

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ *STEINERNEMA CARPOCAPSAE* (NEMATODA: RHABDITIDA) ПРОТИВ БОЛЬШОЙ ВОСКОВОЙ МОЛИ (*GALLERIA MELLONELLA* L.) И БОЛЬШОГО МУЧНОГО ХРУЩАКА (*TENEBRIO MOLITOR* L.)

© 2023

Чакина Д.А., Родионова Е.Ю.

Кубанский государственный университет (г. Краснодар, Российская Федерация)

**Аннотация.** В настоящее время вопрос об изучении влияния нематод на насекомых стал одним из ключевых, поскольку биопрепараты являются перспективной альтернативой другим химическим инсектицидам и расширяют ассортимент предлагаемых средств защиты. Использование биопрепаратов на основе энтомопатогенных нематод является оптимальным, поскольку они не оказывают негативного влияния на человека и на окружающую среду. В ходе работы мы выявили необходимую концентрацию биопрепарата на основе *Steinernema carpocapsae* для эффективного воздействия на большую восковую моль и большого мучного хрущака. В результате проведенного исследования было установлено, что нематоды вида *St. carpocapsae* достаточно быстро начинают проникать и размножаться в организме большого мучного хрущака. На первые сутки биологическая эффективность приготовленной суспензии составила 46,5% при концентрации 1950 ос./мл и 87% при концентрации 3450 ос./мл, тогда как на большую восковую моль приготовленная суспензия действует значительно медленнее. На первые сутки биологическая эффективность составила только 24% при двух концентрациях. Сравнивая выход нематод, мы выявили, что для *Galleria mellonella* предпочтительнее концентрация 1950 ос./мл, для *Tenebrio molitor* – 3450 ос./мл.

**Ключевые слова:** энтомопатогенные нематоды; чешуекрылые; жесткокрылые; биологический контроль; биопрепараты.

## THE EVALUATION OF EFFECTIVENESS OF PREPARATIONS BASED ON *STEINERNEMA CARPOCAPSAE* (NEMATODA: RHABDITIDA) AGAINST THE GREATER WAX MOTH (*GALLERIA MELLONELLA* L.) AND THE YELLOW MEALWORM BEETLE (*TENEBRIO MOLITOR* L.)

© 2023

Chakina D.A., Rodionova E.Yu.

Kuban State University (Krasnodar, Russian Federation)

**Abstract.** At present, the issue of studying the effect of nematodes on insects has become one of the key issues, as biopreparations are a promising alternative to other chemical insecticides and expand the range of proposed means of protection. The use of biopreparations based on entomopathogenic nematodes is optimal because they do not have a negative impact on humans and the environment. In the course of the work we have identified the necessary concentration of biopreparation based on *Steinernema carpocapsae*, for an effective effect on the large wax moth and big flour borer. The study showed that the nematodes of *St. carpocapsae* species quickly penetrate and multiply in the body of the large wax moth. In the first day the biological effectiveness of the prepared suspension was 46,5% at a concentration of 1950 specimens/ml and 87% at a concentration of 3450 specimens/ml; while on the large wax moth the prepared suspension had a much slower effect. On the first day, the biological efficacy was only 24% at the two concentrations. Comparing the yield of nematodes, we found that for *Galleria mellonella* the concentration of 1950 specimens/ml was preferable, for *Tenebrio molitor* – 3450 specimens/ml.

**Keywords:** entomopathogenic nematodes; Lepidoptera; Coleoptera; biological control; biopreparations.

### Введение

Фитофаги представляют серьезную угрозу для сельскохозяйственного производства различных культур повсеместно [1]. Вред, наносимый им на территории зерновых угодий, достаточно опасен и несет за собой значительные последствия [2]. Так, на территории Краснодарского края одними из самых опасных вредителей на посевах являются в первую очередь виды отряда жесткокрылых (хлебная жужелица, хлебная полосатая блоха, щелкун посевной малый, степной щелкун и т.п.) и отряда чешуекрылых (озимая совка, хлопковая совка, яблонная плодоярка, злаковая листовёртка и т.п.) [3, с. 69]. Борьба с ними с помощью инсектицидов, на основе химических ве-

ществ, является консервативной мерой на территории России, так как в 2018 году был принят Федеральный закон «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» от 03.08.2018 № 280-ФЗ. В связи с этим необходимо развивать методы борьбы с насекомыми-вредителями на основе живых организмов [4].

В последние годы в России набирает популярность органическое земледелие [5], что обязывает сельскохозяйственные предприятия использовать препараты против насекомых, сорняков и различных болезней биологического происхождения. И особое значение имеют биопрепараты на основе паразитических организмов. За последние 50 лет в России распростра-

нился метод приманок (ловушки с феромонами и пищевые ловушки), а также зоологический метод, где приманивают насекомых животных или энтомофагов. Но у данных методов имеются свои недостатки, поэтому необходимы альтернативные методы.

В России, в частности в Краснодарском крае, инсектициды предпочитают биопрепаратам, поскольку биопрепаратов отечественного производства минимальное количество. И на сегодняшний день активно разрабатывают новые биопрепараты на основе бактерий рода *Bacillus*, грибов, растительных экстрактов и энтомопатогенных нематод (ЭПН) [6]. В настоящее время в России зарегистрировано 2 биопрепарата на основе ЭПН рода Rhabditida. Энтонем – препарат на основе *Steinernema feltiae* (Filipjev); немабакт – второй препарат на основе *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955) [7].

Биопрепараты на основе *St. carpocapsae* являются не только более безопасной альтернативой пестицидам, но и более эффективной. Это связано с тем, что нематоды развиваются внутри насекомого и на такой биопрепарат абиотические факторы влияют минимально.

Исследования проводили на тест-объектах *Galleria mellonella* L. и *Tenebrio molitor* L. Большая восковая моль и большой мучной хрущак уже долгие годы используются учеными в качестве модельных насекомых. Личинки *G. mellonella* имеют быструю и высокую репродуктивную способность при низких затратах, а также простоту содержания личинок в лаборатории без необходимости использования дорогостоящего оборудования [8]. Личинки большой восковой моли широко применяются в качестве кормовой базы в рыболовстве, косметической промышленности, медицине и т.п. В лабораторных условиях они используются для изучения биологии развития и физиологии насекомых. Также личинки *G. mellonella* применяются в качестве насекомого-хозяина для массового разведения паразитов-энтомофагов, которые используются в защите растений [9; 10]. При изучении активности препаратов на основе ЭПН также широко используют большого мучного хрущака в качестве тест-объекта. Его личинки неприхотливы в лабораторных условиях, их легко содержать, поскольку они также не требуют дорогостоящего оборудования [11]. Данного вредителя используют в качестве тест-объекта для выведения биологических препаратов на основе грибов, бактерий, нематод и т.п.

Поэтому нам представлялось весьма важным изучить факторы среды, температуру и влажность, в которых развитие ЭПН будет наиболее интенсивно, а также выявить подходящую концентрацию *St. carpocapsae*, которая будет максимально влиять на большую восковую моль и большого мучного хрущака.

Целью наших исследований было изучение влияния ЭПН на тест-объекты – большого мучного хрущака (*T. molitor*) и большую восковую моль (*G. mellonella*).

#### Материалы и методы исследования

Энтомопатогенных нематод вида *St. carpocapsae* var. «*agriotes*» (Weiser, 1955) брали из коллекции ла-

боратории химической коммуникации массового разведения насекомых ФНЦБЗР (Федеральный научный центр биологической защиты растений). Лабораторных насекомых – большую восковую моль *G. mellonella* и большого мучного хрущака *T. molitor* – использовали для накопления ЭПН в камере искусственного климата MLR 35 ОН («Panasonic», Япония). Применяли способы, описанные Л.Г. Даниловым, с модификациями, разработанными в лаборатории [12]. Для подсчета концентрации ЭПН в препаратах брали зараженных гусениц, делали разрез в области средней кишки и заливали физиологическим раствором (0,9% раствор NaCl), для подсчета выхода нематод в 1 мл. Опыт производили с разным выходом. Мы отобрали две самые многочисленных пробы. В первой пробе концентрация нематод составила 1950 особей на 1 мл, во второй – 3450 особей на 1 мл. Далее выбирали гусениц большой восковой моли 2–5 возраста. Гусениц разделили на 3 категории: контроль, куда добавляли 5 мл физраствора; гусеницы из первой и из второй пробы, куда добавляли физ. раствор – 2 мл, и концентрацию нематод – 3 мл. Концентрация первой пробы составляла 1950 ос./мл, концентрация второй пробы – 3450 ос./мл. Также брали личинок жука большого мучного хрущака. Личинок разделили на 3 категории: контроль, куда добавляли 5 мл кипяченой воды; гусеницы из первой и из второй пробы, куда также добавляли две концентрации нематод – 3 мл и 2 мл кипяченой воды. Лабораторный скрининг осуществляли по стандартным методикам испытания препаратов в лабораторных условиях в чашках Петри по 10 личинок в каждой [13]. Опыты проводили в трехкратной повторности. Все испытания проводили при постоянной температуре +26...+28°C и относительной влажности 65%. Далее подсчитывали гибель насекомых на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки. Биологическую эффективность препарата рассчитывали с помощью формулы Аббота. Также была рассчитана стандартная ошибка [14].

#### Результаты и обсуждения

Сравнивая биологическую эффективность двух концентраций ЭПН (1950 и 3450 экз. на 1 мл) на *G. mellonella*, согласно таблице 1, мы выявили, что на первые сутки эффективность достаточно низкая, как при концентрации 1950 экз., так и при концентрации 3450 экз. Существенные отличия проявляются уже на 3 и 5 сутки. Смертность при концентрации 1950 экз. значительно выше и достигает 37%, чем при концентрации 3450 экз. Это связано с тем, что ЭПН в первом случае меньше, а значит, конкуренция за пищевые ресурсы снижена, и их рост и развитие проходит значительно быстрее и эффективнее. Также на положительную динамику повлияли внешние факторы (температура и влажность), при которых содержались насекомые. На 9 сутки мы наблюдали 100% эффективность в обоих случаях.

Выход нематод подсчитывали после смерти всех насекомых. Таким образом, сравнивая биологическую эффективность двух концентраций ЭПН на *G. mellonella*, мы выявили, что для данного вида предпочтительнее концентрация 1950 ос./мл, в связи с тем, что выход нематод составил  $3,3 \times 10^4$  экз., что превышает выход при большей концентрации.

**Таблица 1** – Биологическая эффективность препарата на основе энтомопатогенных нематод *St. carpocapsae* на *Galleria mellonella* и *Tenebrio molitor*

Вид, опыт	Биологическая эффективность, %					Выход нематод, 10 <sup>4</sup> экз.
	1 сут.	3 сут.	5 сут.	7 сут.	9 сут.	
<i>Galleria mellonella</i> (К)	50,00	50,00	72,30	78,80	83,20	–
<i>Galleria mellonella</i> (1950)	24,00 ± 1,00	32,00 ± 2,24	37,50 ± 4,36	42,80 ± 9,00	100,00 ± 12,25	3,3
<i>Galleria mellonella</i> (3450)	24,00 ± 0,71	24,00 ± 1,00	31,25 ± 4,18	57,14 ± 9,85	100,00 ± 12,25	3,1
НСР <sub>0,5</sub>	5,43	10,29	27,16	59,94	77,89	
<i>Tenebrio molitor</i> (К)	43,20	43,20	52,40	56,00	58,00	–
<i>Tenebrio molitor</i> (1950)	46,50 ± 6,38	69,50 ± 8,51	74,00 ± 8,80	91,00 ± 10,32	97,80 ± 10,97	4,1
<i>Tenebrio molitor</i> (3450)	87,00 ± 9,90	93,50 ± 10,55	93,50 ± 10,55	97,80 ± 10,97	98,20 ± 10,97	5,2
НСР <sub>0,5</sub>	50,88	54,21	54,21	56,36	56,36	

Примечание. К – контроль; 1950 и 3450 – концентрация ЭПН в 1 мл препарата.

При сравнении биологической эффективности двух концентраций *St. carpocapsae* на *T. molitor* (табл. 1), мы выявили, что уже на 1 сутки при начальной концентрации 3450 экз. на 1 мл, биологическая эффективность препарата достаточно высокая, достигает 87,0%, и в последующие сутки достаточно быстро растет, тогда как при концентрации 1950 экз. биологическая эффективность не превышает 46,5%. Тем не менее биологическая эффективность при начальной концентрации 1950 экз. на 3 сутки составляет 69,5%. Данное значение является достаточно высоким для биологической защиты растений. Выход нематод мы также подсчитывали после смерти всех насекомых.

При сравнении выхода нематод для двух концентраций *St. carpocapsae* мы выявили, что для данного вида предпочтительнее концентрация 3450 ос./мл, в связи с тем, что результат составил  $5,2 \times 10^4$  экз., что значительно превышает выход при меньшей концентрации.

Защита растений с помощью биопрепаратов на основе *St. carpocapsae* проводилась неоднократно на насекомых-вредителях, в основном отряда Жесткокрылые (колорадский жук, яблоневая плодожорка и т.п.) [15, с. 567]. На основании проанализированных данных из информационных источников мы выявили, что использование биопрепаратов на основе *St. carpocapsae* в такой большой концентрации не испытывалась. Также мы применили данный вид нематод на чешуекрылых и выявили, что концентрация ЭПН нужна значительно меньше, чем концентрация для жесткокрылых насекомых. Практическая ценность нашего исследования состоит в выявлении оптимальной концентрации ЭПН на наших тест-объектах, для достижения большей эффективности. Специфика проведенного исследования заключается в том, что не для всех насекомых подойдет максимальная концентрация, что связано с физиологией насекомого и его образом жизни.

#### Благодарность

Авторы выражают благодарность за помощь в проведении исследований М.В. Пушине, старшему научному сотруднику лаборатории фитосанитарного мониторинга агроэкосистем ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений».

#### Список литературы:

- Bradshaw C.J.A., Leroy B., Bellard C., Roiz D., Albert C., Fournier A., Barbet-Massin M., Salles J.-M., Simard F., Courchamp F. Massive yet grossly underestimated global costs of invasive insects // Nature Communications. 2016. Vol. 7. DOI: 10.1038/ncomms12986.
- Пушня М.В., Снесарева Е.Г., Родионова Е.Ю., Балахнина И.В., Исмаилов В.Я. Использование новых штаммов вируса гранулеза для разработки эффективных средств борьбы с яблонной плодожоркой *Cydia pomonella* L. // Плодоводство и ягодоводство России. 2019. Т. 58. С. 172–179. DOI: 10.31676/2073-4948-2019-58-172-179.
- Нешадим Н.Н., Пикушова Э.А., Веретельник Е.Ю., Горьковенко В.С. Интегрированная защита растений (зерновые культуры): учеб. пособие. Краснодар: КубГАУ, 2014. 278 с.
- Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации: Федеральный закон от 25.07.2018 № 280-ФЗ [Электронный ресурс] // Гарант.ру. <https://base.garant.ru/72005268>.
- Рябчинская Т.А., Бобрешова И.Ю., Каширских Ю.В., Мелькумова Е.А. К вопросу разработки нового биоцидного препарата на основе растительных компонентов // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. 2021. Т. 14, № 2 (69). С. 57–70. DOI: 10.53914/issn2071-2243\_2021\_2\_57.
- Гришечкина С.Д. Механизмы действия и эффективность микробиологического препарата бацикола // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50, № 5. С. 685–693. DOI: 10.15389/agrobology.2015.5.685rus.
- Турицин В.С., Данилов Л.Г. Особенности экологии энтомопатогенных нематод семейства Steinernematidae (Nematoda: Rhabditida) // Вестник защиты растений. 2001. № 3. С. 23–29.
- Durieux M.-F., Melloul E., Jemel S., Roisin L., Darde M.-L., Guillot J., Dannaoui E., Botterel F. *Galleria mellonella* as a screening tool to study virulence factors of *Aspergillus fumigatus* // Virulence. 2021. Vol. 12, iss. 1. P. 818–834. DOI: 10.1080/21505594.2021.1893945.
- Коновалова Т.В. Лабораторное содержание и разведение большой восковой огневки *Galleria mellonella* L. // Российский ветеринарный журнал. 2009. № 4. С. 46–48.
- Соколов В.В., Осокина А.С., Касаткин В.В. Технология механизации сортировки личинок *Galleria mellonella* L. // Вестник Казанского государственного аг-

рарного университета. 2020. Т. 15, № 2 (58). С. 120–124. DOI: 10.12737/2073-0462-2020-120-124.

11. Чикин Ю.А., Гулик Е.С., Харлова А.А. Чувствительность личинок большого мучного хрущака *Tenebrio molitor* к *Beauveria bassiana* // Аграрная наука – сельскому хозяйству: сб. мат-лов XIV междунар. науч.-практ. конф. Кн. 1. Барнаул, 2019. С. 275–276.

12. Данилов Л.Г. Особенности инвазирования и последующего развития нематод *Neoplectana carpocarsae* штамм «agriotos» в насекомых при свободном контакте паразита с хозяином // Гельминты насекомых: сб. ст. / отв. ред. М.Д. Сонин. М.: Наука, 1980. С. 42–46.

13. Методические указания по регистрационным испытаниям инсектицидов, акарицидов, моллюскоцидов и родентицидов в сельском хозяйстве / под ред. В.И. Долженко и др. СПб.: Всерос. науч.-исслед. ин-т защиты растений, 2004. 363 с.

14. Abbott W.S. A method of computing the effectiveness of an insecticide // Journal of Economic Entomology. 1925. Vol. 18, iss. 2. P. 265–267. DOI: 10.1093/jee/18.2.265a.

15. Вейзер Я. Микробиологические методы борьбы с вредными насекомыми / пер. с чеш. М.П. Умнова; под ред. М.С. Гилярова. М.: Колос, 1972. 640 с.

Информация об авторе(-ах):	Information about the author(-s):
<b>Чакина Дарья Алексеевна</b> , магистрант кафедры зоологии; Кубанский государственный университет (г. Краснодар, Российская Федерация). E-mail: dashok210chak@gmail.com.	<b>Chakina Daria Alekseevna</b> , master student of Zoology Department; Kuban State University (Krasnodar, Russian Federation). E-mail: dashok210chak@gmail.com.
<b>Родионова Елена Юрьевна</b> , преподаватель кафедры зоологии; Кубанский государственный университет (г. Краснодар, Российская Федерация). E-mail: rigaey@gmail.com.	<b>Rodionova Elena Yurievna</b> , lecturer of Zoology Department; Kuban State University (Krasnodar, Russian Federation). E-mail: rigaey@gmail.com.

**Для цитирования:**

Чакина Д.А., Родионова Е.Ю. Оценка эффективности препаратов на основе *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Rhabditida) против большой восковой моли (*Galleria mellonella* L.) и большого мучного хрущака (*Tenebrio molitor* L.) // Самарский научный вестник. 2023. Т. 12, № 2. С. 98–101. DOI: 10.55355/snv2023122115.