *et al.*, 2021).

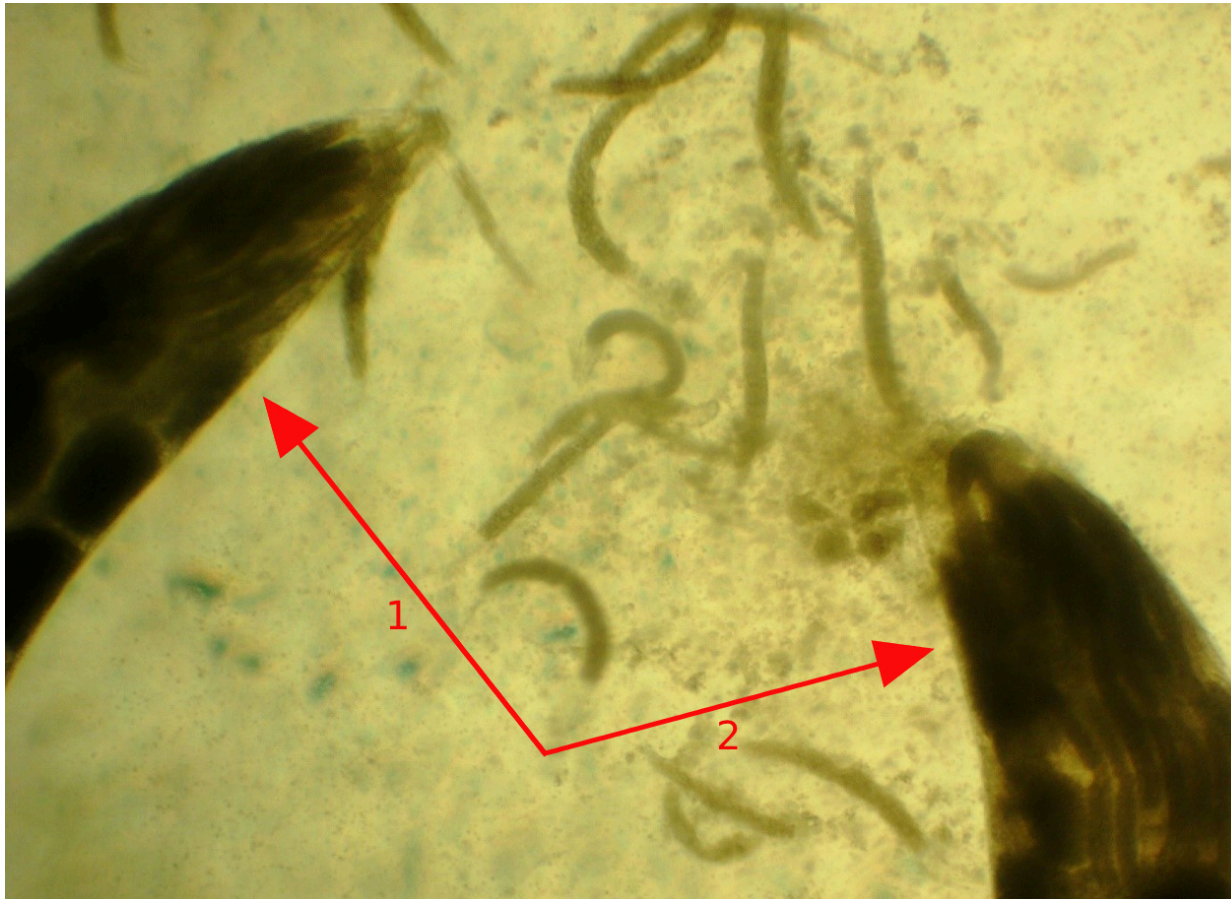


Рис. 3.10. Зальний вигляд ♀ I-ї генерації *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолят DD-14) з виходом личинок транскутикулярно: стрілками позначено передній (1) та задній (2) кінці тіла заповнені ювенільними личинками (“*endotokia matricida*”) (нативний тотальний мікропрепарат; світлова мікроскопія). Оригінал.

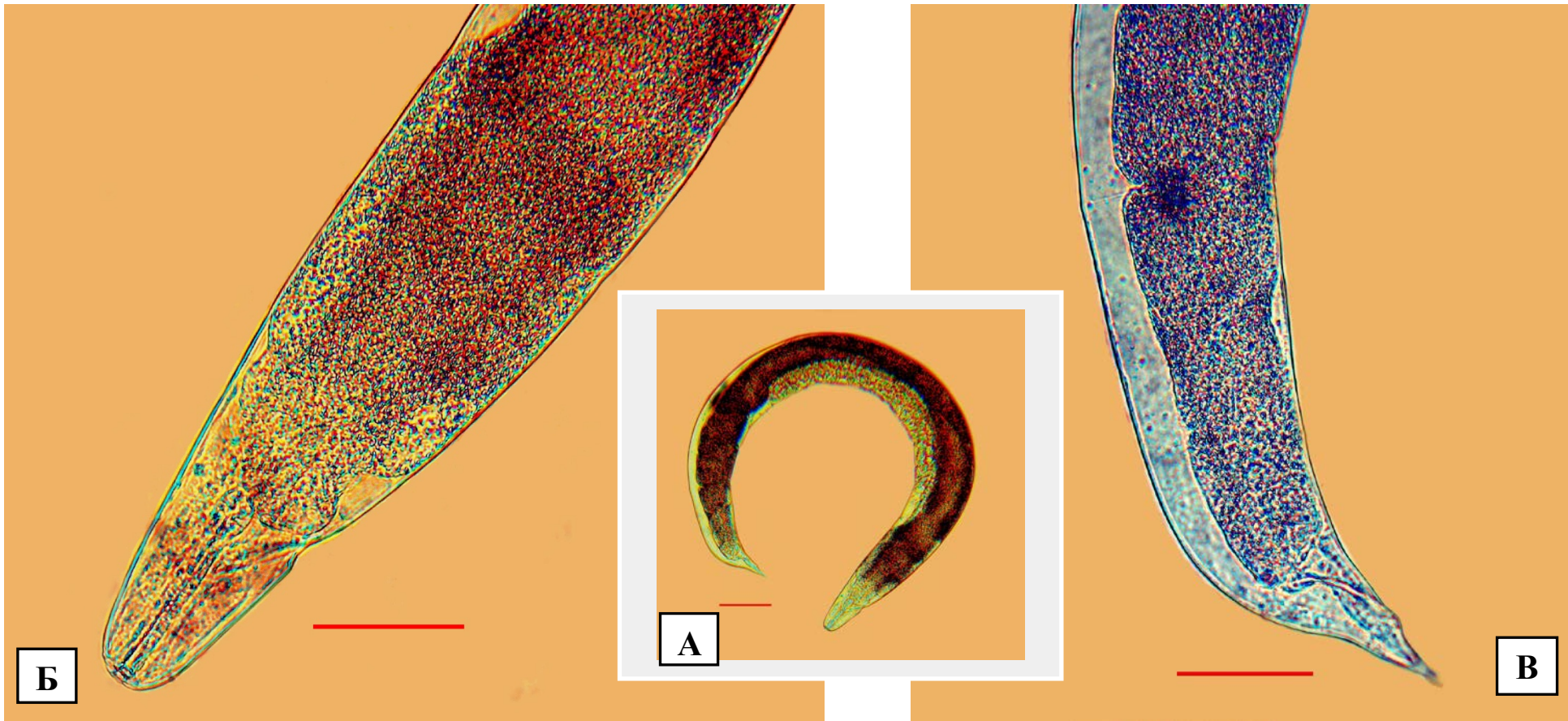


Рис. 3.11. *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолят DD-14), ♀ II-ї генерації: А– загальний вигляд; Б – передній кінець тіла; В –каудальний (хвостовий) кінець тіла (світлова мікроскопія; масштабні шкали: (А) =200 μm ; (Б, В) =300 μm). Оригінал.

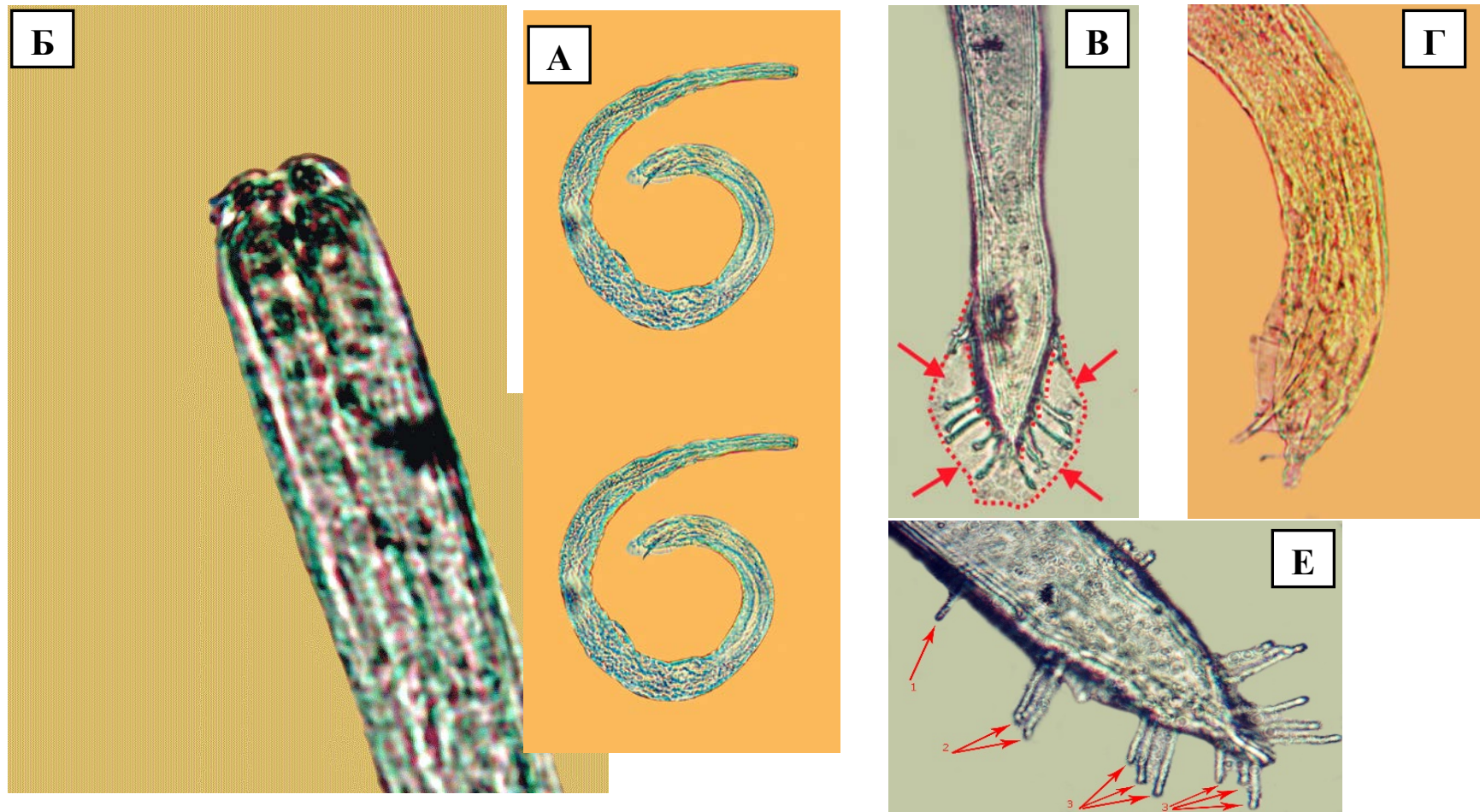


Рис. 3.12. *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолят DD-14), ♂ II-ї генерації: А – загальний вигляд; Б – передній кінець тіла; В–Д – каудальні (хвостові) кінці тіла: В – фронтальний вигляд, стрілками позначена бурса; Г – сагітальний вигляд, губернакулум та спікули; Е – стрілками позначені пари бурсальних папіл (світлова мікроскопія; масштабні шкали: (А) =200 μm ; (Б, В) =300 μm). Оригінал.

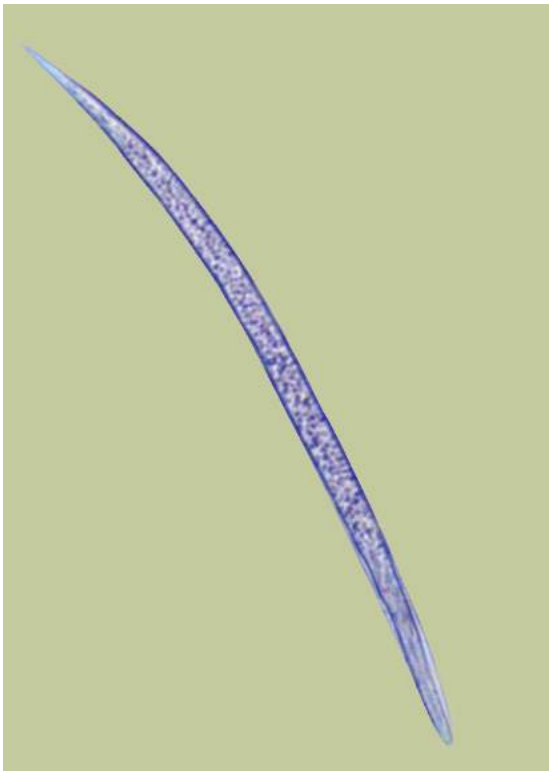


Рис. 3.13. Загальний вигляд інвазійної личини (L3) *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолят DD-14) (світлова мікроскопія). Оригінал.

Таким чином, підводячи підсумок, можемо констатувати, що значний науковий та практичний інтерес представляє факт виявлення нами в агроценозах різних видів та субпопуляцій ентомопатогенних нематод з родів *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. – потенційних перспективних біоагентів для створення біопрепаратів для рослинництва. Виявлення та коректна ідентифікація аборигенних видів (та/або ізолятів) ЕПН (Ковтун, 2023b), адаптованих до місцевих ендегенних та екзогенних факторів навколишнього середовища та клімату, є критично важливою умовою їхнього успішного впровадження в якості агентів біометоду для контролю місцевих комах-шкідників у інтегрованих системах фітозахисту.

1. Ковтун А.М. Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в ґрунтах агроценозів України. XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві». (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Чернігів, 2018. С. 65-68.
2. **Ковтун А.М.**, Бондар Л.П. Видовий склад та зональна поширеність ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах

України. *Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії*: матеріали науково-педагогічного підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства. (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 37-42.

3. Ковтун А.М. Ідентифікація ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), виділених із агроценозів України. I Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців «*Актуальні аспекти розвитку науки і освіти*». (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 315-318.
4. Ковтун А.М. Нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) фауни України. *Карантин і захист рослин*. 2023a. №2(273). С. 39-45.
5. Ковтун А.М. Індикація та ідентифікація ентомопатогенних нематод Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae. *Карантин і захист рослин*. 2023b. № 4(275). С. 21-31.

Висновки до розділу 3

1. Результати засвідчили про досить значну заселеність агроценозів України нематодами – патогенами комах (Nematoda: Rhabditida), та їх переважання у ґрунтах агроценозів у порівнянні з деякими іншими ентомопатогенними організмами різної етіології (Fungi, Bacteria, Insecta), що призводять до смертельних інфекційних та паразитарних захворювань комах. Уперше зареєстровано явище гіперпаразитизму у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* L. при виявленій мікст-інфекції, а саме – ентомофаго-нематодній паразитарній асоціації. Аналіз зібраних та відловлених у природних умовах ґрунтових комах різних рядів на предмет їх зараження ентомопатогенами – не виявив в них інвазій.

2. Нематологічним аналізом встановлено, що 14,7% (або 46 із 312 шт) проб виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae et Heterorhabditidae). Видовий склад, частота трапляння (%) ентомопатогенних нематод варіювали в залежності від місць обстежень, типу агроценозу, а також від культурного виду-едифікатора агроценозу. Ентомопатогенні нематоди виділено з Житомирської, Чернігівської та Київської областей. Уперше на території України виділено ентомопатогенні нематоди з Житомирської та Чернігівської областей. В цілому багаторічні сільськогосподарські насадження більше заселені ентомопатогенними нематодами, аніж сільськогосподарські посіви польових культур – 82,6% проти 17,4% усіх позитивних проб. Знахідки позитивних проб з нематодами роду *Steinernema* Travassos, 1927 (Steinernematidae) помітно переважали над родом *Heterorhabditis* Poinar, 1976 (Heterorhabditidae) у співвідношенні 1,5:1.

3. Виявлені з агроценозів ізоляти ентомопатогенних нематод (Steinernematidae, Heterorhabditidae) за результатами морфолого-морфометричного аналізу віднесено до трьох видів – *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982, *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» (близький до представників групи «*glaseri*»), та *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976. Деякі ізоляти ентомопатогенних нематод проявляли помітну мінливість за багатьма проаналізованими морфометричними характеристиками та індексами (*M (min-max)*, мкм), що ускладнювало процес ідентифікації (ізолят *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» зокрема).

Проведені у розділі дослідження викладені у публікаціях автора Додатку Б [1; 3-5; 7-14] та Додатку В [1-8].

РОЗДІЛ 4

ОЦІНКА ЕНТОМОЦИДНОЇ АКТИВНОСТІ ЕНТОМОПАТОГЕННИХ НЕМАТОД (STEINERNEMATIDAE) ЩОДО ҐРУНТОВИХ КОМАХ-ШКІДНИКІВ (SCARABAEIDAE)

Виявлені та ідентифіковані нами види ентомопатогенних нематод (*S. carpocapsae*, *S. «glaseri»-group* та *H. bacteriophora*), згідно даних літератури (Martinez, Heriberto *et al.*, 2017; Yadav *et al.*, 2023; Tatyana Stefanovska *et al.*, 2023), є одними з найбільш інтенсивно досліджуваних видів для використання в біологічному захисті рослин у якості біоагентів, і мають значне наукове та комерційне значення. У першу чергу це пояснюється їх простим і легким масовим виробництвом у рідкій культурі *in vitro*, а також високим біопотенціалом (ентомоцидна активність) щодо багатьох шкідливих комах. Зважаючи на це, доцільним у даному аспекті є подальше вивчення патогенних властивостей виявлених цільових ентомопатогенів, відбір найбільш перспективних видів (та/або ізолятів) з корисними властивостями як потенційних агентів біоконтролю та включення їх у вітчизняну систему інтегрованого захисту рослин боротьби зі шкідниками.

З цією метою нами були проведені дослідження (Сигарева *и др.*, 2018) біопотенціалу аборигенного ізоляту *Steinernema* sp. DD-5 (виділений із ґрунту плодкових насаджень кісточкових та зерняткових культур в Київській обл., і пізніше ідентифікований як вид *S. carpocapsae*) щодо місцевих ґрунтових шкідливих комах-фітофагів, а саме личинок західного травневого хруща (*Melolontha melolontha* L., 1758), у порівнянні з існуючим на ринку комерційним біологічним препаратом Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі виду *Steinernema feltiae* у лабораторних умовах. Для одержання достатньої кількості інвазійного матеріалу виділені місцеві ізоляти ентомопатогенних нематод *Steinernema* sp. попередньо культивували на гусеницях *Galleria mellonella* L. (Orozco *et al.*, 2014).

Перевірено можливість використання личинок *M. melolontha* для масового розмноження ентомопатогенних нематод *Steinernema* sp. (ізолят DD-5), оцінено міграційну активність і репродуктивний потенціал (здатність нематоди розвиватися в тілі загиблого хазяїна та продукувати інфекційні личинки) *Steinernema* sp. на личинках західного травневого хруща.

Відомо, що останнім часом серед комах-шкідників серйозного та масштабного значення набули ґрунтові шкідники, які завдають посівам та насадженням відчутної шкоди в Україні (Борзих, 2015). Досить часто причина загибелі дерев у плодових і лісових розсадниках, молодих насадженнях і розрідження посівів криється у діяльності личинок ґрунтоживучих комах. Значної шкоди серед останніх завдає західний травневий хрущ *Melolontha melolontha* L. (Scarabaeidae), личинки якого виїдають насіння, підгризають сходи, перегризають або обгризають коріння багатьох культур, дорослих дерев і чагарників. Західний травневий хрущ є одним із небезпечних шкідників лісових, паркових і садових промислових насаджень і розробка та проведення прийомів щодо зниження його чисельності в агроценозах є важливою складовою сучасних технологій вирощування сільськогосподарських культур, а тому й надалі залишається у центрі уваги вітчизняних учених (Яновський та ін., 2016; Коренчук та ін., 2020).

Зокрема, відомий вчений-ентомолог Дядечко М.П. та інші дослідники підкреслювали важливість використання біоагентів, як-от застосування боверину (на основі ентомопатогенного гриба з роду *Beauveria* Vuill., 1912), в контролі чисельності цього небезпечного виду, як складової частини інтегрованого захисту рослин у розсадництві (Дядечко та ін., 2001). Адже варто відмітити, що проведення винищувальних заходів на основі хімічного методу хоч і має досить високу ефективність зниження чисельності ґрунтових шкідників (у т.ч. західного травневого хруща), однак потребує в першу чергу тривалої ручної роботи людського персоналу, та пов'язано з іншими екологічними вимогами при сучасному використанні пестицидів

(Яновський *та ін.*, 2016). Зважаючи на усе вищезазначене нами обрано у якості цільового тест-об'єкта личинки (2-3 віку) західного травневого хруща *M. melolontha* L., 1758.

Отримані дані показали, що личинки травневого хруща чутливі до зараження місцевим штамом ентомопатогенних нематод *Steinernema* sp. DD-5, а ефективність не поступалася комерційному препарату Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі виду *S. feltiae*.

У процесі досліджень встановлено, що 100% загибель дослідних комах (n=6 у кожній групі) спостерігалась на 3-й день при зараженні препаратом Entonem, і на 4-й день при їх інфікуванні місцевим ізолятом *Steinernema* sp. DD-5 (табл. 4.1). Процес виділення інвазійних личинок (ІЛ) ентомонематод після загиблі комах-хазяїв у середньому у варіанті із місцевим ізолятом *Steinernema* sp. DD-5 розпочинався з різницею у 3-и дні, порівняно із дослідним варіантом Entonem – на 6-й та 9-й день відповідно, і загалом у середньому тривав 45 днів (*Steinernema* sp. DD-5) та 52 дні (Entonem) (табл. 4.1).

Загалом за вказаний період у середньому з однієї личинки травневого хруща, зараженого *S. feltiae* (Entonem), отримано 110 554 ос. (min – 53 803; max – 151 768) ІЛ нематод, за зараження місцевим ізолятом *Steinernema* sp. DD-5 показник дещо нижчий, але також задовільний – 92 370 (min – 32 666; max – 134 987) особин (табл. 4.1).

Згідно даних літератури (Wang, Bedding, 1996), близько 150 000 ос. ІЛ можливо отримати з однієї личинки воскової молі *Galleria mellonella* через 3 тижні при зараженні *S. carpocapsae*. Нині майже все лабораторне і маломасштабне розведення ентомопатогенних нематод ґрунтується на використанні гусениць воскової молі *G. mellonella*, проте у якості відповідних хазяїв використовуються й інші види рядів Lepidoptera, Coleoptera, Diptera тощо (Shapiro-Ilan *et al.*, 2012).

Таблиця 4.1

Ефективність та репродуктивний потенціал ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. щодо личинок 2-3 віку західного травневого хруща (*M. melolontha* L.) в лабораторних умовах¹

№ з/п	Варіант досліджу	% загинувших комах (n=6)			Тривалість виділення ІЛ (днів)		К-сть екз. ІЛ/комаху, шт, М (%)					
		після 2 дн.	після 3 дн.	після 4 дн.	початок після загибелі	загалом	подекадно за період					Всього, М (%)
							22.05-30.05	01.06-11.06	13.06-24.04	27.06-08.07	10.07-14.07	
1	Контроль (дистильована вода)	0,0	0,0	0,0	0	0	0 (0,0) [#]	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
2	<i>Steinernema</i> sp. (ізолят DD-5)	50,0	83,3	100	9	45	3527 (3,8)	46961 (51,0)	27752 (30,0)	14040* (15,1)	90 (0,1)	92 370 (100)
3	<i>Steinernema feltiae</i> (Entonem)	50,0	100	0,0	6	52	5214 (4,7)	42620 (38,5)	28564 (26,0)	34020 (30,7)	136 (0,1)	110 554 (100)

Примітка: ¹ – за інфікування суспензією нематод з розрахунку 100 інвазійних личинок/комаху; [#] – значення показника у дужках вказано у %; * – достовірна різниця між показниками варіантів порівняння «2» і «3» (U-критерій Манна-Уїтні; p<0,05).

Умовні позначення: ІЛ – інвазійні личинки; М – дані представлені у формі середнє значення.

Щодо продуктивності різних періодів виділення, можна стверджувати, що найкращі показники отримано протягом 2-4 декад обліку як у дослідній групі із зараженням *S. feltiae* (Entonem), так і у варіанті з місцевим ізолятом *Steinernema* sp. DD-5 (табл. 4.1; рис. 4.1).

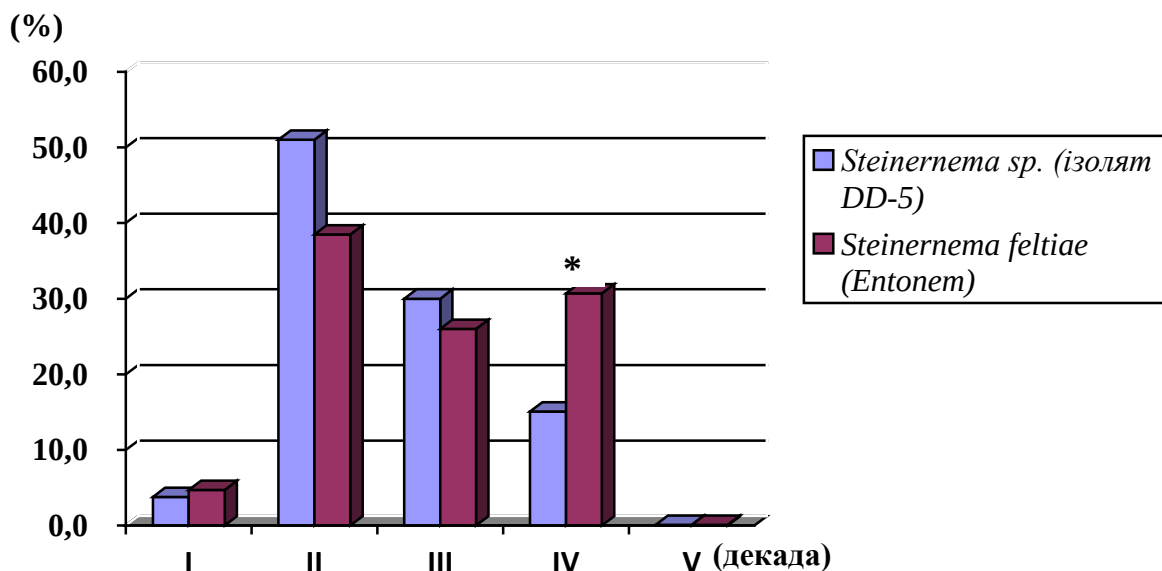


Рис. 4.1. Міграційна активність (подекадно) та репродукційний потенціал (у %) інвазійних личинок ентомопатогенних нематод *Steinernema* sp. (ізолят DD-5) та *Steinernema feltiae* (Entonem). Примітки: * – достовірна різниця між показниками варіантів порівняння ($p < 0,05$). Оригінал.

Найбільша кількість ІЛ виділилась у 2-гу декаду – 38,5% (*S. feltiae*, Entonem) проти 51,0% (*Steinernema* sp., ізолят DD-5), досить багато їх виділилося протягом 3-ї декади – 26,0-30,0%, відповідно. У першій декаді евазували (мігрували) від 3,8% (*Steinernema* sp. DD-5) до 4,7% ІЛ (*S. feltiae*, Entonem), а в останню (п'яту) декаду, у більшості випадків, вихід ІЛ уже припинився, але якщо і продовжувався, то кількість личинок яка мігрувала в обох дослідних варіантах була незначною ($< 0,1\%$) (табл. 4.1; рис. 4.1). Статистичний аналіз даних (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) встановив достовірну зміну цільових показників репродуктивного потенціалу у 4-ту декаду обліку серед дослідних варіантів «*Steinernema* sp. DD-5» і «*S. feltiae*,

Entonem» ($U = 4$, z -показник = -2.16173 при $p < 0,05$), у решті випадків достовірної залежності між варіантами дослідів не виявлено.

Таким чином, проведені лабораторні дослідження засвідчили про цілковиту придатність личинок західного травневого хруща (*Scarabaeidae*) у якості комахи-хазяїна для місцевого виду ентомопатогенних нематод (*Steinernema* sp.). Аналіз показників біологічної ефективності (% смертності за інфікування) та репродукційного потенціалу (здатність нематоди розвиватися в тілі загублого хазяїна та продукувати інфекційні личинки) показав, що вони не поступалися комерційному препарату Entonem на основі ентомопатогенної нематоди виду *Steinernema feltiae*.

Разом з тим варто наголосити, дослідження проведені Граціанова *та ін.* (2012) в лабораторних і вегетаційно-польових умовах дозволили встановити, що українські ізоляти ентомопатогенних нематод з родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* виявились ефективними проти личинок травневого хруща (*Melolontha melolontha* L.) на культурі суниці, але не ефективними проти імагінальних стадій *M. melolontha*, дорослі комахи виявились стійкими до ентонематод. Згідно з дослідженнями авторів (Граціанова *та ін.*, 2012), при зараженні личинок хрущів в чашках Петрі різними ізолятами ентомогельмінтів, міграційна активність гетерорабдитид та стейнернематид розпочиналась на 5-7 день від загибелі комахи-хазяїна і тривала в середньому 4-5 тижнів. Продуктивний вихід ІЛ нематод із личинок хруща (при дозі інвазії 100 екз./1 комаху) становив для *Steinernema* spp. – 5116-21975 екз., для *Heterorhabditis* sp. – 5916 екз (Граціанова *та ін.*, 2012). Результати наших досліджень (Сигарева *и др.*, 2018) в чомусь узгоджуються, а в чомусь розходяться із вищезазначеними даними Граціанова *та ін.* (2012) стосовно репродукційного потенціалу місцевих ізолятів ентомопатогенних нематод роду *Steinernema*.

Надалі дослідження будуть спрямовані на вивчення біологічної ефективності ЕПН проти західного травневого хруща на різних стадіях розвитку в польових умовах з метою подальшого включення їх у вітчизняну

інтегровану систему захисту рослин задля обмеження чисельності цього небезпечного виду. Необхідним завданням при цьому також є розробка ефективних технологій лабораторного та промислового розмноження ЕПН.

1. Сигарева Д.Д., Харченко В.В., Чигрин Н.А., Болтовская Е.В., **Ковтун А.Н.** Размножение энтомопатогенных нематод рода *Steinernema* на личинках майского жука (*Melolontha melolontha*) в лабораторных условиях. *Вестник палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта*. 2018. №1. С. 72-76.

Висновки до розділу 4

1. Західний травневий хрущ (*Melolontha melolontha* L.) є одним із найнебезпечніших видів ґрунтових шкідників в агроценозах України. Використання біоагентів (зокрема застосування ентомопатогенних нематод) має велику вагу в обмеженні чисельності *M. melolontha*, це необхідно враховувати при плануванні проведення захисних заходів проти цього шкідника.

2. Порівняльні лабораторні дослідження біопотенціалу (ентомоцидна дія) та репродукційного потенціалу місцевого ізоляту *Steinernema* sp. із біологічним препаратом Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) на основі виду *Steinernema feltiae*, за ініфікування личинкових стадій західного травневого хруща (з розрахунку 100 інвазійних личинок нематод/комахи) засвідчили стійку інсектицидну дію щодо цих шкідників: через 3-и (препарат Entonem), чи 4-и дні (місцевий ізолят *Steinernema* sp.) гине 100% комах; кількість інвазійних личинок нематод, які евазували із жертви, у середньому із однієї комахи склала – 110 554 особин (Entonem) проти 92 370 особин (місцевий ізолят *Steinernema* sp.).

Матеріали досліджень, викладених у розділі, опубліковані у роботах Додатку Б [2].

РОЗДІЛ 5

ЕНТОМОНЕМАТОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ, ЯК СКЛАДОВА ІНТЕГРОВАНИХ СИСТЕМ ЗАХИСТУ РОСЛИН

У зв'язку з проблемою охорони навколишнього середовища від забруднення хімічними засобами, в Україні, як і у всьому світі, вченими розроблена інтегрована система захисту рослин, яка забезпечує збереження природних регуляторів чисельності шкідників, обмежуючи застосування хімічних засобів захисту рослин (Лісовий *та ін.*, 2009; Косилович, Коханець, 2010).

Розробляючи сучасні системи захисту рослин, дослідники особливу увагу приділяють методам біологічного (мікробіологічного) контролю чисельності комах-шкідників (Дядечко *та ін.*, 2001; Білик, 2022; Власенко *та ін.*, 2022; Кравець, Стефановська, 2021). Теоретичні й практичні досягнення в галузі біологічного захисту с.-г. рослин дали змогу суттєво збільшити обсяги застосування біологічних засобів регулювання чисельності шкідників рослин. Застосування мікроорганізмів – збудників хвороб комах-шкідників – складає істотну частину біологічного методу (Lacey *et al.*, 2015).

Вирощування культурних рослин в агроєкосистемах створює сприятливі умови для розмноження шкідливої біоти, яка спричинює істотні втрати у сільському господарстві. В Україні майже 90% усіх збитків, складають представники різних систематичних рядів і родин класу комах – *Insecta* (тип членистоногі – *Arthropoda*). До найбільш чисельних комах-фітофагів, які завдають посівам та насадженням відчутної шкоди належать: личинки коваликів, чорнишів, хлібних жуків, турунів, хрущів, гусениці підгризаючих совок; мухи – гессенська, шведська, пшенична чорна, меромізи; група сисних фітофагів – попелиці (велика злакова, звичайна злакова, ячмінна, черемхова); щитники, елії, польові клопи, пшеничні та інші види трипсів; смугаста хлібна блішка, п'явиці та багато інших (Борзих, 2015; Коханець *та ін.*, 2017).

Загальносвітовий досвід свідчить, що сучасна стратегія інтегрованого захисту рослин неможлива без використання методів прогнозу щільності й рівня життєздатності не тільки шкідливих, а й корисних організмів в агроекосистемах (Deka *et al.*, 2021). Виявлення та максимальне збереження корисних компонентів агроценозів, використання спеціалізованих природних біоагентів, нешкідливих для нецільових організмів та навколишнього середовища – є невід’ємною складовою пошуку екологічно безпечних систем захисту рослин (Патика *та ін.*, 1993; Білик, 2022).

У регуляції чисельності комах-фітофагів надзвичайно важливе значення мають їхні природні вороги, зокрема ентомопатогенні мікроорганізми (віруси, бактерії, гриби, найпростіші, нематоди) (Васильєва, Лебединець, 2001; Кобеза *та ін.*, 2017; Кравець, Стефановська, 2021; Шерстобоева *та ін.*, 2021). Ентомопатогенні мікроорганізми призводять до різних інфекційних та паразитарних патологій комах: вірусної (вірози), бактеріальної (бактеріози), грибної (мікози), гельмінтозної (нематодози), і протозоонозної (протозоонози) етіології (Білик *та ін.*, 2017).

Проведений нами аналіз з напрямку вітчизняного мікробіологічного захисту рослин, як найбільш екологічної та наукоємної складової інтегрованого захисту дає змогу стверджувати, що увага науковців зосереджена (за низхідною шкалою) на бактеріях, грибах, вірусах, як потенційних біоагентах – збудниках хвороб комах у агроценозах. Щодо інших ентомопатогенних організмів (нематод, зокрема) інформація вкрай незначна або зовсім відсутня (Сігарьова *та ін.*, 2015). Причинами такого явища, на нашу думку, є насамперед недостатня теоретична пропрацьованість певних аспектів у вивченні ентомопатогенних нематод, що створює проблему при спробі її перенесення в практичну площину. Через необізнаність фахівців науки і практики агробіологічного й екологічного профілю щодо перспектив і можливостей застосування ентомопатогенних нематод проти певних видів шкідників, вони не надто «популярні» в захисті

рослин і ще досі не знайшли свого гідного місця, залишаючись там «білою плямою».

Отримані дані нематологічних обстежень різноманітних агроценозів України засвідчили, що ентомопатогенні нематоди (Rhabditida: Steienernematidae та Heterorhabditidae) – є невід'ємною складовою гетеротрофної частини (мікробіоти) культурних ценозів з доволі високою частотою траплення (див. підрозділи 3.1 та 3.2). Проведені дослідження в агроценозах польових культур та багаторічних насаджень України дозволили виділити основні роди та види ентомопатогенних нематод (ЕПН) і прослідкувати характер їх поширення. На відміну від агроценозів польових культур, де серед ЕПН домінували представники роду *Steinernema*, в агроценозах багаторічних насаджень (плодові сади, декоративні насадження), із цієї групи нематод переважали представники роду *Heterorhabditis*. Щодо видового складу ЕПН, то спільним в обох випадках був вид *S. carpocapsae*.

Аналіз доступних джерел літератури свідчить про цілковиту відсутність належного методологічного забезпечення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах (далі – моніторинг), яке б відповідало природі та специфічним характеристикам предмета дослідження. Тому, враховуючи загальний недостатній рівень роботи у даному напрямку та суттєвий брак такої інформації, постала гостра необхідність наукового обґрунтування методологічних положень та принципів моніторингу нематод – патогенів комах в агроценозах (Ковтун, 2024), в якості одного із елементів «біологізації» рослинництва для подальшого розвитку біологічного методу фітозахисту.

5.1. Особливості проведення моніторингу нематод – патогенів комах (NEMATODA: RHABDITIDA) в агроценозах

Найбільш складною роботою на першому етапі є визначення напрямів і відбір сталих критеріїв (характеристик) загальної структури проведення

моніторингу, які б і забезпечували отримання об'єктивної та надійної інформації. Беручи до уваги еколого-біологічні особливості ентомопатогенних нематод (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) та з'ясована нами чутливість найбільш широко використовуваних способів дослідження щодо індикації та подальшої ізоляції цільових ентомопатогенів, дали можливість встановити послідовність у застосуванні специфічних методів спостереження при проведенні моніторингу представників цього типу потенційних біоагентів в агроценозах (табл. 5.1; рис. 5.1).

Весь процес моніторингу включає десять послідовних етапів:

- (1) обстеження мікроценозів комах та їх облік;
- (2) відбір проб ґрунту і (або) закладання ґрунтових пасток, збір мертвих зразків комах-хазяїв;
- (3) ізоляція / виділення нематод із ґрунтових проб та їх жертв – комах-хазяїв;
- (4) розмноження виявлених ізолятів нематод у «чистій культурі»;
- (5) штучне інфікування тест-комах «чистою культурою» нематод;
- (6) повторне виділення нематод від експериментально заражених тест-комах, фіксація матеріалу;
- (7) ідентифікація родової та видової належності;
- (8) картування осередків субпопуляцій ентомопатогенних нематод;
- (9) визначення біопотенціалу (ентомоцидної активності) ентомопатогенних нематод;
- (10) складання прогнозу та рекомендацій.

1-й етап. Обстеження мікроценозів комах, та їх облік. Цей етап моніторингу включає проведення маршрутних (або детальних) еколого-ентомологічних обстежень із відбором проб і обліком комах у ґрунті, його поверхні, чи на рослинах шляхом застосування методів ґрунтових розкопок і використання універсальних способів збору комах (у результаті яких одночасно виловлюються найрізноманітніші групи комах): ручний розбір,

метод просівання ентомологічним ситом, флотація; методу візуального огляду поверхні ґрунту (облікові ділянки 50 × 50 см) та спеціальних способів збору, які враховують особливості біології представників систематичних родин і родів: вилов на приманку, ловильні пояси (табл. 5.1).

При обстеженні деревного ярусу, комах відбирають струшуючи їх на полотно. Для цього, під деревом чи кущем розкладають біле полотно і трусять гілку рукою чи б'ють по ній палицею. Комах, які падають вниз збирають пінцетом або безпосередньо руками і поміщають в завчасно приготовлені пробірки тощо (Станкевич, Горновська, 2022). У разі виявлення епізоотії нематодного характеру, враховують кількість хворих/загиблих особин комах, які виражають у відсотках від загального числа виявлених особин на певній елементарній ділянці (стації).

Відомо, що особливо висока інтенсивність та екстенсивність ураження ЕПН спостерігається серед тих комах-хазяїв, життєвий цикл розвитку яких пов'язаний з ґрунтом, для більшості личинок яких характерний прихований спосіб життя життя у верхньому шарі ґрунту. Зважаючи на це, слід використовувати прямі та/чи не прямі методи обліку ґрунтових видів комах (наприклад, личинок жуків-коваликів, чорнотілок і пилкоїдів, відомих як дротяники та несправжні дротяники, личинок пластинчастовусих жуків – хрущів й інших комах).

Прямим способом обліку ґрунтових видів є викопування квадрата 50×50 см (в аридних умовах 100×100 см) і пошаровим дослідженням ґрунту, котрий одразу ж поміщають у поліетиленові пакети. Одним із непрямих методів обліку великих ґрунтоживучих комах (дротяників і личинок хрущів зокрема) є так званий «облік за плугом» у відловлювальному шарі ґрунту і у борозді, що безпосередньо утворилась. Проводять перевірку, а знайдені хворі (чи загиблі) об'єкти збирають пінцетом або безпосередньо руками, поміщаючи в заздалегідь підготовлені банки чи пробірки (Станкевич, Горновська, 2022).

Таблиця 5.1

Основні етапи та методи ентомонематологічного моніторингу в агроценозах

№ п/п	Назва етапу	Методики виконання	Результати	Місце виконання, період
1	Обстеження мікроценозів комах, їх облік	Проведення маршрутних або детальних ентомологічних обстежень із обліком комах у ґрунті, його поверхні, чи на рослинах із застосування методів ґрунтових розкопок (ручний розбір проб, метод просіювання ентомологічним ситом, флотація), візуального огляду поверхні ґрунту (облікові ділянки 50 × 50 см); враховують кількість хворих/загиблих особин комах (за типовими зовнішніми ознаками нематодного ураження), які виражають у відсотках від загального числа особин на певній елементарній ділянці (стації)	Інформація щодо якісного та кількісного складу ентомофауни агроценозу; виявлення хворих/загиблих комах, причиною розвитку хвороби/смертності яких можуть бути ЕПН; виявлення природних спонтанних епізоотій нематодного характеру	Протягом усієї вегетації культурних рослин (від появи масових сходів до збирання врожаю, настання технічної стиглості)

Продовження таблиці 5.1

№ п/п	Назва етапу	Методики виконання	Результати	Місце виконання, період
2	Відбір проб ґрунту і (або) закладання ґрунтових пасток, збір мертвих зразків комах-хазяїв	Відбір проб здійснюють за допомогою лопати за двома схемами – випадковим і систематичним (залежно від мети досліджень). Для агроценозів польових культур проби ґрунту відбирають до глибини 15-30 см, при обстеженні багаторічних насаджень – до глибини 40 см і у радіусі 1 м навколо штабів окремо ростучих дерев; закладання ґрунтових пасток виконують із використанням сприйнятливих тест-комах, що мешкають поза ґрунтом (личинки <i>Galleria mellonella</i> та незрілі стадії інших видів комах); ручний збір мертвих зразків комах-хазяїв проводять на основі візуального огляду за специфічними ознаками ураження ЕПН	Одержання ґрунтових проб, зразків тест-комах та комах-хазяїв, що потенційно містять ЕПН	У польових умовах, упродовж усього вегетаційного періоду рослин (з квітня по жовтень ЕПН найбільш масово представлені)
3	Ізоляція / виділення ЕПН із ґрунтових проб та їх жертв – комах-хазяїв	Ізоляцію ЕПН із відібраних проб ґрунту проводять методом біопроб чи лійковим методом Бермана; виділення нематод із загинлих хазяїв – методом «водної пастки» Уайта та «гельмінтологічного розтину»	Наявність особин ЕПН, що свідчить про нематодне зараження	У лабораторних умовах

Продовження таблиці 5.1

№ п/п	Назва етапу	Методики виконання	Результати	Місце виконання, період
4	Розмноження ЕПН у «чистій культурі»	Методами « <i>in vivo</i> » (на личинках <i>Galleria mellonella</i> та незрілих стадіях інших видів комах) та/або « <i>in vitro</i> » (на спеціальних середовищах, зокрема печінково-нирковий агар, ліпідний агар)	Підтвердження етіологічної ролі ЕПН (згідно постулатів Коха); одержання нематодної біомаси (інвазійних личинок)	Виконуються у лабораторних умовах і їх основний зміст полягає у дотриманні класичних постулатів Коха
5	Штучне інфікування тест-комах «чистою культурою» нематод	Шляхом обприскування тест-комах <i>G. mellonella</i> водною суспензією інвазійних личинок нематод	Підтвердження етіологічної ролі ЕПН (згідно постулатів Коха)	(критеріїв встановлення причинно-наслідкових зв'язків між мікроорганізмом та хворобою)
6	Повторне виділення ЕПН від експериментально заражених тест-комах, фіксація матеріалу	Методом гельмінтологічного розтину; фіксація у розчині ТАФ	Підтвердження етіологічної ролі ЕПН (згідно постулатів Коха); отримання різних стадій онтогенезу ЕПН (личинок та дорослих особин 1-го та 2-го покоління), їх фіксація	
7	Ідентифікація родової та видової належності	Виготовлення мікропрепаратів на основі гліцерину з додаванням поліхромної синьки, визначення за морфологічними та морфометричними ознаками за допомогою методів оптичної мікроскопії з використанням визначників	Встановлення видової належності ЕПН	У лабораторних умовах

Продовження таблиці 5.1

№ п/п	Назва етапу	Методики виконання	Результати	Місце виконання, період
8	Картування осередків субпопуляцій еномопатогенних нематод	Картографічне оформлення результатів аналізу зібраної інформації щодо заселеності проб та складу ЕПН	З'ясування характеру розподілу субпопуляцій (видів) ЕПН на полі (стації)	У лабораторних і польових умовах
9	Визначення біопотенціалу (ентомоцидної активності) ЕПН	Шляхом експериментального зараження різних видів комах-шкідників інвазійними личинками нематод; метод гельмінтологічного розтину	Визначення ентомоцидної активності ЕПН щодо шкідливих комах в агроценозі	У лабораторних умовах
10	Складання прогнозу та рекомендацій	Аналіз зібраної інформації, оцінка ступеня потенційного впливу ЕПН на тих чи інших комах-фітофагів (грунто-живучих та приховано-живучих зокрема); аналіз предикторів необхідних для збереження ЕПН	Рекомендації щодо збереження природних популяцій ЕПН в агроценозі, приймання рішення про доцільність збагачення	У лабораторних і польових умовах

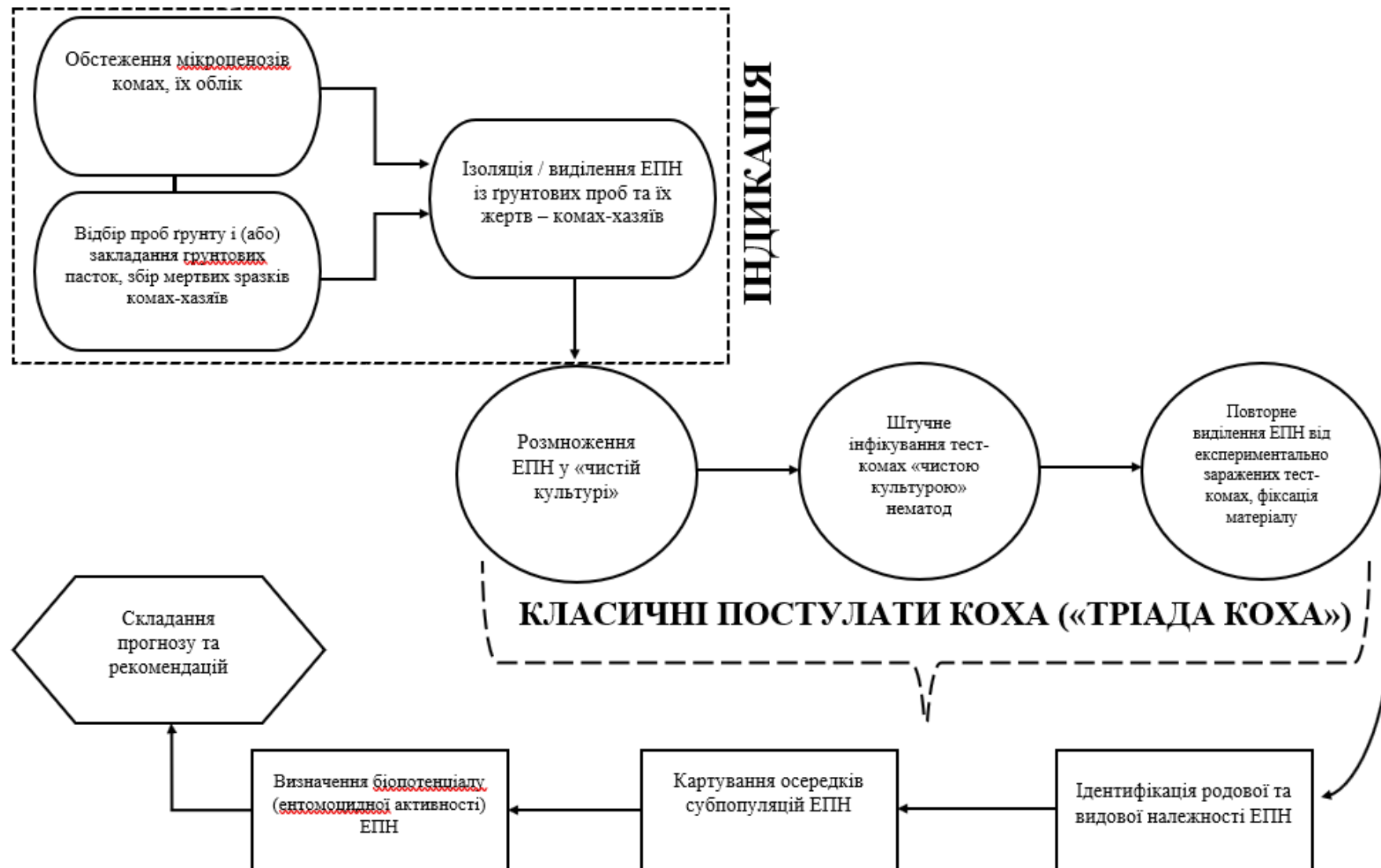


Рис. 5.1. Концептуальна схема ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. *Оригінал.*

Збір уражених і загиблих комах базується на використанні візуальних ознак ураження ЕПН, які за літературними (Білик, 2017; Tarasco Eustachio *et al.*, 2023) і оригінальними даними (Ковтун, 2018a) мають свої характерні особливості (у порівнянні із іншими патологіями комах) (табл. 5.2; рис. 5.2). Попереднє діагностування гельмінтозних (нематодозних) захворювань комах є трудомісткою працею, оскільки патогени – ентомопаразитичні черви, що їх спричиняють, мають мікроскопічні розміри і в більшості випадків виявляються лише з використанням спеціального обладнання.

В цілому, чіткі методи вітальної гельмінтодіагностики для членистоногих не розроблені. Симптоми, що спостерігаються в комах при ураженні їх нематодами з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae*, залежать від видової належності паразита, фази розвитку, віку і виду комахи-хазяїна. Однак, спільними основними ознаками є: характерна зміна кольору зовнішніх покривів тіла уражених комах на яскраво малиново-червоний (характерна для *Heterorhabditidae*) чи різні градації жовто-сірого (характерна для *Steinernematidae*); зміна розмірів і форми трупів тіла комах (уражені особини дещо збільшуються в об'ємі, тіла розбухають і набувають м'якої, пружної гумоподібної консистенції так як внутрішні органи під дією бактерій-симбіонтів перетворюються в мутну рідину; відсутність будь-якого специфічного запаху у свіжо-загиблих комах (рис. 5.2).

2-й етап. Відбір проб ґрунту і (або) закладання ґрунтових пасток, збір мертвих зразків комах-хазяїв. Як уже було зазначено, у ентомопатогенних нематод (далі – ЕПН) з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* розвиток личинок і дорослих особин розірваний у просторі та часі, у зв'язку з чим виявляються або тільки інвазійні личинки в ґрунті, або ж їх дорослі стадії – в личинках і лялечках комах-хазяїв.

Загальновідомо, що різні види з двох родин ЕПН спромоглися зайняти один і той самий локалітет, і навіть той же квадратний метр, але співіснують, тому що знаходяться на різній глибині ґрунту, або мають різну гостальну специфічність (харчову спеціалізацію), тобто залежать від різних видів

Таблиця 5.2

Патологічні зміни, що спостерігаються у комах при ураженні їх різного роду
хвороботворними (патогенними) організмами

№ з/п	Патологічні зміни у хворих (загиблих) комах	Паразитарні патології комах				
		Мікози	Бактеріози	Вірози	Протозоонози	*Нематодози
ОСНОВНІ ОЗНАКИ		1	2	3	4	5
1.	Колір тіла	залежно від збудника, трупи покриваються білим, зеленим або рожевим нальотом із спор	дещо темнішають	у не опушених личинок з’являється світлий відтінок, який згодом переходить у бурий; у опушених — зміна кольору не спостерігається	інколи покриті темними плямами	зміна кольору зовнішніх покривів тіла уражених комах на яскравий малиново-червоний (характерна для <i>Heterorhabditis</i> spp.); чи сіро-жовтуватий (характерна для <i>Steinernema</i> spp.)
2.	Форма тіла	—	—	розбухають	у переважній більшості зморщена	тіла розбухають, пізніше покриви жертв-комах розриваються, і із них евазують інвазійні личинки нематод

Продовження таблиці 5.2

№ п/п	Патологічні зміни у хворих (загиблих) комах	Паразитарні патології комах				
		Мікози	Бактеріози	Вірози	Протозоозози	*Нематодози
ОСНОВНІ ОЗНАКИ		1	2	3	4	5
3.	Розмір тіла	—	—	на початковій стадії хворі комах не відрізняються від здорових	відстають у розвитку, не досягають розмірів тіла здорових комах	дещо збільшуюються в об'ємі
4.	Консистенція тіла	тіла проростають ниткоподібни ми гіфами гриба, щільні (муміфіковані) та хрупкі	клітини гіподерми загиблих комах щільні (більш щільніші ніж при вірозах), шкіряні покриви не розриваються	у кінці захворювання внутрішні органи личинки перетворюються в мутну рідину, їх покриви розриваються, а із тіл витікає мутна рідина	сухі	набувають м'якої, пружної гумоподібної конси- стен- ції так, як внутрішні тканини та органи (під дією бактерій- симбіонтів) перетворюються у мутну рідину

Продовження таблиці 5.2

№ п/п	Патологічні зміни у хворих (загиблих) комах	Паразитарні патології комах				
		Мікози	Бактеріози	Вірози	Протозоонози	*Нематодози
ДОДАТКОВІ ОЗНАКИ		1	2	3	4	5
5.	Характер розташування/ пози	із труднощами відокремлюють ся від субстрату	«зависають» зачепившись задніми або середніми кінцівками, однак затримуються там недовго, так як їх тканина швидко руйнується	часто вилазять на верхівки рослин, прикріплюються задніми кінцівками звисаючи головою вниз	—	—
6.	Рухливість	—	свіжо-загиблі личинки комах мляві	з розвитком захворювання стають млявими	—	дещо посилюється на початкових стадіях після зараження, проте із розвитком патологічного процесу личинки комах стають млявими, малорухливими, а пізніше і зовсім перестають рухатись, не реагують на подразнення

Продовження таблиці 5.2

№ п/п	Патологічні зміни у хворих (загиблих) комах	Паразитарні патології комах				
		Мікози	Бактеріози	Вірози	Протозоозози	*Нематодози
ДОДАТКОВІ ОЗНАКИ		1	2	3	4	5
7.	Запах	—	трупид мають неприємний гнильний запах	без гнильного запаху	—	відсутність будь-якого специфічного запаху у загиблих особин
8.	Живлення	—	—	погано живляться	—	у більшості випадків різко зменшується вживання їжі, а пізніше і зовсім припиняється

Примітки: * – оригінальні дані отримані за умов штучного інфікування тест-комах *G. mellonella* місцевими ізолятами *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. у лабораторних умовах.

Умовні позначення: тире (—) – відомості відсутні.

А**Б****В**

Рис. 5.2. Прояв нематодної інфекції на личинках *Galleria mellonella*: А – збудник *Steinernema* sp.; Б – збудник *Heterorhabditis* sp.; В – не уражені (інтактні) особини *G. mellonella*. Оригінал.

комах-хазяїв, які безпосередньо підтримують їх популяцію. З огляду на це існує три базові способи виявлення ЕПН, а саме:

- (1) безпосередній відбір проб ґрунту;
- (2) закладання ґрунтових «живих» пасток;
- (3) збір мертвих комах-хазяїв.

Відбір ґрунтових проб. Спосіб відбору проб залежить від мети, яка ставиться перед дослідником у кожному окремому випадку, і може здійснюватись, як правило, за такими схемами – випадковим (рандомізованим) і систематичним (суцільним), а також комбінованим (сполучення випадкового та систематичного).

Перший спосіб відбору – випадковий, доцільно застосовувати на великих площах (наприклад, географічних областях чи регіонах) для вивчення впливу певних факторів – діапазону висот, текстури ґрунту чи типу середовища існування (наприклад, поля, лісові масиви, пасовища, парки тощо) на різноманітність ЕПН. Згідно з даними (Orozco *et al.*, 2014), ґрунтові проби за рандомізованим типом доцільно відбирати таким чином. Для формування середнього зразка (об'ємом не більше як 500 см³) відбирають разові проби (біля 5 виїмок) із 4 м² за допомогою звичайної ручної лопати. Для більшості агроценозів польових культур проби ґрунту доцільно відбирати з верхнього шару ґрунтового профілю до глибини 15-30 см (основної зони росту коріння рослин). При обстеженні деревних рослин у насадженнях проби ґрунту відбирають до глибини 40 см у радіусі 1 м навколо штампів окремо ростучих дерев (рис. 5.3). Проби ґрунту можуть бути як точковими (відібрані за один прийом з одного місця), так і об'єднаними (суму спільних точкових порцій-проб із однієї типової ділянки змішують разом). Умови відбирання проб повинні бути однаковими в усіх варіантах. Визначаються та фіксуються місця відбору проб ґрунту (координати точок відбору). До кожної проби ґрунту додається супровідний листок, в якому фіксують відомості про тип ґрунту, тип рослинності (сільськогосподарської культури), порядковий номер, дату відбору, глибину

відбору тощо. Ґрунтову пробу (об'єднану пробу) разом з етикеткою переносять в торбинку чи коробочку і направляють на аналіз в лабораторію.

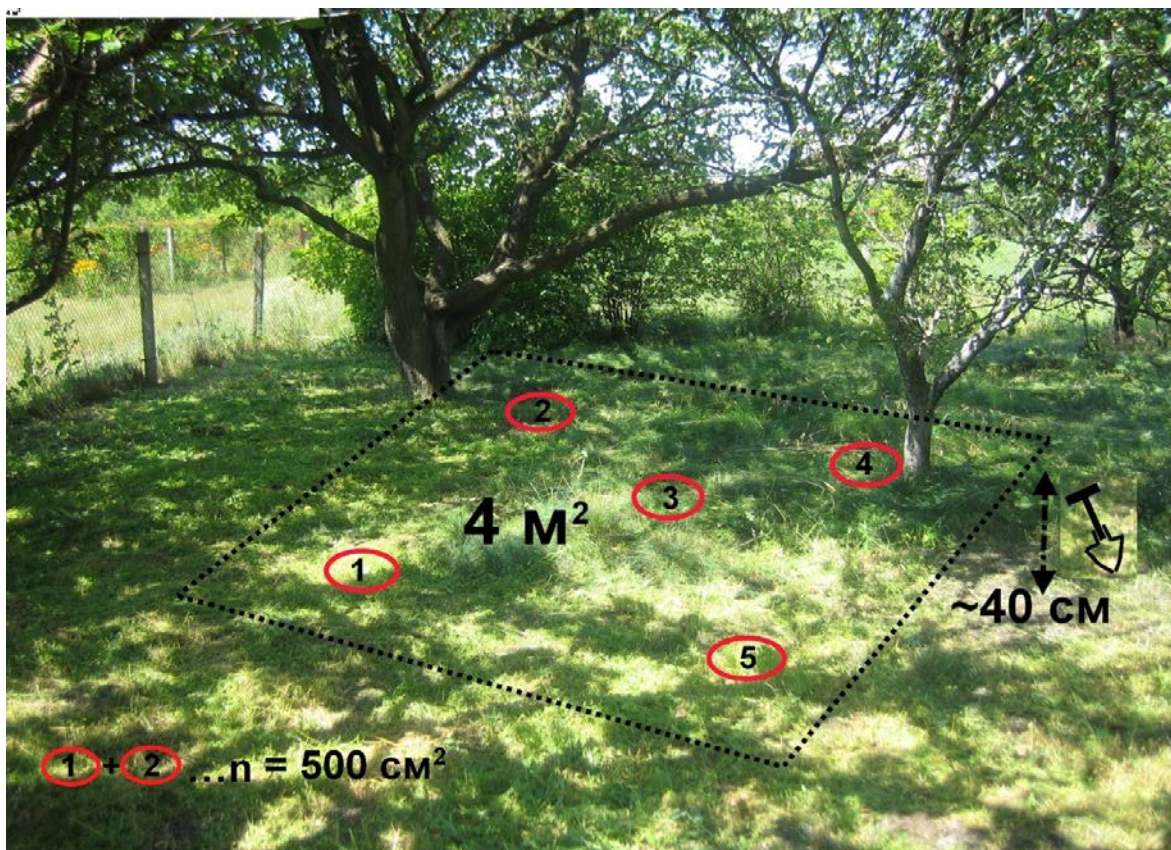


Рис. 5.3. Особливості відбору проб ґрунту за рандомізованим типом у насадженнях плодоносного саду. *Оригінал.*

На відміну від рандомного відбору ґрунтових проб, інший спосіб – систематичний, як правило, доцільно застосовувати в якості спеціального дослідження у конкретній (демаркованій) області протягом визначеного періоду часу. Наприклад, для оцінки сезонного розподілу ЕПН у ґрунті на елементарній ділянці (полі) взяття однотипних проб передбачається через певні інтервали у часі та просторі. Репрезентативність проб повинна забезпечувати якомога повніше й точніше вивчення розподілу, відносної чисельності (заселеності) ентонематод тощо. Точність нематологічного обстеження значною мірою залежить від площі елементарної ділянки та кількості відібраних з неї точених (індивідуальних) проб, з яких складається

репрезентативний змішаний (об'єднаний) зразок ґрунту для нематологічного аналізу. Як засвідчив аналіз літератури (Orozco *et al.*, 2014; Яковлев, Харченко, 2015), єдиного спільного стандарту щодо процедури відбору проб ґрунту немає, і дана методика потребує стандартизації. Тому, вважаємо за необхідне у подальшому створення «локального стандарту» залежно від зони, ґрунтового-кліматичних умов, типу агроценозу тощо.

Закладання ґрунтових «живих» пасток. Окрім безпосереднього відбору ґрунтових проб, для виявлення ентомопатогенних нематод застосовують метод т. зв. ґрунтових «живих» пасток із використанням сприйнятливих тест-комах, що мешкають поза ґрунтом. Такі комахи найбільш чутливі до інфекції ентомопатогенів у ґрунті, що в свою чергу підвищує чутливість даного методу, порівняно із безпосереднім відбором проб ґрунту. У якості відповідних хазяїв можна розглядати личинки великої воскової моли *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae), або ж незрілі стадії інших видів комах з різних родин та/або рядів (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera тощо).

По дві особини личинок *G. mellonella* останньої вікової стадії поміщають у сферичні капсули з металевої сітки і закопують у ґрунт на глибину до 10 см у агроценозах польових угідь, та на глибину до 20-30 см в радіусі 1 м від штамбу дерева, куща (у садових ценозах, групових насадженнях тощо), позначивши місце їх знаходження. У якості подібних капсул рекомендуємо використовувати металеві ситечка для заварювання чаю (рис. 5.4). Через 5-6 днів тест-комах виймають для подальшого аналізу в лабораторних умовах.



Рис. 5.4. Загальний вигляд ґрунтових «живих» пасток із вміщеними личинками *G. mellonella*. Оригінал.

Збір мертвих комах-хазяїв. Окремо проводять збір загиблих особин комах безпосередньо вручну, які потрапляють в поле зору (здебільшого добре помітних, великих за розміром), з подальшим встановленням причин загибелі. Комах збирають пінцетом або безпосередньо руками і поміщають в завчасно приготовлені пробірки тощо. Перевага даного методу полягає в тому, що інформація про гостальну специфічність та патогенність ЕПН отримується безпосередньо від комах-хазяїв заражених у природних умовах, тим самим дозволяючи отримати ізоляти ЕПН, специфіка яких обумовлюється специфікою хазяїна, у якому вони були виявлені, що не може бути виявлено, наприклад, методом «живої» пастки.

3-й етап. Ізоляція / виділення нематод із ґрунтових проб та їх жертв – комах-хазяїв. З метою ізоляції ЕПН із відібраних проб ґрунту доцільно застосовувати метод біопроби (біотестування) чи лійковий метод за Берманом в лабораторних умовах (рис. 5.5).

При застосуванні першого методу, ґрунтові проби ретельно перемішують, вилучають різноманітні камінці, залишки рослин та відбирають 500 см³ заповнюючи пластикові стакани, у кожен з яких вносять по 3–5 личинок старшого віку великої воскової молі *Galleria mellonella* (або ж незрілі стадії інших видів комах). Ґрунт, при необхідності, зволожують відстояною водопровідною водою за допомогою ручного обприскувача, з метою підвищення здатності нематод до руху в напрямку жертв. Стакани з ґрунтом, в свою чергу, обв'язують бяззю і розміщують на піддоні, перевертаючи догори дном. Кожен стакан підписують (дата та місце відбору проб) і залишають для експозиції на 5–6 діб. Кожного дня оглядають стан гусениць, вилучають загиблих та замінюють їх новими (рис. 5.6).

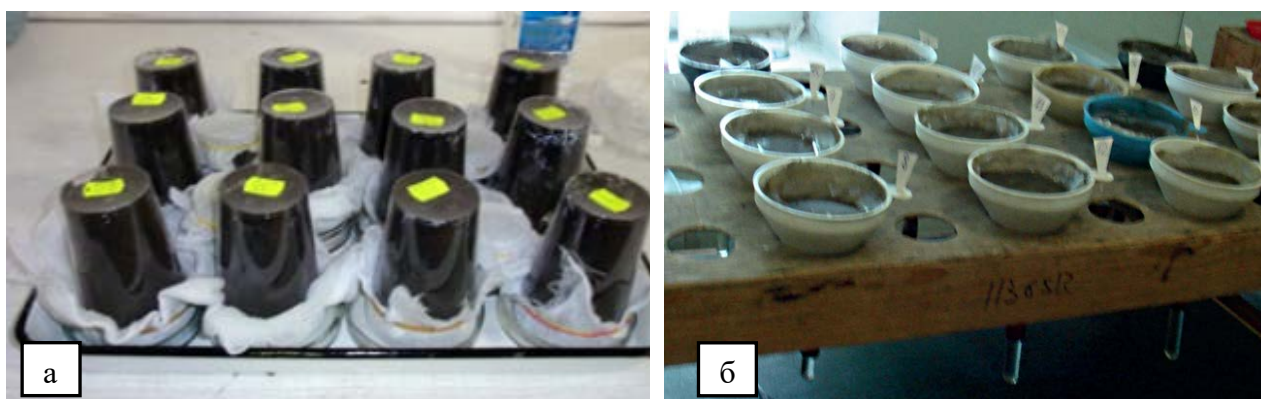


Рис. 5.5. Ізоляція ентомопатогенних нематод із проб ґрунту: (а) – метод біопроб; (б) – лійковий метод Бермана. Оригінал.

Для виявлення інвазійних личинок ЕПН, а також інших червоподібних видів нематод, використовують свіжовідібрані вологі ґрунтові проби і застосовують лійковий метод Бермана (рис. 5.5). Для цього пробу ґрунту (об'ємом близько 50 см³) розміщують на молочний фільтр (або туалетний папір) та поміщають на металеву сітку, яку у свою чергу, занурюють у лійку, заповнену водою. На вузький кінець лійки прикріплюють гумову трубку разом з приєднаною до неї хімічною пробіркою. Лійку із ґрунтом залишають

на 72 год., з метою виходу нематод у воду та подальшим осіданням їх на дно пробірки. Після цього пробірки знімають та аналізують.



Рис. 5.6. Загибла личинка великої воскової молі *Galleria mellonella* з ознаками ураження *Heterorhabditis* sp. при використанні методу біопроби. Оригінал.

Провівши порівняння основних методів ізоляції ЕПН із ґрунту, ми дійшли висновку, що найбільш зручним у практичному застосуванні спеціалістами слід вважати метод біопроби, у порівнянні з лійковим методом Бермана, при використанні якого дослідник стикається з деякими труднощами, зокрема вимагає від нього високого рівня знань із морфології та таксономії різних груп червоподібних нематод (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Порівняльна оцінка результативності основних методів ізоляції еномопатогенних нематод з ґрунту

Критерії	Методи	
	за Берманом	Біопроба
Виділення нематодної популяції	Різнорідна	Одна

Критерії	Методи	
	за Берманом	Біопроба
Виділення нематодної популяції	Різнорідна	Одна
Складність роботи	Висока	Низька
Створення лабораторної культури	Можливо	Так
Стадії виділення	Дауер-личинка	Усі
Рівень таксономічних знань	Високий	Помірний
Можливість таксономічних робіт	Ні	Так
Кількісні дані	Так	Так

Для виділення нематод із загиблих комах-хазяїв, цілком придатними є два способи – застосування «водної пастки» Уайта, або ж проведення «гельмінтологічного розтину» (рис. 5.7).

Водна пастка Уайта являє собою заповнену 20 мл дистильованою водою чашку Петрі (Ø100 мм), котра, у свою чергу, містить перевернуту чашку Петрі меншого розміру (Ø50 чи Ø60 мм) з вологим фільтрувальним папером посередині, на якому розміщуються комахами із симптомами нематодної інфекції (див. рис. 5.2). Через 10-25 (в залежності від виду і штаму ЕПН) днів спостерігають за евазією та подальшою міграцією інвазійних личинок (ІЛ) по вологому фільтрувальному паперу в шар води (прояв позитивного гідротаксису) на дні більшої (Ø100 мм) чашки Петрі (рис. 5.7).

Для збереження життєдіяльності інвазійних личинок для подальшого їх використання (лабораторного культивування, експериментального зараження тощо), всі виявлені ізоляти ЕПН зберігають окремо у вигляді водної суспензії в 250 мл конічних колбах в холодильнику при температурі 4°C у 0,001% розчині формаліну в фізіологічному розчині (Яковлев, 2017) кухонної солі з концентрацією 1000–3000 екз. нематод/мл. У таких умовах інвазійні личинки ЕПН досить довго (від 6 до 12 місяців) зберігають свою життєздатність. Періодично здійснюють перевірку нематод, зазвичай стейнернематиди

зберігаються довше ніж гетерорабдитиди, без необхідності субкультивування, останні потребують більш періодичних перевірок при зберіганні.

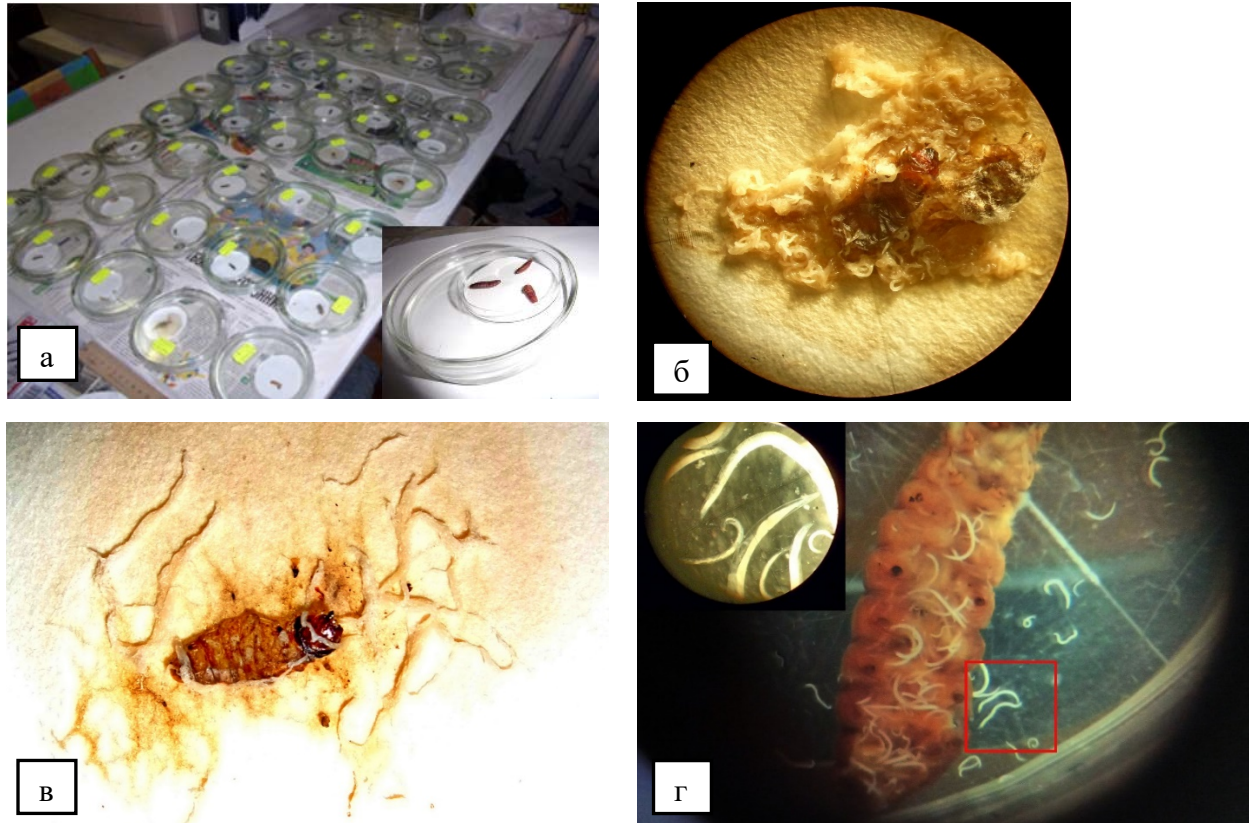


Рис. 5.7. Виділення ентомопатогенних нематод: (а), (б), (в) – методом пасток Уайта: а – загальний вигляд пастки Уайта, б – вихід (евазія) ентомопатогенних нематод із трупа *G. mellonella*, в – міграція інвазійних личинок від залишків тіла комах-хазяїна в сторону води (позитивний гідротаксис); (г) – методом гельмінтологічного розтину (виділений фрагмент більш крупним планом). Оригінал.

Окрім цього, для діагностики нематодного захворювання, комах піддають гельмінтологічному розтину з подальшим ретельним переглядом тканин та органів під стереоскопічним мікроскопом МБС-9 (рис. 5.7; рис. 5.8). Перш ніж приступати до мікроскопування, досліджуваних комах попередньо поверхнево стерилізують для видалення сапрофітної мікрофлори, для чого швидко проводять їх через полум'я спиртівки або занурюють у

дезінфікуючі рідини з наступною промивкою у стерильній воді: 70%-ий етиловий спирт (5 хв.), 5%-ий розчин формаліну (15 хв.). При ураженні комах нематодами і гельмінтами у водному, неокрашеному препараті при малому та великому збільшенні мікроскопа проглядаються всі стадії розвитку червів (рис. 5.8).

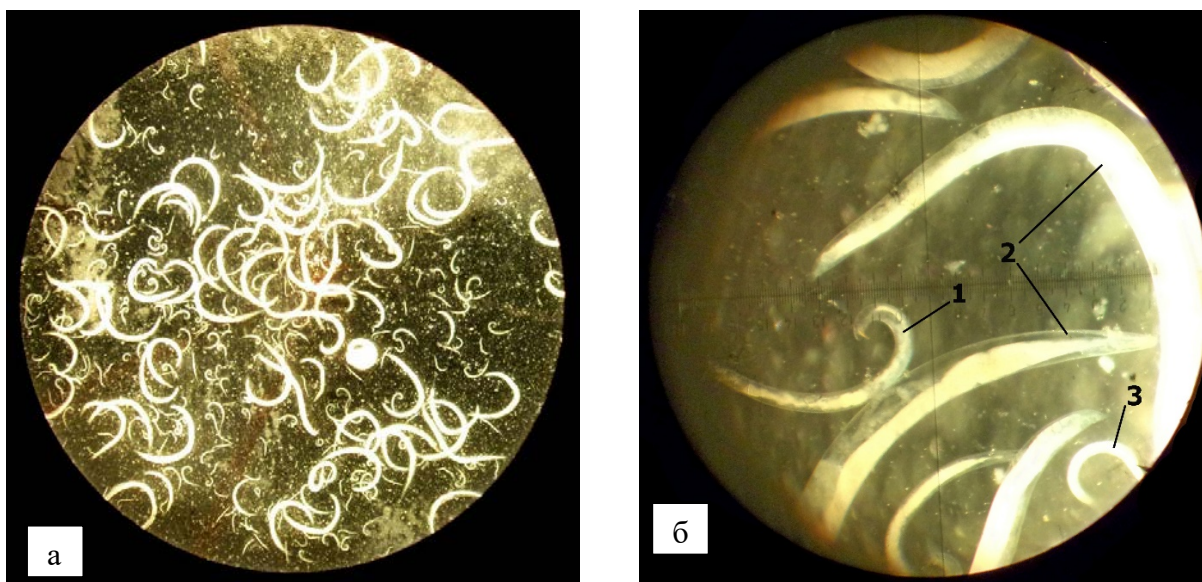


Рис. 5.8. а – морфологічна картина різних стадій розвитку ентомопатогенних нематод; б – загальний вигляд самців (1), самиць (2) і личинок (3) ентомопатогенних нематод. *Оригінал*.

Наступні етапи моніторингу:

(4) розмноження виявлених ізолятів нематод у «чистій культурі»,
(5) штучне інфікування тест-комах «чистою культурою» нематод,
(6) повторне виділення / ізоляція нематод від експериментально заражених тет-комах, виконуються в лабораторних умовах і їх основний зміст полягає у дотриманні класичних постулатів Коха (критеріїв встановлення причинно-наслідкових зв'язків між мікроорганізмом та хворобою: завжди виявляють в організмі хворих, у яких спричинює ідентичні зміни; може культивуватися; може заражати).

4-й етап. На цьому етапі здійснюють **культивування виявлених ізолятів нематод методами *in vivo* та/або *in vitro*** в лабораторних умовах.

Методи «*in vivo*» передбачають використання комах-хазяїв для культивування нематод. Використання відповідного хазяїна є ключовим фактором для успішного розмноження ЕПН *in vivo*. Зазвичай, представники стейнернематид та гетерорабдитид можуть розмножуватися і успішно завершувати свій життєвий цикл у личинках великої воскової моли *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Однак, у якості відповідних хазяїв, можна розглядати незрілі стадії інших видів комах з різних родин та/або рядів (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera тощо).

Якщо відповідний хазяїн недоступний або якщо цього вимагають умови експерименту, для культивування ЕПН можна використовувати методи «*in vitro*». Ці методи використовують спеціальні середовища (наприклад, печінково-нирковий агар, ліпідний агар), інгредієнти яких є багатим джерелом поживних речовин для успішного росту і розмноження нематод з їхніми симбіотичними бактеріями або без них (залежно від мети дослідження можуть передбачати або не передбачати включення бактерій-симбіонтів у середовище) (McMullen J.G., Stock S.P., 2014).

5-й етап проводять з метою **підтвердження етіологічної ролі ЕПН** (згідно постулатів Коха) шляхом застосування попереднього методу культивування ЕПН «*in vivo*» на личинках *G. mellonella* (див. 4-й етап, порядок проведення такий самий).

Для цього спочатку за допомогою просякненої ефіром (хлороформом чи етилацетатом) шерстяної нитки анестезують дослідних комах, а потім обприскують суспензією нематод (з розрахунку 100 інвазійних личинок/комахи) у попередньо простерилізованих чашках Петрі з вкладеним фільтрувальним папером. Чашки Петрі із зараженими тест-об'єктами витримують у затемненому місці чи при розсіяному світлі (з метою імітації природних умов зараження у ґрунті) при кімнатній температурі (22-24 °C).

6-й етап ставить за мету **повторне виділення** (згідно постулатів Коха) нематод від експериментально заражених тет-комах *G. mellonella* із використанням гельмінтологічного розтину, а також з метою отримання

різних стадій онтогенезу (1-ї та 2-ї генерації) ізолятів ЕПН для подальшої їх фіксації (див. 3-й етап, порядок проведення такий самий).

Так, проводячи розтин, на 2–3-й день після штучної інокуляції, спостерігають за утворенням першого покоління у стейнернематид (складається із самців і самиць) та гетерорабдитид (наявні тільки протерандричні гермафродити, що мають фенотип самиць); на 5-10-й день у стейнернематид, а дещо пізніше (на 7-10-й день) у гетерорабдитид, спостерігають за утворенням другого покоління, що складається із самців і самиць. Зазвичай, через 7-10 днів у стейнернематид, а через 9-11 днів у гетерорабдитид утворюється ще одне – третє покоління, що представлене також самцями та самицями. (Примітка. Не береться до уваги при визначенні видової належності). Останнє покоління нематод вичерпує запаси їжі в трупі хазяїна *G. mellonella*, і ювенільні нематоди розвиваються у так звану інвазійну личинку, які евазують (мігрують) у зовнішнє середовище.

Усіх досліджуваних нематод фіксують у розчині ТАФ (2 мл триетаноламіну, 7 мл 40% розчину формальдегіду на 91 мл дистильованої води) та витримують у закритому від прямих сонячних променів місці протягом доби. Після цього, нематод відмивають у дистильованій воді та вміщують у розчин Зайнхорста №1 (95% етиловий спирт, гліцерин та дистильована вода у співвідношенні 20:1:79) та витримують 12 годин, після чого переміщають до розчину Зайнхорста №2 (95% етиловий спирт та гліцерин у співвідношенні 95:5).

7-й етап. Ідентифікація родової та видової належності ЕПН. Ідентифікацію ЕПН на родовому рівні можна здійснити за допомогою непрямих методів. Основою непрямого методу є оцінка патологічного стану хазяїна, а саме: характерна зміна кольору зовнішніх покривів тіла (епікутикули) уражених комах під дією симбіотичних бактерій нематод на яскраво малиново-червоний (характерна для *Heterorhabditis* spp.) чи різні градації сірого, злегка жовтуватого кольору (характерна для *Steinernema*

spp.), дозволяючи тим самим здійснити первинну родову диференціацію перед остаточною (див. 1-й етап, рис. 5.2).

Судження щодо родової та видової належності ЕПН може вважатись остаточною лише у випадку прямих методів ідентифікації, зокрема морфологічних та морфометричних досліджень. Для успішного виконання цього етапу проводять виготовлення напів-постійних тотальних мікропрепаратів на водно-гліцериновій основі, та здійснюють їх перегляд із використанням методів світлової мікроскопії. Проводять вибірку нематод – не менше 10 ос. личинок (L3), самців (♂) і самиць (♀) 1-ї та 2-ї генерацій під стереоскопічним мікроскопом, вибираючи останніх ентомологічною голкою на предметне скло в краплину розчину гліцерину (16 частин води + 1 частина гліцерину), пофарбованого поліхромною синькою, і закривають покривним скельцем, останнє покривають лаком. Після цього препарати витримують 1-2 доби при температурі не більше 40°C в термостаті, з метою рівномірного профарбування їх внутрішньої будови синькою, що в подальшому полегшить процес мікроскопування.

Проводять огляд діагностичних ознак та вимірювання під світлооптичним мікроскопом різних стадій онтогенезу нематод (у першу чергу L3 та ♂). Видову належність ентомопатогенних нематод обох родів визначають за загальноприйнятими абсолютними вимірами (і їх співвідношеннями), у т. ч. індексами Де Мана (Nguyen, 2007).

8-й етап. Картування осередків субпопуляцій ЕПН. За результатами аналізу зібраної інформації щодо заселеності проб та складу ентомопатогенних нематод (ЕПН) проводять картографічне оформлення з метою з'ясування характеру розподілу популяцій (видів) ЕПН на полі (стації) (рис. 5.9).

Також вираховують відносну чисельність – частку проб (у %), у яких було виявлено ЕПН певного роду / виду на елементарній ділянці (полі) за формулою (5.1):

$$Ch_{63} = (n / N) \times 100 (\%), \quad (5.1)$$

де Ch_{63} – відносна чисельність (заселеність); n – кількість проб, у яких виявлено ЕПН певного роду / виду; N – загальна кількість відібраних і проаналізованих проб.

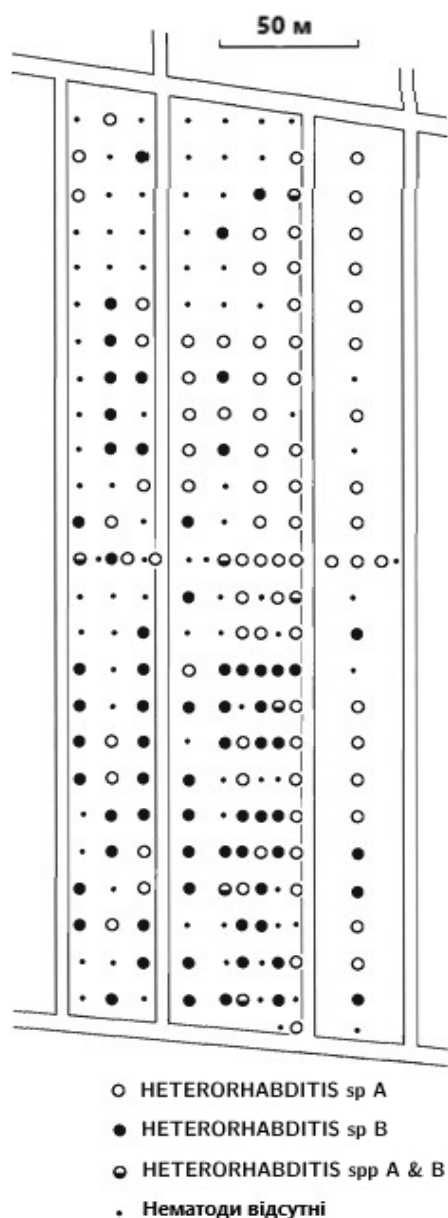


Рис. 5.9. Приклад картування розподілу та складу популяцій ентомопатогенних нематод (за: Akhurst *et al.*, 1992. Розподіл *Heterorhabditis* spp. на трьох полях цукрової тростини за результатами біотестування проб ґрунту (взяття проб з інтервалом 15 м))

9-й етап. Визначення біопотенціалу (ентомоцидної активності) ЕПН. Проводять у лабораторних умовах з метою визначення впливу на домінантні шкідливі види комах з різних родин та/або рядів (кількісно-

якісний склад ентомофауни встановлено під час ентомологічних обстежень в агроценозі на першому етапі) аборигенних популяцій (видів) ЕПН. Для цього проводять експериментальне зараження дослідних комах водною суспензією інвазійних личинок (ІЛ) усіх виявлених ізолятів (видів) нематод у попередньо простерилізованих чашках Петрі наступним чином: 1. Кладуть два 9 см шматки фільтрувального паперу на кришку чашки Петрі (Ø100 мм); 2. Рівномірно наносять необхідну кількість ІЛ на фільтрувальний папір в 1 мл води (як правило концентрації 10, 25, 50 чи 100 ІЛ/комаху; контроль – дистильована вода); 3. Додають одну (або більше) комаху-хазяїна(-ів) і накривають перевернутою кришкою чашки Петрі; 4. Поміщають чашку Петрі в поліетиленовий пакет для збереження вологості та інкубують при потрібній температурі; 5. Реєструють смертність комах (у %) з інтервалом у 24 год. Виймають і промивають мертву комаху. Шляхом гелмінтологічного розтину перевіряють наявність та підраховують кількість нематод.

Штами (ізоляти) ЕПН стосовно ентомоцидної активності проти тих чи інших комах можуть бути згруповані за вираженістю своїх патогенних властивостей, як: високо-, помірно- чи слабоінвазивні, та неінвазивні.

Заключним етапом моніторингу слід вважати **складання прогнозу** щодо рівня потенційної «шкідливості» аборигенних популяцій (видів) ЕПН для тих чи інших комах-шкідників в агроценозі (грунто-живучих та приховано-живучих видів зокрема), **та рекомендацій** щодо збереження природних популяцій ЕПН в агроценозі.

Щодо аналізу предикторів необхідних для збереження ЕПН в агроценозі, то тут головною метою є відстеження змін, що відбуваються чи то під впливом природних явищ, чи то внаслідок антропогенних факторів (останні, звичайно, більш значущі для агроценозів). Серед предикторів, які обумовлені людською діяльністю, найбільш істотними є особливості ведення землекористування: інтенсивна сільськогосподарська експлуатація земель збіднює видову різноманітність мікробіоценозів агроєкосистем, істотно знижує щільність популяцій корисних організмів-біоагентів (у т. ч. ЕПН), які

контролюють шкідників. Навпаки, використання раціональних відновлювальних, менш інтенсивних методів, покращує біологічне різноманіття ґрунтів, оскільки кількість корисних видів буде перевищувати шкідників і патогенів (Wall *et al.*, 2015).

За потреби, якщо результати моніторингу засвідчили відсутність ЕПН у даному агроценозі, то застосовують поповнення (збагачення) їх шляхом інтродукції (завезення з однієї зони в іншу та пристосування їх до існування в нових умовах) чи внутрішньо-ареального розселення (переселення в межах ареалу). Якщо ж заселеність їх недостатня, то використовуються способи котрі сприяють поширенню та розмноженню аборигенних субпопуляцій ЕПН (наприклад, застосування комплексу заходів спрямованих на збереження хорошого дренажу ґрунту, контроль низького рівня рН і додавання піску до ґрунтів тощо).

Таким чином, запропонована нами багатоетапна система ентомонематологічного моніторингу агроценозів польових культур (багаторічних насаджень) являє собою досить складний феномен, що має міжгалузевий чи міждисциплінарний характер (інтегрує знання з інших наукових галузей: ентомології, мікробіології, нематології тощо), кожен етап моніторингу має свої особливості. При проведенні моніторингу дотримуються його основних принципів: безперервність спостереження за об'єктами, періодичність зняття інформації про об'єкти моніторингу.

1. Сігарьова Д.Д., **Ковтун А.М.**, Харченко В.В. Ентомопатогенні нематоди в системі захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 280-290.
2. **Ковтун А.М.** Розробка концепції комплексного ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. *III Всеукраїнська науково-практична конференція: "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024"*. (Житомир, 31 травня 2024 р.). Житомир, 2024. С. 45-46.

Висновки до розділу 5

1. Більша частина наукової інформації у вітчизняному мікробіологічному захисті рослин, як складової інтегрованого захисту зосереджена на бактеріях, грибах, вірусах, як потенційних біоагентах – збудниках хвороб комах-шкідників у агроценозах. Щодо нематод інформація вкрай незначна (розпорошена по окремих елементах, ланках) або зовсім відсутня.

2. Розроблено та теоретично обґрунтовано принципово нову концептуальну схему – ентомонематологічний моніторинг нематод – патогенів комах (Nematoda: Rhabditida) – від виявлення й ізоляції (виділення) ентомопатогенів, до аналізу (оцінки) предикторів, необхідних для збереження і підвищення ефективності їх в агрофітоценозах. Весь процес моніторингу включає десять послідовних етапів, кожен із яких має свої особливості, і які фіксуються в чіткій послідовності. Ентомонематологічний моніторинг являє собою досить складний феномен, що має міжгалузевий характер.

Проведені у розділі дослідження викладені у публікаціях автора Додатку Б [15, 16] та Додатку В [9].

ВИСНОВКИ

1. Результати нематологічного аналізу 312 проб (220 ґрунтових проб + 92 ґрунтових пасток), відібраних із агроценозів України засвідчили, що 46 (14,7%) серед них виявились позитивними щодо ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae).

2. Ентомопатогенні нематоди виділено із агроценозів зони Полісся та Лісостепу України – Житомирська, Чернігівська та Київська області. Уперше виявлено локалітети ентомопатогенних нематод *Steinernema* spp. та *Heterorhabditis* spp. в зоні Полісся (Житомирська та Чернігівська області).

3. Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод віднесено до трьох видів: два представника – *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982 та *Steinernema* ex gr. «*glaseri*» до роду *Steinernema* Travassos, 1927 родини Steinernematidae, та один вид – *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar, 1976 до роду *Heterorhabditis* Poinar, 1976 родини Heterorhabditidae. Один із них був звичайним та поширеним (*S. carpocapsae*), інші – відносно звичайними та рідкісними (*S. ex gr. «glaseri»*, *H. bacteriophora*).

4. Поширення (% проб) та родова (видова) різноманітність ентомопатогенних нематод значно варіювали в залежності від місць обстежень, типу агрофітоценозу, а також від домінуючого виду-утворювача агроценозу. Відносний показник заселеності ентомопатогенних нематод в районах зони Лісостепу не достовірно перевищував (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) зону Полісся – 16,9% та 13,6% заражених проб відповідно. У зоні Степу не виявлено ентомопатогенних нематод. Багаторічні насадження у порівнянні з посівами польових культур статистично достовірно більше заселені ентомопатогенними нематодами у 4,8 разів (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$).

5. За частотою трапляння переважали стейнернематиди над гетерорабдитидами (60,8% проти 39,2% від загальної кількості ЕПН-позитивних проб), але виявлені відмінності не мали достовірного характеру (U-критерій Манна-Уїтні; $p > 0,05$) і носили характер тенденції. Представники

роду *Steinernema* надавали перевагу польовим культурам, на відміну від нематод з роду *Heterorhabditis*, яких виділяли виключно із багаторічних насаджень (плодоносні сади, плантації декоративних культур). Чіткої приуроченості видів ЕПН до конкретних культур сільськогосподарських не спостерігається, але характерним є деяке тяжіння *Heterorhabditis bacteriophora* до культур кісточкових, зерняткових та ягідних, видів роду *Steinernema* до культур зернових та зернобобових, культур технічних.

6. Аналіз щодо особливостей морфологічної мінливості популяцій виявлених видів ентомопатогенних нематод з родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* залежно від різних природних зон країни засвідчив, що такий фактор як географічна віддаленість, відіграє незначну роль у морфології ентомопатогенних нематод.

7. Мікроскопічний гелмінтологічний аналіз зібраних (відловлених) у природних умовах потенційно хворих та загиблих ґрунтових комах-хазяїв ентомопатогенних нематод – не виявив у них цільових ентомопатогенів.

8. Результати досліджень свідчать про досить значну заселеність агроценозів України нематодами – патогенами комах, та їх переважання у ґрунтах агроценозів у порівнянні з деякими іншими ентомопатогенами (Fungi, Bacteria, Insecta), що призводять до інфекційних та паразитарних захворювань комах.

9. Уперше зареєстровано явище гіперпаразитизму у тілі загиблих комах *Galleria mellonella* в природних умовах при виявленій мікст-інфекції, а саме – ентомофаго-нематодній паразитарній асоціації.

10. Порівняльна оцінка патогенності та репродуктивних показників місцевого ізоляту ентомопатогенних нематод (*Steinernema* sp.) з комерційним препаратом Entonem (Нідерланди) на цільових об'єктах (*Melolontha melolontha* L.) в лабораторних умовах засвідчила про стійку інсектицидну дію щодо комах родини Scarabaeidae: через 4-и дні гине 100% комах, що контактували з ентомопатогенами шляхом нанесення їх у вигляді суспензії з розрахунку 100 інвазійних личинок/комаху, а кількість інвазійних личинок,

які евазували після загибелі з тіла хазяїна, у середньому із однієї комахи складала 92 369 шт. особин.

11. Розроблено теоретико-методологічні засади та практичні рекомендації щодо здійснення ентомонематологічного моніторингу в агроценозах.

Довідки про впровадження результатів дослідження наведено у Додатку А.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для поліпшення екологічного і фітосанітарного стану агроценозів та зменшення пестицидного навантаження на агроecosистему необхідне широке впровадження екологічно безпечних заходів контролю шкідливих комах:

- проводити моніторинг корисних організмів – ентомопатогенних нематод в агроценозах для встановлення видового складу, їх розподілу та гостальної специфічності;

- визначати біопотенціал (ентомоцидну активність) аборигенних ізолятів еномопатогенних нематод щодо домінуючих видів шкідників досліджуваного агроценозу.

2. Для контролю чисельності шкідників у агроценозах:

- виробникам біологічних препаратів пропонується новий високоінвазивний штам *Steinernema* sp. DD-5 (водна суспензія з концентрацією ~1000 екз. нематод/мл), що проявляє стійку інсектицидну дію проти місцевих ґрунто-живучих комах (Scarabaeidae), зокрема західного травневого хруща (*Melolontha melolontha* L.);

- застосовувати біологічний препарат Entonem (Koppert Biological Systems, Нідерланди) проти личинок західного травневого хруща *Melolontha melolontha* L. згідно рекомендацій виробника (за умов реєстрації препарату в Україні і подальшого включення до Переліку пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abd-Elgawad Mahfouz M. M., Spiridonov Sergei E. Entomopathogenic Nematode Application in Egypt and Russia: Challenges and Opportunities. *Egypt. J. Agronematol.* 2014. Vol. 13(2). P. 1-22.
2. Adams, B.J., Nguyen, K.B. Taxonomy and systematics. In: Gaugler, R. (Ed.). *Entomopathogenic nematology*. 2002. Wallingford, UK, CABI Publishing. P. 1-33.
3. Akhurst, R., Bedding, R.A., Bull, R.M., Smith, D.R. An epizootic of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda) in sugar cane scarabaeids (Coleoptera). *Fundamental & Applied Nematology*. 1992. Vol. 15(1). P. 71-73.
4. Alrubei, H.F. and M.A.J. Al-Izzi. Laboratory rearing of *Gallaria mellonella* on artificial diet. *J. Biol. Sci. Res.* 1986. Vol.17(1). P. 57-64.
5. Artyukhovsky, A.K., Kozodoi, E.M., Reid, A.P. Spiridonov, S.E. Redescription of *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky, 1967) topotypes from Central Russia and a proposal for *S. anomalae* (Kozodoi, 1984) as a junior synonym. *Russian Journal of Nematology*. 1997. Vol. 5. P. 31-37.
6. Bhat, A.H., Chaubey, A.K., Askary, T.H. Global distribution of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* and *Heterorhabditis*. *Egypt J Biol Pest Control*. 2020. Vol. 30:31. P. 1-15. <https://10.1186/s41938-020-0212-y>
7. Bovien, P. Some types of association between nematodes and insects. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening, København* 101. 1937. P. 1-114.
8. Burnell, A.M., Stock, S. Patricia. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their bacterial symbionts – Lethal pathogens of insects. *Nematology*. 2000. Vol. 2. P. 31-42. <https://10.1163/156854100508872>
9. Bedding, R.A., Akhurst, R.J. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*. 1975. Vol. 21(1). P. 109-110. <https://doi.org/10.1163/187529275X00419>

10. Cesar Ornat, Mahfouz M.M. Abd-Elgawad, Francisco J. Sorribas. Native isolates of entomopathogenic nematodes in Spain and Egypt and development of *Meloidogyne javanica* on tomato. *XLIII ONTA Annual Meeting* (Abstract book). Coimbra, Portugal. 2011. P. 147.
11. Ciche T. The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora*. In Jonathan Hodgkin and Philip Anderson (Eds.), *WormBook*. The *C. elegans* Research Community, WormBook. 2007. P. 1-9. <https://doi.org/10.1895/wormbook.1.135.1>
12. Clavijo McCormick A, Unsicker SB, Gershenzon J. The specificity of herbivore-induced plant volatiles in attracting herbivore enemies. *Trends Plant Sci.* 2012. Vol. 17(5). P. 303-310. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.03.012>
13. Deka B., Baruah C., Babu A.. Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 2021. Vol. 31(1). P. 1–8. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00466-7>
14. Dzięgielewska, M. Occurrence of entomopathogenic nematodes of the family Steinernematidae and Heterorhabditidae in orchards chemically protected and unprotected. *Progress in plant protection*. 2012. Vol. 52 (2). P. 415-420.
15. Ebrahimi L., Niknam G., Dunphy G. B. Hemocyte responses of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, and the greater wax moth, *Galleria mellonella*, to the entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Insect Science*. 2011. Vol. 11(75). P. 1-13. <https://doi.org/10.1673/031.011.7501>
16. Enrique E. Perez, Edwin E. Lewis. Use of Entomopathogenic Nematodes to Suppress *Meloidogyne incognita* on Greenhouse Tomatoes. *Journal of Nematology*. 2002. Vol. 34(2). P. 171-174.
17. Fatma H. Abd El-Zaher, Mahfouz M. M. Abd-Elgawad. Assesment Of The Antagonistic Potential For The Bacterial Symbionts Of Entomopathogenic Nematodes. *Journal of Applied Sciences Research*. 2012. Vol. 8(8). P. 4590-4599.
18. Fenton, A., Magoolagan, L., Kennedy, Z. and Spencer, K.A. Parasite-induced warning coloration: a novel form of host manipulation.

Animal Behaviour. 2011. Vol. 81(2). P.417-422.
<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.11.010>

19. Glazer I., Alekseev E., Samish M. Factors affecting the virulence of entomopathogenic nematodes to engorged female *Boophilus annulatus* ticks. *The Journal of Parasitology*. 2001. Vol. 87(4). P. 808-812.

20. Griffin Christine T., Downes M.J., Block W. Tests of Antarctic soils for insect parasitic nematodes. *Antarctic Science*. 1990. Vol. 2(3). P. 221-222.

21. Harry K. Kaya, S. Patricia Stock. Techniques in insect nematology. Editor(s): Lawrence A. Lacey, *Manual of Techniques in Insect Pathology*, Academic Press. 1997. P. 281-324 doi: [10.1016/B978-012432555-5/50016-6](https://doi.org/10.1016/B978-012432555-5/50016-6)

22. Heba, A., J. Trevor, J.-F. Juan Luis. *Bacterial diseases of insects*. Andrew, F. R., J. C. Christopher, M.A. Miranda (eds). *Invertebrate Pathology*. Oxford University Press, New York. 2022. P. 286-307.
<https://doi.org/10.1093/oso/9780198853756.003.0011>

23. Holovachov O. Nematodes from terrestrial and freshwater habitats in the Arctic. *Biodiversity Data Journal*. 2014. 2: e1165. doi: [10.3897/BDJ.2.e1165](https://doi.org/10.3897/BDJ.2.e1165)

24. Hominick W.M. Biogeography. In: R. Gaugler (Ed.). *Entomopathogenic Nematology*. 2002. CABI Publishing, Wallingford, UK. P. 115-143.

25. Hominick, W.M., Reid, A.P., Bohan, D.A., Briscoe, B.R. Entomopathogenic nematodes: biodiversity, geographical distribution and the convention on biological diversity. *Biocontrol Science and Technology*. 1996. Vol. 6. P. 317-331.

26. Hunt David J., Subbotin Sergei A. Taxonomy and systematics 13–58. Edited by David J. Hunt and Khuong B. Nguyen. "Preliminary Material". In *Advances in entomopathogenic nematode taxonomy and phylogeny*. 2016. Leiden, The Netherlands: Brill. https://doi.org/10.1163/9789004285347_001

27. Hunt, D.J. Overview of taxonomy and systematics. In: Nguyen, K.B. & Hunt, D.J. (Eds). *Entomopathogenic nematodes: taxonomy, phylogeny and bacterial symbionts*. Nematology Monographs and Perspectives 5 (Series editors: Hunt, D.J. & Perry, R.N.). 2007. Leiden, The Netherlands, Brill. P. 27-57.

28. Kasi Indra Kumar, Singh Mohinder, Banshtu Tanuja, Rani Priyanka, Bhatia Simran, Waiba, Kanchhi. Use of entomopathogenic nematodes for the management of insect pests of horticultural crops. *International Journal of Economic Plants*. 2022. Vol. 9(1) P. 6-13. <https://doi.org/10.23910/2/2022.0421c>
29. Khan M.R., Mehboob A., Khan U. Interaction of the entomopathogenic nematode *Steinernema masoodi* and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato. *Nematol. medit.* 2010. Vol. 38. P. 179-185.
30. Kharchenko, V., Sigareva, D., Galagan, T., Olenenko, V. Study of entomopathogenic nematodes from genera *Steinernema* and *Heterorhabditis* in Ukraine. *Abstracts of the XI European Multicolloquium of Parasitology*. Cluj-Napoca, July 25-29, 2012. P. 506-507.
31. Kovtun A., Petrenko S. Frequency of occurrence and identification of nematodes among entomopathogenic organisms in agrocoenoses of Ukraine. *GEO&BIO*. 2023. Vol. 24. P. 214–224.
32. Koppenhöferb Albrecht, Shapiro-Ilan, David Hiltbold, Ivan. Entomopathogenic nematodes in sustainable food production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 2020. Vol. 4(125). P. 1-14. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00125>
33. Korosi, G., B.A.L Wilson, K. Powell, G. Ash, A. Reineke, S. Savocchia. Occurrence and diversity of entomopathogenic fungi (*Beauveria* spp. and *Metarhizium* spp.) in Australian vineyard soils. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2019. Vol. 164. P. 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.05.002>
34. Ktherine M. Cocan, Edmour F. Blouin, Marcsha S. Pidherney, P.L. Claypool, Michael Samish, Itamar Glazer. Entomopathogenic nematodes as a potential biological control method for ticks. *Annals New York academy of sciences*. 2006. P. 355-364.
35. Labaude S, Griffin CT. Transmission success of entomopathogenic nematodes used in pest control. *Insects*. 2018. Vol. 9(2). P. 72-91. <https://doi.org/10.3390/insects9020072>

36. Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *J Invertebr Pathol*. 2015. Vol.132. P. 1-41. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>
37. Lamovsek Janja, Gregor Urek, Stanislav Trdan. Biological Control of Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.): Microbes against the Pests. *Acta agriculturae Slovenica*. 2013. Vol. 101(2). P. 263-275.
38. Lucskai, A. Identification key to entomopathogenic nematode species. *Acta Phytopathologica Et Entomologica Hungarica*. 2000. Vol. 34. P. 317-325. <https://doi.org/10.1556/APhyt.34.1999.4.7>
39. Mahfouz M. M. Abd-Elgawad, Hassan Abd-El-Khair, Faika F. H. Koura, Ahmed E. Abd El-Wahab, Sayed A. Montasser, Moustafa M. A. Hammam. Comparative effects of entomopathogenic nematodes and other biorational compounds on *Tylenchulus semipenetrans* Cobb populations on citrus. *Egypt. J. Agronematol*. 2013. Vol. 12(1). P. 74- 90.
40. Mantzoukas, S., F. Kitsiou, D. Natsiopoulos, P. A. Eliopoulos. Entomopathogenic fungi: interactions and applications. *Encyclopedia*. 2022. Vol. 2 (2). P. 646-656. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia2020044>
41. Martinez, Heriberto & Ruiz-Vega, Jaime & Matadamas-Ortíz, Pastor & Cortés-Martínez, Carlos & Rosas-Díaz, Jesusita. Formulation of Entomopathogenic Nematodes for Crop Pest Control: a Review. *Plant Protection Science*. 2017. Vol. 53. <https://doi.org/10.17221/35/2016-PPS>
42. McMullen JG, Stock SP. In vivo and in vitro rearing of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae). *J. Vis. Exp*. 2014. Vol. (91): 52096. <https://doi.org/10.3791/52096>
43. Michael Samish, Evgeny Alekseev, Itamar Glazer. Mortality Rate of Adult Ticks Due to Infection by Entomopathogenic Nematodes. *The Journal of Parasitology*. 2000. Vol. 86(4). P. 679-684.
44. Michael Samish, Itamar Glazer. Entomopathogenic nematodes for the biocontrol of ticks. *Trends in Parasitology*. 2001. Vol. 17(8). P. 368-371.

45. Milena Caccia, Paola Lax, Marcelo E. Doucet. Effect of entomopathogenic nematodes on the plant-parasitic nematode *Nacobbus aberrans*. *Biology and fertility of soils*. 2013. Vol. 49(1). P. 105-109.
46. Mohamed Zamoum, Sabiha Berchiche, Karima Sai, Oreste Triggiani, Eustachio Tarasco. Preliminary Survey of the Occurrence of Entomopathogenic Nematodes and Fungi in the Forest Soils of Algeria. *Silva Lusitana*. 2011. Vol. 19. P. 141-145.
47. Mráček, Z., Nermut', J., Půža, V. Mucron morphology in male entomopathogenic nematodes of the Steinernematidae (Nematoda). *Nematology*. 2018. Vol. 20(8). P. 769-779. <https://doi.org/10.1163/15685411-00003174>
48. Mráček, Z., Půža, V., Nermut', J. The significance of the tail projections in female entomopathogenic nematodes within the family Steinernematidae. *Journal of Helminthology*. 2016. Vol. 90. P. 249-251.
49. Mráček, Zdenek & Půža, Vladimír & Nermut', Jiří. Addendum to the description of *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding, 1982. *Russian Journal of Nematology*. 2014. Vol. 22. P. 109-120.
50. Nazir Javed, Sajid Aleem Khan, Imran-ul-Haq, M. Atiq, M. Kamran. Effect of *Steinernema glaseri* and *Heterorhabditis indica* on the plant vigour and root knot nematodes in tomato roots at different densities and time of applications. *Pakistan J. Zool.* 2012. Vol. 44(4). P. 1165-1170.
51. Negrisoli, A. S. Jr., Carla, R. C. Barbosa, A. M. Jr. Avaliacaoda compatibilidade de produtos fitossanitários com nematoides entomopatogênicos (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) utilizando o protocolo modificado da IOBC/WPRS. *Nematologia Brasileira*. 2008. Vol. 32 (2). P. 111-116.
52. Nguyen K. B. Methodology, morphology and identification, In : K. J. Nguyen and D. J. Hunt (Eds.). *Entomopathogenic nematodes : Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts*. Nematology Monographs and Perspectives 5. 2007. Brill, Leiden-Boston. P. 59-119.
53. Nguyen KB, Smart GC. Mode of entry and site of development of *Steinernema scapterisci* in mole crickets. *J Nematol*. 1991. Vol. 23. P. 267-268.

54. Nguyen KB, Smart Jr GC. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nemata: Rhabditida). *Journal of nematology*. 1996. Vol. 28(3). P. 286-300.
55. Nguyen, K.B., D.J. Hunt, Z. Mracek. Steinernematidae: species descriptions. Nguyen, K. B., D. J. Hunt (eds). *Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacterial symbionts*. Nematology Monographs and Perspectives 5. 2007. Brill, Leiden, P. 121-609.
56. Nguyen, K.B., Hunt, D.J. & Mráček, Z. Steinernematidae: species descriptions, In: Nguyen, K.B. & Hunt, D.J., (Eds.), *Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacterial symbionts*. Nematology Monographs and Perspectives 5 (Series eds: Hunt, D.J. & Perry, R. N.). 2007. Brill, Leiden, The Netherlands. P. 121-609.
57. Nielsen, O., H. Philipsen. Danish surveys on insects naturally infected with entomopathogenic nematodes. *Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes IOBC wprs Bulletin*. 2003. Vol. 26(1). P. 131-136.
58. Orozco R.A., Lee M.M., Stock S.P. Soil sampling and isolation of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Visualized Experiments*. 2014. Vol. 89. P. 1-8.
59. Pantel L, Florin T, Dobosz-Bartoszek M, Racine E, Sarciaux M, Serri M, ... Gualtieri M. Odilorhabdins, antibacterial agents that cause miscoding by binding at a new ribosomal site. *Molecular cell*. 2018. Vol. 70(1). P. 83-94.
60. Parwinder S. Grewal, Elizabeth A. B. de Nardo, Marineide M. Aguilera. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. *Neotrop. Entomol.* 2001. Vol. 30(2). P. 191-205.
<https://doi.org/10.1590/S1519-566X2001000200001>
61. Peat SM, Hyman BC, Adams BJ. Phylogenetics and population genetics of entomopathogenic and insect-parasitic nematodes. In: Stock P, Vandenberg J, Glazer I, Boemare N (eds), *Insect pathogens. Molecular approaches and techniques*. 2009. CABI, Oxfordshire. P. 166-184.

62. Pereira, C. *Rhabditis hambletoni* n. sp., nema aparentemente semiparasito da 'bróca do algodoeiro' (*Gasterocercodes brasiliensis*). *Archivo do Instituto Biologico* 8, 1937. P. 215-230.
63. Perez-Gonzalez, V. H., A. W. Guzman-Franco, R. Alatorre-Rosas, J. Hernandez-Lopez, A. Hernandez-Lopez, M. G. Carrillo-Benitez, J. Baverstock. Specific diversity of the entomopathogenic fungi *Beauveria* and *Metarhizium* in Mexican agricultural soils. *Journal of Invertebrate Pathology*. 2014. Vol. 119. P. 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.04.004>
64. Phan, K.L., Mráček, Z., Půža, V., Nermut, J. & Jarošová, A. *Steinernema huense* sp. n. a new entomopathogenic nematode (Nematoda: Steinernematidae) from Vietnam. *Nematology*. 2014. Vol. 16. P. 761-775.
65. Poinar G. O. Jr., Grewal P. S. History of Entomopathogenic Nematology. *Journal of Nematology*. 2012. Vol. 44 (2). P. 153-161.
66. Poinar G.O., Jr. The presence of *Achromobacter nematophilus* in the infective stage of a *Neoaplectana* sp. (Steinernematidae: Nematoda). *Nematologica*. 1966. Vol. 12. P. 105-108.
67. Poinar JR, G.O. Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n. sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica*. 1976. Vol. 21. P. 463-470.
68. Poinar Jr. G.O. The evolutionary history of nematodes as revealed in stone, amber and mummies. In Hunt D. J., Perry R. N. (Eds.), *Nematology Monographs and Perspectives*. 2011. Vol. 9. Leiden, The Netherlands : Koninklijke Brill NV, 429 p. <https://doi.org/10.1163/9789047428664>
69. Poinar, G.O. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler, R. & Kaya, H.K. (eds.). *Entomopathogenic nematodes in biological control*. 1990. Boca Raton, FL, USA, CRC Press. P. 23-61.
70. Puza, V., E. Tarasco. Interactions between entomopathogenic fungi and entomopathogenic nematodes. *Microorganisms*. 2023. Vol. 11(163). P. 1-14. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11010163>

71. Rasmann, S., Köllner, T., Degenhardt, J. et al. Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots. *Nature*. 2005. Vol. 434. P. 732-737. <https://doi.org/10.1038/nature03451>
72. Sajid Aleem Khan, Nazir Javed, M. Aslam Khan and M. Mumtaz Khan. Effect of entomopathogenic nematodes on the invasion and development of *Meloidogyne incognita* in tomato. *Pak. J. Phytopathol.* 2009. Vol. 21(1). P. 71-76.
73. Sajnaga, E., Kazimierczak, W. Evolution and taxonomy of nematode-associated entomopathogenic bacteria of the genera *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: an overview. *Symbiosis*. 2020. Vol. 80. P. 1-13. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00660-0>
74. Serra L., Macchietto M., Macias-Muñoz A., McGill C.J., Rodriguez I.M., Rodriguez B... Mortazavi A. Hybrid assembly of the genome of the entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* identifies the X-chromosome. *G3 (Bethesda)*. 2019. Vol. 8. P. 2687-2697. <https://doi.org/10.1534/g3.119.400180>
75. Shapiro-Ilan DI, Gaugler R. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 2002. Vol. 28(3). P. 137-46. <https://doi.org/10.1038/sj.jim.7000230>
76. Shapiro-Ilan, David & Han, Richou & Dolinski, Claudia. Entomopathogenic Nematode Production and Application Technology. *Journal of nematology*. 2012. Vol. 44. P. 206-217. https://doi.org/10.1007/978-3-319-18266-7_9
77. Shishiniova M., L. Budurova, D. Gradinarov. “*Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) (Nematoda: Rhabditida) – new species for entomopathogenic fauna of Bulgaria.” *Experimental pathology*. 1998. Vol. 1. P. 30-35.
78. Shulong Chen, Xiuying Han, Moens, M. Effect of chlorpyrifos on infectivity and survival of *Steinernema feltiae*. *Russian Journal of Nematology*. 2003. Vol. 11 (1). P. 1-6.

79. Sigareva D., Kovtun A., Korniyushin V. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from agricultural ecosystems in Forest (Polissya) and Forest-Steppe natural zones of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2019. Vol. 53. P. 285-296. <https://doi.org/10.2478/vzoo-2019-0028>
80. Sikandar A., Yuan R.H., Lian X.L., Zhen M.A., Zhao P., Li F., ... Wang Y.Y. Entomopathogenic nematodes as bioinsecticides – a review. *Applied Ecology and Environmental Research*. 2021. Vol. 19(3). P. 2459-2476. https://doi.org/10.15666/AEER/1903_24592476
81. Spescha, A., M. Zwyssig, M. Hess Hermida, A. Moix, P. Bruno, J. Enkerli, R. Campos-Herrera, G. Grabenweger, M. Maurhofer. When Competitors Join Forces: Consortia of entomopathogenic microorganisms increase killing speed and mortality in leaf- and root-feeding insect hosts. *Microbial Ecology*. 2023. Vol. 86(3). P. 1–14. <https://doi.org/10.1007/s00248-023-02191-0>
82. Stefanovska T.R., Kaya, H.K., Pidlisnyuk V.V. Host range and infectivity of *Heterorhabditis bacteriophora* (Heterorhabditidae) from Ukraine. Communication in agriculture and applied biological science, Ghent University. 2008. Vol. 73(4). P. 667-674.
83. Stefanovska TR. Possibilities to use *Steinernema carpocapsae* for control of codling moth in apple orchards. In: Abstracts, 51st International Symposium on Crop Protection, Gent, Belgium. 1998. P. 137.
84. Steiner, G. *Aplectana kraussei* n. sp., eine in der Blattwespe *Lyda* sp. parasitierende Nematodenform, nebst Bemerkungen über das Seitenorgan der parasitischen Nematoden. Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene. 1923. Abteilung II 59. P. 14-18.
85. Stock, S. Patricia, Goodrich-Blair, Heidi. Entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts: The inside out of a mutualistic association. *Symbiosis*. 2008. Vol. 46(2). P. 65-75.
86. Stock, S. Patricia, Harry K. Kaya. A Multivariate Analysis of Morphometric Characters of *Heterorhabditis* Species (Nemata: Heterorhabditidae)

and the Role of Morphometrics in the Taxonomy of Species of the Genus. *The Journal of Parasitology*. 1996. Vol. 82(5). P. 806-813. <https://doi.org/10.2307/3283895>

87. Sturhan Dieter, Mráček Zdenek. The *Steinernema glaseri* group in Europe. German-Czech Programme for Cooperation in Agricultural Research. 2003. P. 1-11. URL: <https://www.researchgate.net/publication/228479715>

88. Tarasco Eustachio, Fanelli Elena, Salvemini Carlo, El-Khoury Yara, Troccoli Alberto, Vovlas, Alessio, De Luca, Francesca. Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria: from genes to field uses. *Frontiers in Insect Science*. 2023. Vol. 3. P. 1-13. <https://doi.org/10.3389/finsc.2023.1195254>

89. Tatyana Stefanovska, Shirley Luckhart, Lucas Ripa, Glen Stevens, Edwin Lewis. *Steinernema carpocapsae*. *Trends in Parasitology*. 2023. Vol. 39(5). P. 400-401. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2023.01.002>

90. Thomas, G. M., Poinar, G. O., Jr. *Xenorhabdus* gen. nov., a genus of entomopathogenic, nematophilic bacteria of the family Enterobacteriaceae. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1979. Vol. 29. P. 352-360.

91. Tkaczuk, C., A. Majchrowska-Safaryan, M. Harasimiuk. The occurrence and infective potential of entomopathogenic fungi in the soil of arable fields, meadows and forest habitats. *Progress in Plant Protection*. 2016. Vol. 56(1). P. 5-11. [In Polish]. <https://doi.org/10.14199/ppp-2016-001>

92. Travassos, L. Sobre o genero *Oxysomatium*. *Boletim Biologico*, São Paulo 5. 1927. P. 20-21.

93. Triggiani O., Tarasco Eustachio. Long nematode strains from Italy. 2003. P. 1-4. URL: <https://www.researchgate.net/publication/242204704>

94. Vafa Azin, Ayatollah Saeedizadeh. Populations of entomopathogenic nematodes in agricultural lands. *Journal of Central European Agriculture*. 2022. Vol. 23(3). P. 624-631. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/23.3.3442>

95. Wall, D. H., U. N. Nielsen, J. Six. Soil biodiversity and human health. *Nature*. 2015. Vol. 528. P. 69-76. <https://doi.org/10.1038/nature15744>

96. Wang, J.X. & Bedding, Robin. Population development of *Heterorhbditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in the larvae of *Galleria mellonella*. *Fundam. Appl. Nematol.* 1996. Vol. 19(4). P. 363-367.
97. Weiser, J. *Neoaplectana carpocapsae* n. sp. (Anguillulata, Steinernematidae) nový cizopasník housenik obalece jablecneho, *Carpocapsa pomonella* L. *Vestník Československé Zoologické Společnosti*. 1995. Vol. 19. 44-52.
98. White, G. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*. 1927. Vol. 66. P 302-303.
99. Wouts, W.M., Mráček, Z., Gerdin, S. et al. *Neoaplectana* Steiner, 1929 a junior synonym of *Steinernema* Travassos, 1927 (Nematoda; Rhabditida). *Syst Parasitol.* 1982. Vol. 4. P. 147-154. <https://doi.org/10.1007/BF00018998>
100. Yadav, K., Bharti, L., Kumar Chaubey, A. Role of entomopathogenic nematodes in organic farming and sustainable development. In: Khalid Rehman Hakeem (ed.), *Organic Fertilizers – New Advances and Applications*. 2023. IntechOpen. P. 1-25. <https://10.5772/intechopen.1001578>
101. Yakovlev Ye. B., Kharchenko V. A., Mráček Z. Findings of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida, Steinernematidae) in Nature Reserves in Ukraine. *Vestník zoologii*. 2014. Vol. 48(3). P. 167-173.
102. Yakovlev Ye. B., Kharchenko V.A., 2016. Over World Distribution of Steinernematidae, Heterorhabditidae (Nematoda, Panagrolaimida et Rhabditida) Entomopathogenic Nematodes. *Studia Biologica*. Vol. 10. P. 175-182.
103. Yakovlev Ye., Nermut' J., Půža V., Kharchenko V., Mráček Z. New record of *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky) (Rhabditida: Steinernematidae) from Ukraine and note on its distribution. *Acta Parasitologica*. 2017. Vol. 62 (2). P. 255-264.
104. Бачинська Я.О., Маркіна Т.Ю., Ликова І.О., Харченко Л.П. Доцільність використання *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) для утилізації синтетичних полімерів. *Біорізноманіття, екологія та*

- експериментальна біологія. 2020. Вип.22(1). С. 45-54.
<https://doi.org/10.34142/27085848.2020.22.1.05>
105. Білик М.О. Біологічний захист рослин від шкідливих організмів. Харків: Майдан, 2022. 356 с.
106. Білик М.О., Станкевич С.В., Забродіна І.В. Патологія комах-фітофагів. Харків: ФОП Бровін О.В., 2017. 185 с.
107. Борзих О.І. Комплекс шкідливої біоти в агроєкосистемах України. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 3-10.
108. Васильєва В.Л., Лебединець Н.М. Ентомопатогенні віруси як регулятори численності шкідливих комах. *Вестн. зоології*. 2001. Т. 35, № 4. С. 87-91.
109. Власенко В.А., Башлай А.Г., Бакуменко О.М., Перхун М.М. Біологічний метод захисту рослин в Україні. «Гончарівські читання» : Міжнародна науково-практична конференція, присвячена 91-річчю з дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора Гончарова Миколи Дем'яновича, м. Суми , 25-26 травня 2020 р. Суми, 2020. С.132-135.
110. Граціанова Н.В., Шевчук І.В., Олененко В.В. Ентомопатогенні нематоди родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* проти західного травневого хруща. *Збірник наукових праць Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків*. 2012. Вип. 14. С. 158-162. Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/znpicb_2012_14_44
111. Гусєв В. І., В. М. Єрмоленко, В. В. Свищук, К. А. Шмиговський. Атлас комах України. Київ: Рад. шк., 1962. 304 с.
112. Дядечко М.П., Падій М.М., Шелестова В.С. Біологічний захист рослин; за ред. М.П. Дядечка, М.М. Падія. Біла Церква: БДАУ, 2001. 312 с.
113. Ед Люїс, Херри Кайа, Стефановська Т.Р., Підліснюк В.В.. Сучасний стан та перспективи застосування ентомопатогенних нематод. *Вісник Кременчуцького державного політехнічного університету імені Михайла Остроградського*. 2009. Вип. 4 (57). С. 141-153.

114. Кобеза П.А., Шпиця Ю.В., Пахомов О.Є. Ентомопатогенні гриби масових видів турунів (Carabidae) центральної частини степової зони України. *Науковий вісник Ужгородського університету*. 2017. Вип. 43. С. 7-24.
115. Ковтун А.М. Ентомонематологічні обстеження агроценозів України – як джерело виявлення чинників потенційного біоконтролю комах-шкідників. *Захист і карантин рослин*. 2016а. Вип. 62. С. 133–142.
116. Ковтун А.М. Нові знахідки нематод – патогенів комах (*Steinernema* sp., *Heterorhabditis* sp.) в агроценозах Полісся та Північного Лісостепу України. *Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур*. Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Вінниця, 2016b. С. 51-52.
117. Ковтун А.М. Поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* в агробіоценозах Полісся та Лісостепової зони України. *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК*: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених (Житомир, 14 липня 2016 рік). Житомир, 2016с. С. 58-62.
118. Ковтун А.М. Частота виявлення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* — природних регуляторів чисельності шкідливих комах в агроценозах України. *Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин*: міжнародна науково-практична конференція (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Київ, 2016d. С. 44-46.
119. Ковтун А.М. Особливості діагностики нематодозів комах, викликані ентомонематодами з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* (Nematoda: Rhabditida). *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині: III Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція*. м. Полтава, 15-16 лютого 2018 р. : тези доповіді. Полтава, 2018а. С. 101-104.
120. Ковтун А.М. Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в ґрунтах агроценозів України. *XI Наукова конференція молодих вчених*

«Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві». (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Чернігів, 2018b. С. 65-68.

121. Ковтун А.М., Бондар Л.П. Видовий склад та зональна поширеність ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах України. *Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії*: матеріали науково-педагогічного підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства. (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.). Одеса, 2021. С. 37-42.

122. Ковтун А.М. Ідентифікація ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), виділених із агроценозів України. І Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців «Актуальні аспекти розвитку науки і освіти». (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 315-318.

123. Ковтун А.М. Розробка концепції комплексного ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. *III Всеукраїнська науково-практична конференція: "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024"*. (Житомир, 31 травня 2024 р.). Житомир, 2024. С. 45-46.

124. Ковтун А.М. Нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae) фауни України. *Карантин і захист рослин*. 2023a. №2(273). С. 39-45.

125. Ковтун А.М. Індикація та ідентифікація ентомопатогенних нематод Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae. *Карантин і захист рослин*. 2023b. № 4(275). С. 21-31.

126. Коханець О.М., Голячук, Ю.С., Косилович Г.О. Сільськогосподарська ентомологія. Львів: Львівський національний аграрний університет, 2017. 156 с.

127. Коренчук Є.В., Дрозда В.Ф., Фокін А.В. Репродуктивні та просторові характеристики популяцій хрущів (Scarabaeidae,

Melolonthinae), важливі для оптимізації системи захисту сосни звичайної. *Вісник ПДАА*. 2020. № 1. С. 44–53.

128. Косилович Г. О., Коханець О. М. Інтегрований захист рослин. Львів : Львівський національний аграрний університет, 2010. 165 с.

129. Кравець, О.М., Стефановська, Т.Р. Внутрішньостеблові шкідники смородини чорної, їх моніторинг та регулювання чисельності з використанням біологічних агентів у зоні Лісостепу України. *Біологічні системи: теорія та інновації*. 2021. Vol. 12. №3. С. 50-59 <http://doi.org/10.31548/biologiya2021.03.006>

130. Лісовий М.М., Пархоменко О.Л., Пархоменко Т.Ю., Чайка В.М. Екологізація заходів регулювання чисельності фітофагів як шлях до збереження і відтворення ентомологічного агробіорізноманіття. *Сільськогосподарська мікробіологія*. 2009. Вип. 10. С. 142-155.

131. Маркіна Т.Ю., Ликова І.О., Голуб Є.А. Експрес-методи контролю якості культур комах – агентів біологічного захисту рослин. *Вісник аграрної науки*. 2024. № 1 (850). С. 48-55.

132. Національна мережа... 2019. Національна мережа інформації з біорізноманіття (Ukrainian Biodiversity Information Network) [Електронний ресурс] : [Веб-сайт]. – Електронні дані. – URL : <http://www.ukrbio.com>

133. Патики В.П., Тіаонович І.А., Філіп 'єв І.Д., Галіаюнова В.В., Андрусенко І.І. Мікроорганізми і альтернативне землеробство; за ред. В.П. Патики. Київ: Урожай, 1993. 176 с.

134. Решетова Є. Д., Федоренко В. П. Захист грибів у закритому ґрунті. *Захист і карантин рослин*. 2013. Вип. 59. С. 222-225. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zikr_2013_59_30

135. Сиротенко А.Й., Чернов Б.О. Географія України. К. : «Благовіст», 2000. 256 с.

136. Сигарева Д. Д., Харченко В.В., Чигрин Н.А., Болтовская Е.В., Ковтун А.Н. Размножение энтомопатогенных нематод рода *Steinernema* на

личинках майського жука (*Melolontha melolontha*) в лабораторних умовах. *Веснік палескага дзяржаўнага універсітэта*. 2018. №1. С. 72–76.

137. Сігарьова Д.Д., Ковтун А.М., Болтовська О.В. Нематоди – патогени комах (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) як складова частина агроценозів України. *XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП)* (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Львів, 2017. С. 61.

138. Сігарьова Д. Д., Борзих О. І., Бондар Т. І. Ентомопатогенні нематоди родин Steinernematidae та Heterorhabditidae – поширення в Україні й ефективність застосування проти прихованоживучих комах. Нац. акад. аграр. наук України, Ін-т захисту рослин. Київ : Лазурит-Поліграф, 2021а. 255 с.

139. Сігарьова Д.Д. Сільськогосподарська нематологія як розділ науки по захисту рослин. *Карантин і захист рослин*. 2012. №8. С. 22-28.

140. Сігарьова Д.Д., Ковтун А.М., Харченко В.В. Ентомопатогенні нематоди в системі захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 280-290.

141. Сігарьова Д.Д., Олененко В.В., Граціанова Н.В. Частота виявлення ентомопатогенних нематод родин Steinernematidae та Heterorhabditidae в біоценозах України. *Карантин і захист рослин*. 2010. №3(164). С. 19-21.

142. Сігарьова Д.Д., Олененко В.В., Граціанова Н.В. Видовий склад ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis*, виявлених на території України. Інформаційний бюллетень ВПРС МОББ (спецвип. приурочений науч.-практ. симпозиуму «Биологическая защита растений на пути инноваций»). 2012. №43. С. 63-66.

143. Сігарьова Д. Д., Олененко В. В., Граціанова Н. В. Географічне поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* і *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida). *Захист і карантин рослин*. 2010. Вип. 56. С. 148-159.

144. Сігарьова Д.Д., Харченко В. В. Ентомопатогенні нематоди в агроценозах України та методи їх виявлення. *Карантин і захист рослин*. 2018. № 4-5. С. 17-20.
145. Сігарьова Д. Д., Бондар Т. І., Нікішичева К. С., Ніколайчук Л. П. Основні етапи розвитку сільськогосподарської нематології. *Захист і карантин рослин*. 2021b. Вип. 67. С. 212-228.
146. Сігарьова Д.Д., Харченко В.В. Розмноження ентомопатогенних нематод (*Steinernema feltiae*) на різних комах-живителів в лабораторних умовах. *Захист і карантин рослин*. 2019. Вип. 65. С. 161-174.
147. Сігарьова Д.Д., Корма О.М. Соснова деревинна нематода *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer, 1934) Nickle: методи аналізу деревини та жуків-переносників. *Захист і карантин рослин*. 2005. Том 51. С. 163-175.
148. Сікура О.А., Гунчак, В.М. Можливість використання ентомопатогенних нематод та ентомофагів в якості біоагентів західного кукурудзяного жука (*Diabrotica virgifera virgifera* Le conte). *Захист і карантин рослин*. 2018. Вип. 64. С. 191-197.
149. Сільське господарство України : статистичний збірник за 2020 рік / ред. О.М. Прокопенко. Київ : Державна служба статистики України, 2021. 232 с.
150. Станкевич С.В., Горновська С.В. Методи виявлення, збору та зберігання комах. Житомир: «Рута», 2022 140 с.
151. Станкевич С.В., Леженіна І.П., Забродіна І.В., Байдик Г.В., Сіроус Л.Я., Герман Л.В. Сільськогосподарська ентомологія: назви основних шкідників сільськогосподарських культур і лісових насаджень. Житомир: «Рута», 2023. 156 с.
152. Стефановська Т. Р. Ефективність розмноження ентомопатогенних нематод *Steinernema carpocapsae* та *Heterorhabditis bacteriophora* на личинках *Galleria melonella* L. та *Tenebrio molitor* L. *Наукові доповіді НАУ*. 2007. Вип. № 2(7). URL: <http://www.nbu.gov.ua/e-Journals/nd/2007-2/07stratm.pdf>

153. Стефановська Т.Р., Кава Л.П. Ефективність ентомопатогенних нематод проти борозенчастого скосяря (*Otiorrhynchus sulcatus* F.) *Наукові доповіді НУБіП*. 2012. Вип. № 5(34). URL: http://www.nbuuv.gov.ua/e-journals/Nd/2012_5/12str.pdf
154. Стефановська Т.Р., Коханець Л.М. Біологічні особливості розвитку ентомопатогенних нематод *Steinernema carpocapsae* та *Heterhorabditis bacterriophora* на личинках борозенчастого скосяря *Otiorrhynchus sulcatus*. *Агроекологічний журнал*. Спеціальний випуск. 2008. С. 19-22.
155. Шерстобоева О.В., Крижанівський А.Б., Крижко А.І. Екологічні переваги застосування мікробіометоду в інтегрованій системі захисту рослин *Агроекол. журн.* 2021. № 3. С. 27-32. doi: [10.33730/2077-4893.3.2021.240318](https://doi.org/10.33730/2077-4893.3.2021.240318)
156. Яковлев Є. Б. Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в природних екосистемах України : дис. ... канд. біол. наук : 03.00.25. Київ, 2017. 131 с.
157. Яковлев Є. Б. Знахідки ентомопатогенних нематод родини Steinernematidae в Україні. *Конференція молодих дослідників-зоологів* (Київ, Інститут зоології НАН України, 18-19 квітня, 2012 р.): тези доповідей. Київ, 2012 (Зоологічний кур'єр, № 6.). С. 36-37.
158. Яковлев Є.Б, Харченко В.О. Методи вивчення ентомопатогенних нематод. *Вісн. Київ. нац. ун-ту ім. Т. Шевченка. Біологія*. 2015. Вип. 3 (68). С. 51-54.
159. Яковлев Є.Б., Харченко В.О. Ентомопатогенні нематоди природних екосистем України. *XV Конференція Українського наукового товариства паразитологів* (Чернівці, 15-18 жовтня, 2013 р.): тези доповідей. Київ, 2013. С. 111.
160. Яновський Ю.П., Чепернатий Є.В., Бандура Л.П., Маслікова К.П. Біологічні особливості розвитку та шкідливість західного травневого хруща в промислових насадженнях суниці в Лісостепу України. *Таврійський науковий вісник. Сільськогосподарські науки*. 2016. Вип. 95. С. 105-111.

ДОДАТКИ

Додаток А
Довідки про впровадження



ФЕРМЕРСЬКЕ ГОСПОДАРСТВО
«У САМВЕЛА»
67652, УКРАЇНА, БІЛЯЇВСЬКИЙ Р-Н, ОДЕСЬКА ОБЛ., село МИРНЕ,
вул. ХУТОРСЬКА, буд. 3

Код ЄДРПОУ 37613791
Р/Р 26000331175 МФО 380805
ПАО Райффайзен Банк Аваль
E-mail: chlorellalive@gmail.com
Тел.: +38 (067) 486 11 53
Фактична адреса: 28 км траси Одеса-Рені

«25» 09. 2020 р.
Вих. № 359/5

ДОВІДКА
про впровадження результатів дисертаційного дослідження
Ковтуна Андрія Миколайовича
на тему «Видовий склад, поширення ентомопатогенних нематод в
агроценозах України» в науково-виробничий процес ФГ «У Самвела»

Протягом 2019-2020 рр. на базі ФГ «У Самвела» (Одеська область, Біляївський район, с. Мирне) Ковтун А.М. проводив дослідження присвячені моніторингу корисних біоагентів – ентомопатогенних нематод на плантаціях та посівах сільськогосподарських рослин. Ковтун А.М. були проаналізовані різні методи спрямовані на виявлення ентомопатогенів, дослідним шляхом перевірена їх ефективність.

На основі досліджень встановлено, що використання цих даних дає змогу точніше прогнозувати життєздатність тих чи інших видів комах-фітофагів (зокрема ґрунтових видів комах) в агроценозі, передбачити більший або менший успіх боротьби з ними і запропонувати заходи захисту найдоцільніші у даній ситуації та можуть бути рекомендовані для впровадження у виробничу діяльність фермерських господарств України (особливо органічного рослинництва).

Директор виконавчий,
кандидат сільськогосподарських наук



Світлана ПЕТРЕНКО

Рисунок А.1. Довідка про впровадження у науково-виробничий процес
ФГ «У Самвела»

ДОВІДКА
про впровадження результатів дисертаційного дослідження
Ковтуна Андрія Миколайовича
на тему «Видовий склад, поширення ентомопатогенних нематод в
агроценозах України» у виробничий процес селянського (фермерського)
господарства «В. В. Плакущенко»

Протягом 2020-2021 рр. на базі СГ «В. В. Плакущенко» (Одеська область, Роздільнянський район, с. Гребеники) Ковтун А.М. проводив локальні обстеження посівів сільськогосподарських культур щодо поширення гельмінтних ентомопатогенів (нематод з родин Steinernematidae та Heterorhabditidae).

Проведеним дослідженням встановлено відсутність цільових ентомопатогенів, однак із застосуванням нематологічних методів виявлено ентомопатогенів іншої природи, зокрема грибної – мускардині гриби (домінував гриб білої мускардини, траплялась також зелена мускардина), що є особливо цінним з погляду контролю чисельності та шкідливості комах-фітофагів. Отримані матеріали свідчать про доцільність у технологіях захисту посівів господарства використовувати біопрепарати на основі цих грибів, так як саме вони мають більш високі шанси викликати смертність комах-шкідників. Ковтун А.М. також здійснено аналіз предикторів стосовно відсутності ентомопатогенних нематод у обстежуваних посівах польових культур, та надано відповідні рекомендації.

Використання отриманих даних обстежень Ковтуна А.М. щодо поширення природних біоагентів комах (у т.ч. ентомопатогенних нематод), доповнюватиме ентомологічні обстеження, які систематично проводяться у СГ «В. В. Плакущенко» з метою розроблення й реалізації заходів, спрямованих на захист рослин від шкідників.

Директор



Андрій ПЛАКУЩЕНКО

Рисунок А.2. Довідка про впровадження у виробничий процес
СГ «В. В. Плакущенко»



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Агробіотехнологічний факультет
Україна, 65039, м. Одеса, вул. Канатна, 99 odauabt@ukr.net

25 травня 2023 року

№ 208/1

ДОВІДКА

Про впровадження в навчальний процес результатів дисертаційного дослідження **КОВТУН АНДРІЯ МИКОЛАЙОВИЧА** на тему
«Видовий склад, особливості поширення ентомопатогенних нематод родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (*Nematoda: Rhabditida*) в агроценозах України».

Основні теоретичні, практичні та науково-методичні положення і висновки, що підготовлені у дисертаційній роботі А.М. Ковтуна, використовуються у навчальному процесі:

- кафедрою садівництва, виноградарства, біології та хімії агробіотехнологічного факультету Одеського державного аграрного університету при розробці робочих програм, методичних матеріалів та практичних завдань з дисциплін «Мікробіологія в рослинництві», «Мікробіологія з основами вірусології», «Загальна мікробіологія»;
- кафедрою захисту, генетики і селекції рослин агробіотехнологічного факультету Одеського державного аграрного університету при розробці робочих програм, методичних матеріалів та практичних завдань з дисциплін «Антагоністи шкідливих мікроорганізмів у захисті рослин», «Біологічний захист рослин», «Біологічний захист сільськогосподарських культур», «Ентомологія», «Загальна ентомологія», «Інтегрований захист рослин», «Основи біологічного захисту від шкідників».

Зав. кафедрою захисту, генетики
і селекції рослин, доцент

Декан агробіотехнологічного факультету,
доцент



Олег КРАЙНОВ

Віктор ЗОРУНЬКО

Рисунок А.3. Довідка про впровадження у навчальний процес кафедр
Одеського державного аграрного університету

Додаток Б

Список публікацій за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. **Ковтун А.М.** Ентомонематологічні обстеження агроценозів України – як джерело виявлення чинників потенційного біоконтролю комах-шкідників. *Захист і карантин рослин*. 2016. Вип. 62. С. 133–142.

2. Сигарева Д. Д., Харченко В.В., Чигрин Н.А., Болтовская Е.В., **Ковтун А.Н.** Размножение энтомопатогенных нематод рода *Steinernema* на личинках майского жука (*Melolontha melolontha*) в лабораторных условиях. *Вестник палесскага дзяржаўнага ўніверсітэта*, 2018. – №1. – С. 72–76.

3. Sigareva D. D., **Kovtun A. M.**, Korniyushin V. V. Occurrence of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) from agricultural ecosystems in forest (Polissya) and forest-steppe natural zones of Ukraine. *Vestnik Zoologii*. 2019. 53(4). P. 285-296.

4. **Ковтун А. М.** Нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) фауни України. *Карантин і захист рослин*. 2023. №2(273). С. 39-45.

5. **Kovtun A.**, Petrenko S. Frequency of occurrence and identification of nematodes among entomopathogenic organisms in agrocoenoses of Ukraine. *GEO&BIO*. 2023. Vol. 24. P. 214–224.

6. **Ковтун А. М.** Індикація та ідентифікація ентомопатогенних нематод Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae. *Карантин і захист рослин*. 2023. № 4(275). С. 21-31.

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

7. **Ковтун А. М.** Нові знахідки нематод – патогенів комах (*Steinernema* sp., *Heterorhabditis* sp.) в агроценозах Полісся та Північного Лісостепу України. *Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур*. Матеріали V

Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Вінниця, 2016. С. 51-52.

8. **Ковтун А. М.** Поширення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* в агробіоценозах Полісся та Лісостепової зони України. *Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК*: Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених (Житомир, 14 липня 2016 рік). Житомир, 2016. С. 58-62.

9. **Ковтун А. М.** Частота виявлення ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* — природних регуляторів чисельності шкідливих комах в агроценозах України. *Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин*: міжнародна науково-практична конференція (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Київ, 2016. С. 44-46.

10. Сігарьова Д. Д., **Ковтун А. М.**, Болтовська О. В. Нематоди – патогени комах (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) як складова частина агроценозів України. *XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП)* (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Львів, 2017. С. 61.

11. **Ковтун А. М.** Особливості діагностики нематодозів комах, викликані ентомонематодами з родин *Steinernematidae* та *Heterorhabditidae* (Nematoda: Rhabditida). *Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині*: III Всеукраїнська науково–практична інтернет-конференція. (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.). Полтава, 2018. С. 101-104.

12. **Ковтун А. М.** Ентомопатогенні нематоди (Nematoda: Rhabditida) в ґрунтах агроценозів України. *XI Наукова конференція молодих вчених «Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві»*. (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Чернігів, 2018. С. 65-68.

13. **Ковтун А. М.**, Бондар Л. П. Видовий склад та зональна поширеність ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida) в агроценозах України. *Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії*: матеріали науково-педагогічного підвищення кваліфікації у галузі

аграрних наук та продовольства. (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021р.). Одеса, 2021. С. 37-42.

14. **Ковтун А.М.** Ідентифікація ентомопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steienernematidae, Heterorhabditidae), виділених із агроценозів України. І Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців *«Актуальні аспекти розвитку науки і освіти»*. (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Одеса, 2021. С. 315-318.

15. **Ковтун А.М.** Розробка концепції комплексного ентомонематологічного моніторингу в агроценозах. *III Всеукраїнська науково-практична конференція: "Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024"*. (Житомир, 31 травня 2024 р.). Житомир, 2024. С. 45-46.

Наукові праці, які додатково відображають результати дисертації:

16. Сігарьова Д. Д., **Ковтун А. М.**, Харченко В. В. Ентомопатогенні нематоди в системі захисту сільськогосподарських культур від шкідливих комах. *Захист і карантин рослин*. 2015. Вип. 61. С. 280-290.

Додаток В

Відомості про апробацію результатів дисертації

1. V Міжнародна науково-практична конференція молодих вчених *«Новітні технології вирощування сільськогосподарських культур»* (Київ, 29–30 вересня 2016 р.). Форма участі: заочна.
2. Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених *«Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем АПК»* (Житомир, 14 липня 2016 рік). Форма участі: заочна.
3. Міжнародна науково-практична конференція *«Актуальні проблеми та перспективи інтегрованого захисту рослин»* (Київ, 7–9 листопада 2016 р.). Форма участі: заочна.
4. XVI Конференція Українського наукового товариства паразитологів (УНТП) (Львів, 18–21 вересня 2017 р.). Форма участі: заочна.
5. III Всеукраїнська науково-практична інтернет-конференція *«Вирішення сучасних проблем у ветеринарній медицині»* (Полтава, 15–16 лютого 2018 р.). Форма участі: дистанційна.
6. XI Наукова конференція молодих вчених *«Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві»* (Чернігів, 24–25 жовтня 2018 р.). Форма участі: очна (наукове повідомлення на секційному засіданні).
7. Науково-педагогічне підвищення кваліфікації у галузі аграрних наук та продовольства *«Аграрні науки та продовольство в сучасній системі освіти: взаємини та протидії»* (Одеса, 2 серпня–10 вересня 2021 р.). Форма участі: дистанційна.
8. Міжнародна науково-практична конференція НПП та молодих науковців *«Актуальні аспекти розвитку науки і освіти»* (Одеса, 13–14 квітня 2021 р.). Форма участі: дистанційна (наукове повідомлення на секційному онлайн засіданні).
9. III Всеукраїнська науково-практична конференція *«Лісові екосистеми: сучасні проблеми і перспективи досліджень – 2024»* (Житомир, 31 травня 2024 р.). Форма участі: заочна.

Додаток Г
Культивування великої воскової молі *Galleria mellonella*



Рисунок Г.1. Культивування великої воскової молі *Galleria mellonella*
на «пасічній мерві». *Фото автора*