

УДК 576.895.122

**ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ЭКСПЕРИМЕНТЫ
ПО ЗАРАЖЕНИЮ КУКОЛОК АМЕРИКАНСКОЙ БЕЛОЙ БАБОЧКИ *HYPHANTRIA CUNEA*
DRURY (LEPIDOPTERA:ARCTIIDAE) НЕМАТОДОЙ *STEINERNEMA CARPOCAPSAE*
WEISER (STEINERNEMATIDAE : STEINERNEMA)**

Рубцова Л.Е., Институт зоологии НАН Азербайджана, Баку, Азербайджан,
rubtsova_l@yahoo.com

Известно, что борьба с насекомыми – вредителями ведется в основном химическими методами. Неоспорим факт пагубных экологических последствий применения химических средств защиты растений. В результате использования инсектицидов происходит загрязнение окружающей среды токсичными для животного и растительного мира соединениями, приводящими порой к необратимым последствиям. При постоянном применении химических средств у вредителей развиваются мутантные расы, невосприимчивые к инсектицидам, что вынуждает разрабатывать новые, более сильные, а значит и более опасные ядохимикаты. Химический метод является экономически неоправданным и экологически опасным.

Ученые многих стран ведут разработки биологических методов защиты растений от вредителей. Одним из направлений является гелминтологический метод, в котором фактором контроля за насекомыми – вредителями являются энтомопатогенные нематоды. Биологический метод призван не полностью уничтожить популяцию вредителя, а снизить ее численность до неопасной для растений и урожайности сельскохозяйственных культур.

Самые ранние сведения о нахождении гельминтов в насекомых относятся еще к XVIII веку, однако достаточно обоснованные сведения о заражении насекомых появляются в публикациях начала XX века. В 1928 году Цвалуенбург приводит список нематод, паразитирующих у насекомых (Zwaluwenburg, 1928). В 1957 году П.А. Положенцев (1957) опубликовал список известных к тому времени нематод, найденных в насекомых на территории СССР. К настоящему времени известно более 30 семейств нематод, ассоциированных с насекомыми (Кая, Сток, 1997). Типы связей между нематодами и насекомыми варьируют от форезии через факультативный до облигатного паразитизма (Webster, 1973). Интерес к энтомогельминтам, с целью использования их как биологических инсектицидов, возрос после описания в 1955 году нематоды *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955), являющейся облигатным паразитом. Наиболее патогенными, а как следствие перспективными агентами биоконтроля являются виды нематод, относящихся к родам *Steinernema* (Travassos, 1927) и *Heterorhabditis* (Poinar, 1976). Виды, представляющие эти роды содержат в своем кишечнике симбиотические бактерии, которые и обуславливают высокую патогенность нематод. Впервые связь нематод и бактерий еще в 1924 году отметил А.В. Яцентковский (1924). Наибольшее количество публикаций связано с нематодой *S. carpocapsae*, которая обладает широким кругом хозяев и легко продуцируется на искусственных средах. Инвазионными являются личинки нематод третьего возраста, которые активно ищут хозяина и внедряются в него через естественные отверстия – рот, дыхальца, анус (Веремчук, 1977; Gaugler, 1981). Было установлено, что инвазионные личинки нематод собираются к личинкам насекомых (Руе, Бурман, 1978; Schmidt, Алл, 1979), определены реакции нематод на отдельные компоненты фекалий насекомых (Schmidt, Алл, 1979), способность нематод ориентироваться в слабом электромагнитном поле (Рубцова, 1995), а также по направлению к углекислому газу (Gaugler et al., 1980), они могут совершать

вертикальную и горизонтальную миграции в почве (Moyle, Kaya, 1981a; Schroeder, Beavers, 1987). *S.carpocapsae* в почве способна заражать куколок различных видов чешуекрылых (Moyle, Kaya, 1981b; Kaya, Hara, 1981; Hara, Kaya, 1983; Рубцова, 1986).

В лабораторных условиях *S.carpocapsae* приводит к смерти 98% гусениц американской белой бабочки (Рубцова, 2002). Американская белая бабочка является серьезным и опасным вредителем лесных и садовых культур, гусеницы повреждают более 200 видов древесных и кустарниковых растений: шелковица, терн, айва, груша, орех, абрикос, слива, вишня, сирень, шиповник и т.д. В Азербайджане, так же как и в Европе, вредитель отдает предпочтение шелковице, хотя у себя на родине – Северной Америке, этот вид растения посещается ею довольно редко. Борьба с вредителем осложняется тем, что гусеницы образуют паутинные гнезда на местах своей выкормки и только в V возрасте покидают их, совершая миграции на соседние растения. Окуливание может происходить в различных местах – под корой или трещинах коры, в опавших листьях, почве.

Объектом наших исследований были куколки *Hyphantria cunea* Drury. Мы предприняли попытку заражения куколок американской белой бабочки нематодой *S.carpocapsae*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нематоды *S. carpocapsae* культивировались на гусеницах большой вощиной моли *Galleria mellonella* (Linnaeus) (Dutku et al., 1964; Веремчук, 1972) с небольшой модификацией в методе сбора нематод (Рубцова, 1990). Полученные нематоды хранились в холодильнике в аэрируемом 0,65% растворе NaCl при температуре +7°- 9°С.

Гусеницы американской белой бабочки были собраны на Апшеронском полуострове (Азербайджан). В эксперименте использовалась лабораторная культура *H.cunea*, в стационаре культура бабочки поддерживалась на листьях шелковицы. В эксперименты брались I-II дневные куколки вредителя.

Для экспериментов использовались пластиковые кюветы 21 x 11 x 6 см, дно кювет на высоту 2-2,5 см покрывалось предварительно прокаленной, а затем слегка увлажненной почвой, на поверхность последней помещалось по 20 куколок, которые покрывались на высоту 1,5-2 см слоем увлажненной почвы. Поверхность почвы обрабатывалась 20 мл водно-нематодной суспензией нематод – (~600 нем/мл). Каждая кювета, для предотвращения испарения влаги, накрывалась пластиковой крышкой с отверстиями диаметром 1 мм (плотность отверстий 4/см²). Эксперимент проводился при температуре +23°-25°С. Одну пластиковую кювету с куколками принимали за повторность. Всего было сделано 4 повторности. Через 7 дней после обработки нематодами, куколки были извлечены из почвы и исследованы на заражение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 80 куколок, подвергшихся обработке нематодами, только в 29 (36,25%) были обнаружены нематоды, которые находились на различной стадии развития, что говорит о одновременном проникновении гельминтов во всех зараженных насекомых. В 10 куколках содержались нематоды, находящиеся в стадии личинки, что предположительно может быть связано с их недавним попаданием в насекомое, в 9-и личинки нематод увеличились в размерах и начали свое развитие. 7 куколок содержали половозрелых самцов и самок и только в 3-х помимо половозрелых самок и самцов были обнаружены личинки дочернего поколения, которые вылупились и продолжали вылупляться из яиц в период вскрытия насекомых. У части самок гельминтов в матке содержались яйца с живыми личинками и уже отродившиеся личинки.

Ранее мы при аналогичных условиях проводили заражение куколок *H.culea* нематодами *S.carposapsae*, но в эксперимент брались 6-8-и дневные куколки, находящиеся в состоянии, предшествующем зимней диапаузе. Результат эксперимента был отрицательным, ни в одной куколке при вскрытии не было обнаружено нематод. Низкая – 2,5%-ая зараженность 1-4-х дневных куколок американской белой бабочки отмечалась и ранее (Кауа, Нара, 1981). При изучении миграции нематод в почве к куколкам хлопковой совки (Рубцова, 1986) в эксперименте так же использовались 2-х дневные куколки, так как предварительные исследования возможности заражения куколок хлопковой совки с использованием в опытах 5-7-и дневных куколок дали отрицательные результаты. Были также отмечены различия в степени экспериментального заражения куколок *Heliothis zea* в зависимости от возраста куколок, смертность у 1-3-х дневных куколок составила 26%, в то время как у 3-6 дневных только 6% (Кауа, Нара, 1981). Но те же авторы отмечают, что у куколок *Spodoptera exigua* и *Pseudaletia unipunctata* уровень заражения нематодами и процент смертности куколок не связан с возрастом последних (Кауа, Нара, 1980). Можно сделать несколько предположений о причинах различной степени возрастной восприимчивости куколок различных видов чешуекрылых к нематоду *S.carposapsae*. Возможно, что у куколок определенных видов имеется возрастная корреляция восприимчивости к нематодам. Другой причиной может быть видовое различие в степени хитинизации покровов куколок. Все это лишь предположения, которые требуют дополнительных исследований.

Применение *S.carposapsae* в качестве агента биометода путем внесения нематод в почву более перспективно, чем обработка надземных частей растений. Почва защищает нематод от высыхания и пагубного воздействия солнечной радиации, которую рассматривают как сильно вредящий микробиологическим инсектицидам фактор окружающей среды (Ignoffo, Hostetter, 1977). Часовое воздействие солнечного света на нематод приводит к 95% падению патогенности нематод по отношению к гусеницам *G.mellonella* (Gaugler, Boush, 1979). Надо отметить, что выживаемость и двигательная активность нематод в почве, а как следствие и способность к заражению почвообитающих насекомых зависит от типа почвы. С возрастанием глинистости снижаются подвижность и инфекционность (Georgis, Poinar, 1983), а также выживаемость *S.carposapsae* (Shang-Ping Kung et al., 1990). С повышением глинистости почва уплотняется, снижается ее аэрация, что приводит к дополнительным энергетическим затратам у нематод, которые без пищи не пополняются (Croll, Matthews, 1977). Поэтому прежде, чем рекомендовать *S.carposapsae* в качестве агента биоконтроля за почвообитающими вредителями необходимо тщательное изучение характерных возрастных особенностей объекта контроля, при необходимом учете типа и структуры почвы, в которую предполагается вносить нематод.

ЛИТЕРАТУРА

- Веремчук Г.В. О массовом разведении энтомопатогенного нематодо-бактериального комплекса // Паразитология. VI. 1972. С. 376-379.
- Веремчук Г.В. Неоаплектаны и биологическая борьба с насекомыми // Защита растений. 8. С. 31-32.
- Положенцев П.А. Об изучении червей, паразитирующих в насекомых СССР // Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы. Отд. Биологии, 1977. Т. 62. №1. С 19-36.
- Рубцова Л.Е. Поисковая реакция нематоды *Neoaeplectana carposapsae* в почве // Изв. АН Азерб. ССР. Сер. биол. наук, 1986. № 5. С. 46-52.
- Рубцова Л.Е. К методике культивирования в лабораторных условиях энтомопатогенной нематоды *Neoaeplectana carposapsae* // Изв. АН Азерб. ССР. Сер. биол. наук, 1990. № 3. С. 82-83.

Рубцова Л.Е. Влияние электрического поля и уровня освещенности на поведенческие реакции нематоды *Neoaplectana carpocapsae* // Изв. АН Азерб. ССР. Сер. биол. наук, 1995. №1-6. С. 85-87.

Рубцова Л.Е. Экспериментальное заражение *Hyphantria cunea* Drury (Insecta:Lepidoptera) нематодой *Steinemema* (= *Neoaplectana*) *carpocapsae* (Nematoda : *Steinemematidae*) // Ж. Бильги. Баку, 2002. № 4. С. 43-47.

Яцентковский А.В. Кастрация сосновых лубоедов червями (Nematoda) и влияние их на жизнедеятельность короедов (Ipidae) // Тр. Зап. Белорус. гос. ин-та сельск. хоз-ва, 1924. № 3. С. 278-290.

Dutky S.R., Thompson J.V., Cantwell G.E. A technique for mass propagation of the DD-136 nematode // J. Insect. Pathol., 1964. № 6. P. 417-422.

Croll N.A., Matthews B.S. Survival of nematodes // Biology of *Nematodes*. Wiley, New York, 1977. P. 152-165.

Gaugler R. Biological control potential of neoaplectanid nematodes // J. Nematol., 1981. № 13. P. 241-149.

Gaugler R., LeBeck L., Nakagaki B., Boush G.M. Orientation of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* to carbon dioxide // Environ. Entomol., 1981. № 5. P. 649-652.

Gaugler R., Boush G.M. Laboratory tests on ultraviolet protectats of an entomogenous nematode // Environ. Entomol., 1979. № 5. P. 810-813.

Georgis R., Poinar G.O. Jr. Effect of soil texture on the distribution and infectivity of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda : *Steinemematidae*) // J. Nematol., 1983. № 15. P. 308-311.

Hara A.H., Kaya H.K. Susceptibility of *Spodoptera exigua* pupae from different pupation sites to the nematode *Neoaplectana carpocapsae* // J. Invertebr. Pathol., 1983. V. 42, № 3. P. 418-420.

Ignoffo C.M., Hostetter D.L. Environmental stability of microbial insecticides // Symp. Entomol. Soc. of Amer. Dec. 1974, Minneapolis Minn. Misc. Publ. Entomol. Soc. Amer., 1977. Part 10. P. 1-80.

Kaya H.K., Hara A.H. Differential susceptibility lepidopterous pupae to infection by the nematode *Neoaplectana carpocapsae* // J. Invertebr. Pathol., 1980. № 36. P. 389-393.

Kaya H.K., Hara A.H. Susceptibility of various species of *Lepidopterous* pupae to the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* // J. Nematol., 1981. V. 13. № 3. P. 291-294.

Kaya H.K., Stock P.S. Techniques in insect nematology // Manual of techn. in insect. pathol. Acad. Pres. Lim., San Diego, USA, 1997. № VI. P. 281-324.

Moyle P.L., Kaya H.K. Dispersal and infectivity of the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* Weiser (*Rhabditida*: *Steinemematidae*) in sand // J. Nematol., 1981a. V. 13, № 3. P. 295-300.

Moyle P.L., Kaya H.K. Susceptibility of pupae of two cocoon-forming lepidopterous species to the entomogenous nematode *Neoaplectana carpocapsae* (*Rhabditida*: *Steinemematidae*) // J. Nematol., 1981b. V. 13, № 3. P. 419-421.

Pye A.E., Burman M. *Neoaplectana carpocapsae*: activities of the nematode and its recognition of insect hosts // 4th Int. Congr. Parasitol., Warszawa.-Short commun. sec. F., 1978. P. 85.

Schroeder W.J., Beavers J.B. Movement of the entomogenous nematode of the families *Heterorhabditidae* and *Steinemematidae* in soil // J. Nematol., 1987. V. 19, № 3. P. 257-259.

Shang-Ping Kung., Gaugler R., Kaya H.K. Soil type and entomopathogenic nematode persistence // J. Invertebr. Pathol., 1990. 55. P. 401-406.

Schmidt J., All J.W. Chemical attraction of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) to insect larvae // Environ. Entomol., 1978. № 7. P. 605-607.

Schmidt J., All J.W. Attraction of *Neoaplectana carpocapsae* (Nematoda : Steinernematidae) to common excretory products of insects // Environ. Entomol., 1979. V.8, № 1. P. 55-61.

Webster J.M. Manipulation of environment to facilitate use of nematodes in biocontrol of insects // Exp. Parasitol., 1973. V.33, № 2. P. 197-206.

Zwaluwenburg R.H. The interrelation of insects roundworms // Bull. of the Hawaiian Sug. Plant. As. Entomol. ser., 1928. №20. P. 1-69.