

НОВІ ЗНАХІДКИ ЛОКАЛІТЕТІВ

ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) фауни України

Мета. Дослідити нові знахідки локалітетів (з агроценозів) ентмопатогенних нематод (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae et Heterorhabditidae: *Steinernema* et *Heterorhabditis*) у фауни України. **Методи.** Об'єктом досліджень були ентмопатогенні нематоди, зібрані з різних регіонів України у 2016—2018 та 2020—2021 рр. Огляд діагностичних ознак нематод проводили під стереоскопічним мікроскопом МБС-9. Для визначення ентмопатогенних нематод використовували світлооптичний мікроскоп Carl Zeiss Primo Star (за збільшення $\times 100$ — 1000) та спеціальні визначники. **Результати.** Проаналізовано 312 проб на наявність нематод з родин Steinernematidae, Heterorhabditidae. Ентмопатогенні нематоди виявлено у зразках ґрунту, взятих у Житомирській, Чернігівській та Київській областях. Уперше виділено ентмопатогенні нематоди у пробах із Житомирської та Чернігівської областей. Знахідки позитивних проб з нематодами роду *Steinernema* помітно переважали над нематодами роду *Heterorhabditis* (у співвідношенні 1,5:1), що належали до трьох видів (*S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. (близький до представників групи «*glaseri*») та *H. bacteriophora*). Зібрано інформацію про місця знахідок кожного зразка та умови існування, в яких цих ентмогельмінтів виявили, подано загальну морфологічну характеристику з морфометричними параметрами видів. **Висновки.** Для двох видів ентмопатогенних нематод виявили нові локалітети: *S. carpocapsae* та *H. bacteriophora* уперше виявили у зразках ґрунту із Житомирської та Чернігівської областей. Подальші дослідження щодо поглиблення знань про фауну ентмопатогенних нематод необхідно зосередити на вивченні ентмогельмінтів у зразках із малодосліджених територій України та їхніх специфічних біотопах.

ентомопатогенні нематоди; Nematoda; Steinernema; Heterorhabditis; видова різноманітність; Україна

А.М. КОВТУН

Одеський державний аграрний університет, вул. Канатна, 99, м. Одеса, 65012, Україна
 e-mail: andrii_kovtun@ukr.net

Паразитизм гельмінтів (нематод) у комах є цікавим у біологічному і важливим у господарському значенні явищем [1, 2]. Усього відомо понад 1000 видів нематод-паразитів комах, серед яких є як екто- так і ендопаразити. Вони пристосувались до існування в організмі живих комах на всіх стадіях їхнього розвитку — від яйця до імаго, зосереджуючись в різних органах і тканинах у вигляді яєць, личинок, або ж дорослих особин [3].

Серед всієї екологічної групи ентмонематод на особливу увагу заслуговують представники двох родин рабдитид — Steinernematidae Chitwood et Chitwood, 1937 (= Neoalectanidae Sobolev, 1953) та Heterorhabditidae Poinar, 1976 (Nematoda: Rhabditida), яких визначають як «ентмопатогенні нематоди» (ЕПН) [4].

Родина Steinernematidae об'єднує два роди — *Steinernema* Travassos, 1927, та *Neosteinerema* Nguyen & Smart, 1994, останній представлений єдиним видом *N. longicurvicauda* Nguyen & Smart, 1994. Родина Heterorhabditidae вміщує також два роди — рецентний рід *Heterorhabditis* Poinar, 1976 та †*Proheterorhabditis* Poinar, 2011 — викопний рід з раннього крейдового періоду з єдиним типовим видом †*P. burmanicus* Poinar, 2011 [5].

Види *Steinernema* spp. та *Hete-*

rorhabditis spp., особливості біології яких подібні між собою, спромоглися зайняти один і той самий континент, один і той же регіон, і навіть той же квадратний метр, але співіснують, тому що знаходяться на різній глибині ґрунту або мають різну гостальну специфічність, тобто залежать від різних видів комах-хазяїв, які безпосередньо підтримують їхні популяції. Ними уражаються комахи з багатьох рядів та родин, серед яких в переважній більшості: личинки лускокрилих Lepidoptera, жуків Coleoptera, двокрилих Diptera, бліх Siphonaptera, трипсів Thysanoptera; імагінальні стадії прямокрилих Orthoptera, напівтвердокрилих Hemiptera, тарганів Blattodea та багато інших [6]. Представники стейнернематид та гетерорабдитид зустрічаються на усіх континентах світу, за винятком Антарктиди [7], і майже в усіх природних зонах, на різних широтах і висотах над рівнем моря [8].

Один із перших видів ЕПН, який одразу ж привернув до себе увагу відносно свого проблематичного систематичного положення, був виявлений у трачі (Tenthredinidae) у 1923 р., і описаний Г. Штайнером як *Aplectana kraussei* (тепер *Steinernema kraussei*) [9].

Нині у зразках з різних країн світу ідентифіковано близько 100 видів з роду *Steinernema* та 21 вид з роду *Heterorhabditis*, проте, таксономічний статус деяких з них ще й досі під питанням. Судячи з даних [10], більшість нових видів ЕПН описано саме в Азії, однак дослідження в деяких азіатських країнах все ще перебувають у зародковому стані. Деякі нові види

zareєстровано в Австралії, але це не стосується Нової Зеландії та країн Океанії, де проведено ще дуже мало досліджень. Так само обмаль інформації про цю групу ентомопатогенних нематод надходить із Центральної Америки, однак у Північній Америці описано багато нових видів, деякі з них мають практичне значення і були комерціалізовані у якості типових біоінсектицидів. У Південній Америці описані та використані як агенти біологічного захисту кілька місцевих видів нематод. Європейські країни активно досліджують видову різноманітність ЕПН, зареєстровано нові види, які мають важливе господарське (комерційне) значення і застосовуються в польових умовах. Повідомляється про багато нових видів та інших раніше описаних видів з Африки.

Незважаючи на постійні дослідження ЕПН на різних континентах світу, кількість недосліджених локацій ще досі велика, і тому все ще необхідні подальші дослідження для вивчення неохоплених географічних районів з метою виявлення та подальшого використання додаткових видів ЕПН.

Ентомопатогенні нематоли (Steinernematidae, Heterorhabditidae) до недавнього часу залишались недостатньо вивченою групою нематод-рабдитид в Україні стосовно навіть первинних фауністичних даних, насамперед через їхній прихований спосіб життя та не часте трапляння у природі.

Піонером у вивченні ЕПН в Україні поправу можна вважати ентомолога Л.В. Пучкову, яка у 1952 р. виявила на посівах буряків цукрових Весело-Подільської селекційної станції (Семінівський р-н Полтавської обл.) велику кількість заражених личинок бурякових довгоносиків (*Bothynoderes punctiventris* Germ.). Зусиллями відомого вченого-нематолога К.С. Кірьянкової нематоли було виділено із *B. punctiventris* та віднесено до роду *Neoplectana* (тепер *Steinernema*), а дещо пізніше описано як новий вид під назвою *Neoplectana bothynoderi*

Kirjanova et Putschkova, sp. n., який пізніше був зведений до виду *Steinernema feltiae* [11].

На території України зареєстровано три види з роду *Steinernema* (*S. carpocapsae* (Weiser, 1955) Wouts et al., 1982; *S. feltiae* (Filipjev, 1934) Wouts et al., 1982; *S. arenarium* (Artyukhovsky, 1967) Wouts et al., 1982) та один вид з роду *Heterorhabditis* (*H. bacteriophora* Poinar, 1976) [12–15]. *S. carpocapsae* та *S. feltiae* є відносно звичайними і поширеними, а *S. arenarium* та *H. bacteriophora* трапляються рідко.

У сучасній нематології вивчення цієї екологічної групи нематод має не тільки цінне теоретичне підґрунтя, а й важливе практичне та господарське значення — вони є основою у виробництві екологічно безпечних біоінсектицидів для контролю різних шкідників у багатьох країнах світу [6].

Впровадження ентомопатогенних нематод як біоагентів, які б обмежували чисельність місцевих шкідливих видів комах, є неможливим без базових знань щодо фауністичних даних, доповнення і уточнення даних щодо поширення окремих видів. 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.

Мета роботи — дослідити нові знахідки локалітетів ентомопатогенних нематод родин Steinernematidae та Heterorhabditidae (з агроценозів) у фауні України.

Матеріали і методи. За період 2016–2018, 2020–2021 років проведено обстеження ґрунтів агроценозів у 22-х пунктах, які знаходяться в межах основних ґрунтово-кліматичних зон країни — Полісся, Лісостепу та Степу (адм. регіони: Житомирська, Київська, Чернігівська, Черкаська, Хмельницька, Вінницька та Одеська області). Матеріалом для досліджень слугували проби ґрунту, ґрунтові «живі» пастки, зразки тест-комах *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) та потенційних комах-

хазяїв різних видів з ряду Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae, Melolonthinae; ряду Lepidoptera: Noctuidae, також інвазійні личинки та дорослі особини ентомопатогенних нематод.

Ґрунтові проби відбирали випадковим чином: для формування середнього зразка (об'ємом не більше як 500 см³) відбирали разові проби (5 виімок) із 4 м² за допомогою звичайної ручної лопати до глибини 15–30 см (для польових культур), чи в радіусі 1 м на глибині до 40 см навколо штабів окремо ростучих дерев (при обстеженні деревних рослин у насадженнях) [16]. Окрім безпосереднього відбору проб ґрунту закладали ґрунтові «живі» пастки із використанням чутливих до інфекції ентомопатогенів тест-комах — личинок великої воскової молі *G. mellonella*. Також відловлювали хворих та збирали мертвих ґрунтових комах із подальшим встановленням причини загибелі. Всіх комах безпосередньо збирали вручну. Для виявлення дрібних комах і личинок застосовували універсальний ручний розбір проб ґрунту. Загалом по всіх областях оброблено 312 етикетованих проб (220 ґрунтових проб та 92 «живі» пастки), проаналізовано 100 екземплярів потенційних комах-хазяїв.

Ізоляцію ЕПН з проб ґрунту в лабораторних умовах здійснювали методом біопроби з використанням тест-об'єктів — личинок *G. mellonella* [17]. Виділення нематод із уражених особин комах здійснювали шляхом застосування «водної пастки» (пастка Уайта) [18]. Виділені ізоляти нематод зберігали з концентрацією 1000–3000 екз. нематод/мл 0,001% розчину формаліну в фізіологічному розчині кухонної солі, у конічних колбах об'ємом 250 мл, в холодильнику при температурі 4°C. Для отримання дорослих особин ЕПН (самців, самиць) проводили штучне інфікування охолоджених протягом 20 хв при 4°C тест-комах *G. mellonella* суспензією інвазійних личинок (ІЛ) нематод (з розрахунку 100 ІЛ/комаху) у попередньо простерилізованих чашках Петрі з вкладеним філь-

трувальним папером (при вільному контакті паразита і хазяїна) [19]. Чашки Петрі із зараженими тест-об'єктами витримували у затемненому місці (чи при розсіяному світлі) за кімнатної температури 22–24°C. На 2–10-ту добу після зараження проводили гелмінтологічний розтин під стереоскопічним мікроскопом МБС-9 [20].

Видову належність ЕПН визначали на тотальних напів-постійних водно-гліцеринових мікропрепаратах. Досліджуваних нематод попередньо фіксували у розчині ТАФ (2 мл триетаноламіну, 7 мл 40% розчину формальдегіду на 91 мл дистильованої води) та витримували в умовах постійної темряви протягом доби. Після цього проводили вибірку нематод (не менше 10 особин самиць, самців та інвазійних личинок) на предметне скло в краплину розчину гліцерину (16 частин води + 1 частина гліцерину), пофарбованого поліхромною синькою, та накривали покривним скельцем. Препарати витримували 1–2 доби при температурі не більше 40°C в термостаті, з метою рівномірного профарбовування нематод [21]. Для ідентифікації видової належності ЕПН досліджували морфологію (поверхневі структури зовнішньої кутикули, трофіко-сенсорний, трофіко-генітальний та каудальний відділи тіла) та морфометричні параметри дорослих особин різних генерацій (у першу чергу самців (σ) та інвазійних личинок третього віку (L3)), користуючись ключами для визначення ЕПН (Steinernematidae, Heterorhabditidae) [22], а також монографіями та статтями, присвяченими окремим таксонам. З урахуванням результатів вимірів основних морфологічних ознак нематод розраховували індекси: L — загальна довжина тіла; W — найбільша ширина тіла; EP — відстань від переднього кінця до екскреторної пори; ES — довжина стравоходу; TL — довжина хвоста; ABW — ширина тіла на рівні анального отвору; $D\% = EP/ES \times 100$ — відношення відстані від апікального кінця до екскреторної пори до

довжини стравоходу; $E\% = EP/TL \times 100$ — відношення відстані від переднього кінця до екскреторної пори до довжини хвоста; SL — довжина спікули; GL — довжина губернакулула; $GS\% = GL/SL \times 100$ — відношення довжини губернакулула до довжини спікули; $SW\% = SL/ABW \times 100$ — відношення довжини спікули до ширини тіла на рівні анального отвору.

Огляд діагностичних ознак та вимірювання нематод проводили під світлооптичним мікроскопом Carl Zeiss Primo Star, за загального збільшення $\times 160$ – 640 (при $\times 1600$ з використанням імерсійного масла) із використанням системи аналізу зображень ToupView 3.7 (for Digital Camera). Мікрофотографування об'єктів дослідження проводили за допомогою цифрової камери ToupCam SCMOS03000KPA 3.0. Математично-статистичну обробку отриманих первинних даних здійснювали методами описової статистики, з використанням програми обробки даних SPSS Statistics 17.0. Для опису загальних кількісних закономірностей використовували основні статистичні показники — міру центральної тенденції із вираховуванням середнього арифметичного (M), та міру варіації — мінімум (min) і максимум (max).

Результати та обговорення. Встановлено, що 14,7% досліджуваних проб виявились позитивними щодо ЕПН (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae et Heterorhabditidae). ЕПН виявлено у зразках ґрунту із Житомирської, Чернігівської та Київської областей. Варто зазначити, що ЕПН у зразках ґрунту з Житомирської та Чернігівської областей було виділено вперше. Проаналізовані літературні дані дають підстави стверджувати, що обстеження агроценозів [13, 23] та природних біоценозів [14, 15] у вищезгаданих областях не виявляли ЕПН (Steinernematidae, Heterorhabditidae).

У роботі D. Sigareva, A. Kovtun, V. Korniyushin (2019) наведено детальну оцінку особливостей

поширення ЕПН в агроценозах досліджуваних регіонів України, їхнє трапляння в агроценозах різного типу а також залежно від виду-едифікатора агроценозу [24]. А у даній публікації наведено вичерпний опис виявлених видів ЕПН в Україні. Зокрема, коротко подається інформація про особливості біології та наукове значення, загальний ареал і поширення видів в Україні, описуються умови існування видів, подано загальну морфологічну характеристику та морфометрію видів, а також стисло висвітлено господарське (комерційне) значення, інші аспекти практичного використання видів.

Виявлені ізоляти ентомопатогенних нематод віднесено до трьох видів — *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema* sp. (близький до представників групи «glaseri») та *Heterorhabditis bacteriophora*. Встановлено, що ЕПН проявляють неабияку мінливість майже за усіма проаналізованими морфометричними характеристиками та індексами (M (min-max), мкм), що ускладнювало процес ідентифікації окремих видів. Зокрема це стосується *Steinernema* sp. (група «glaseri»). Нині проводиться уточнююча діагностика даного ізоляту, тому в даній роботі він не представлений детально. Результати цих досліджень будуть представлені та обговорені пізніше. Однак, зазначимо, що за попередніми морфолого-морфометричними параметрами інвазійних личинок (ІЛ) даний ізолят віднесено нами до т.зв. морфологічної групи «glaseri». Наразі існують 4 такі групи, які демонструють взаємозв'язок між певними близькими видами ЕПН роду *Steinernema*, що базується на довжині тіла 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). Існує ще одна невелика група «bicornutum», ІЛ якої відрізняються від решти тим, що мають дві характерні рогоподібні структури в області голови [25].

Нижче наводимо відомос-

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

Надродина Rhabditoidea Orley, 1880
Родина Steinernematidae Filipjev, 1934 = Neoalectanidae Sobolev, 1953
Рід Steinernema Travassos, 1927 = Neoalectana Steiner, 1929
Steinernema carpocapsae (Weiser, 1955) Wouts, Mráček, Gerdin & Bedding, 1982 (рис. 1) = Neoalectana carpocapsae Weiser, 1955

Особливості біології та наукове значення. Ендопаразит (ентомопатоген) комах та інших артропод (Arthropoda) виступає облігатним хайяїном для кишечних грамнегативних 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 захисту від комах-шкідників. *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 Strongyloidea [26].

Ареал виду та його поширення в Україні. Вид зареєстровано у багатьох країнах Північної та Південної Америки, Австралії, Африки, Європи та Азії [10]. В Україні виявлено в зонах Полісся та Лісостепу. Адміністративні регіони: Київська, Вінницька, Житомирська та Чернігівська області [13,

23, 24]. (Примітка. Ми наводимо нові місцезнаходження даного виду для території України. *Steinernema carpocapsae* уперше виявлено в Чернігівській та Житомирській областях).

Умови існування. Звичайний та відносно поширений вид у фауні України. Нами виділений із сільськогосподарських угідь плодкових насаджень — кісточкові, зерняткові, ягідні, горіхоплідні культури (*Malus domestica*, *Pyrus communis*, *Prunus domestica*, *Prunus cerasus*, *Prunus armeniaca*, *Prunus avium*, *Prunus persica*, *Juglans regia*, *Morus nigra*, *Hippophae rhamnoides*, *Viburnum opulus*) та польових культур — гречка, соняшник, овес, квасоля, гарбузи, люцерна. Інші дослідження, проведені в Україні, також виявили даний вид здебільшого в агроценозах садів (насадження абрикоса, груші та смородини), польових культур (посіви буряків цукрових) та природних біоценозах (грабові ділянки лісу) [12, 13].

Загальна морфологічна характеристика. Морфологічні характеристики нематод виявлених ізолятів *Steinernema carpocapsae* знаходяться у межах раніше описаних для даного виду. Проведені морфометричні дослідження показали, що інвазійні личинки, виділені нами з різних зон та регіонів країни, не мали істотних відмінностей (табл. 1). Довжина личинок виявлених ізолятів в середньому 522—530 мкм, що узгоджується з іншими дослідженнями. Самці I генерації виявлених ізолятів також не відрізнялись від описів інших вчених. Варто зазначити, що форма хвоста варіювала всередині популяцій, але розміри суттєво не відрізнялись. Отже, такий фактор, як географічна віддаленість, відіграє незначну роль у морфології *S. carpocapsae*. Морфометричні параметри інвазійних личинок третього віку та самців першого покоління наведено в таблиці 1.

1. Морфометричні параметри виявлених популяцій *Steinernema carpocapsae* із різних регіонів України*

Ізоляти ЕПН Параметри	Полісся		Лісостеп
	Житомирська обл. (ізолят Овр-1)	Чернігівська обл. (ізолят Мор-1)	Київська обл. (ізолят DD-5)
Інвазійні личинки (L3) (n=10)			
L	530 (516-548)	522 (445-550)	527 (513-552)
W	24 (21-27)	22 (19-26)	23,5 (21,3-26,4)
EP	36,2 (32,4-39)	31,6 (30-37,4)	33 (30-36)
ES	105 (102-108)	100 (96-110)	107 (102-113)
TL	50,5 (47,5-55)	46 (44-51)	48,5 (46-59)
ABW	25 (17-36)	28 (19-34)	28,6 (19-32)
D%	35 (34-38)	31 (30-37)	30 (26-32)
E%	70 (64-78)	69 (60-77)	65 (60-72)
Самці (♂) I генерації (n=10)			
L	1282 (1074-1378)	1510 (1110-1766)	1293 (1124-1424)
W	170 (140-182)	135 (78-168)	113 (96-126)
TL	21,5 (15-27)	25 (18-30)	19 (16-20,4)
ABW	59 (44-73)	52 (44-73)	62 (44-73)
SL	67 (66-68)	67,9 (66-72)	61,3 (57,6-63)
GL	42 (39-44)	45 (42-54)	42 (38-45)
EP	66 (64-84)	69 (60-73)	60 (55-65)
ES	165 (140-196)	168 (138-189)	141 (125-148)
D%	45 (40-50)	41 (32-49)	39 (37-41)
E%	33 (27-38)	29 (22-39)	25 (24-26)
GS%	60 (57-71)	67 (60-75)	71 (63-84)
SW%	122 (110-136)	130 (114-140)	98 (91-113)
Примітка: * — вимірювання наведено в мкм і представлено у формі: M (min-max)			

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

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

Інвазійні личинки третього віку (n=10). Тіло тонке, вкрите оболонкою. Глотка довга і вузька, часто дегенерована. Нервово

кільце локалізовано на 60% довжини глотки. Хвіст подовжений і конічний (рис. 1).

Господарське та комерційне значення. Має сільськогосподарське та біомедичне значення. Застосовується в якості біоінсектицидів. Інші антибіотичні властивості (нематодцидні, фунгіцидні зокрема) вивчені недостатньо.

Групи тварин, що уражуються. Має широкий спектр хазяїв, уражуються близько 200 видів комах на різних стадіях розвитку з різних рядів та родин, серед яких у 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.

Володіє також антибіотичними властивостями, зокрема щодо фітопаразитичних нематод NEMATODA [6] та можливою ортологією його токсинів для нематод-паразитів ссавців [26].

Надродина Strongyloidea Baird, 1853
Родина Heterorhabditidae Poinar, 1976
Рід Heterorhabditis Poinar, 1976 = <i>Chromonema</i> Khan, Brooks & Hirschmann, 1976
Heterorhabditis bacteriophora Poinar, 1976 (рис. 2) = <i>Chromonema heliothidis</i> Khan, Brooks & Hirschmann, 1976

Особливості біології та наукове значення. Ендопаразит (ентомопатоген) комах та інших артропод (Arthropoda) виступає облігатним хазяїном 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 па-

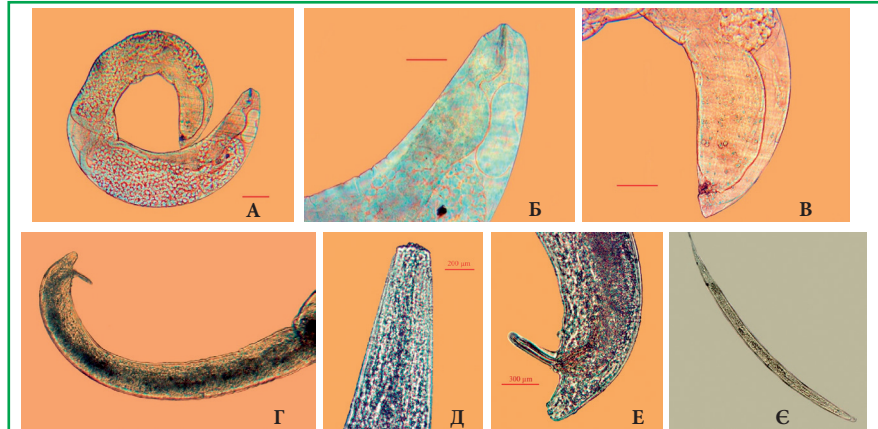


Рис. 1. *Steinernema carpocapsae* (ізолям DD-5).

А, Б, В — ♀ генерації: А — загальний вигляд, Б — передній кінець тіла, В — каудальний кінець тіла. Г, Д, Е — ♂ генерації: Г — загальний вигляд (середня та задня частини тіла), Д — передній кінець тіла, Е — каудальний кінець тіла. Є — загальний вигляд інвазійної личинки (L3) (світлова мікроскопія). Оригінал

разитизм, симбіоз і гетерогенне визначення статі [27].

Ареал виду та його поширення в Україні. Вид зареєстровано у багатьох країнах Північної та Південної Америки, Австралії, Африки, Європи та Азії [10]. В Україні виявлений у зонах Полісся, Лісостепу та Степу. Адміністративні регіони: Київська, Миколаївська, Житомирська та Чернігівська області [13, 23, 24].

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 пло-

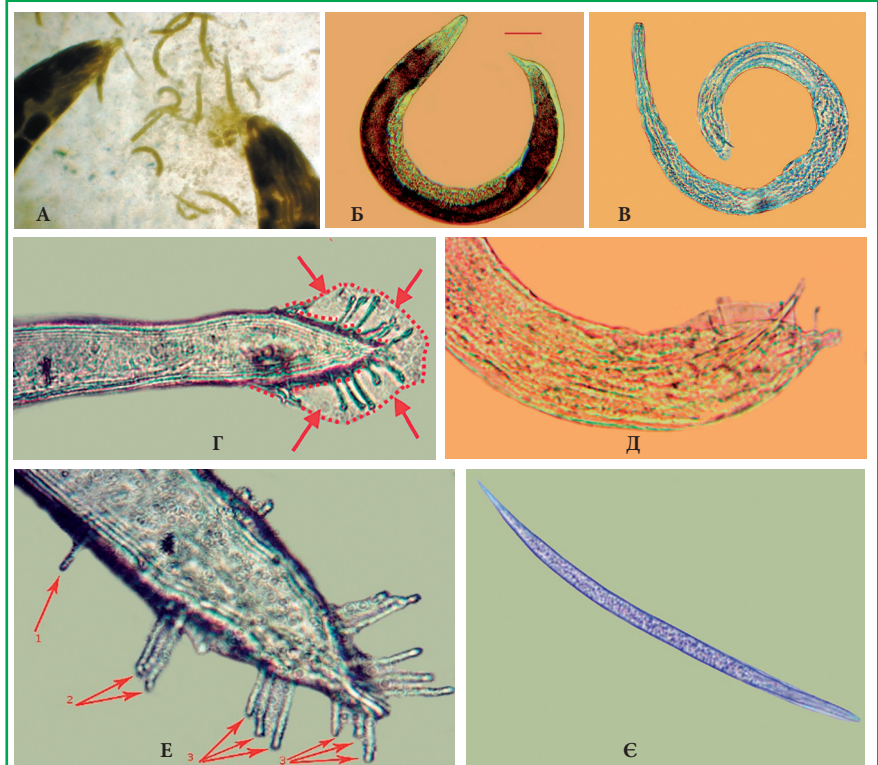


Рис. 2. *Heterorhabditis bacteriophora* (ізолям DD-14).

А — ♀ генерації заповнена ювенільними личинками (т. зв. «endotokia matricida»), вихід личинок транскутикулярно. Б — загальний вигляд ♀ II генерації. В—Е — ♂ II генерації. В — загальний вигляд. Г, Д, Е — каудальні (хвостові) кінці тіла. Г — фронтальний вигляд, стрілками позначена бурса. Д — сагітальний вигляд, губернакулум та спікули. Е — стрілками позначені пари бурсальних папіл. Є — загальний вигляд інвазійної личинки (L3) (світлова мікроскопія). Оригінал.

вих насаджень — 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*), а також декоративних насаджень вічнозелених рослин — *Juniperus communis*, *Thuja occidentalis*. Інші дослідження, проведені в Україні, виявили даний вид виключно в агроценозах, зокрема в садах (насадження яблуні). В природних біоценозах вид поки не виявлено [13, 23].

Загальна морфологічна характеристика. Морфологічні характеристики нематод виявлених нами популяцій *H. bacteriophora* знаходяться у межах раніше описаних для даного виду, зокрема і першоопису [28]. У виявленій нами популяції з Київської області дещо більші розміри довжини хвоста у самців, у порівнянні з ізолятами *H. bacteriophora* з інших регіонів. Також виявлено наявність у них покресленості кутикули з 4–5-ма поздовжніми лініями (валиками), які виразніше проявляються ближче до хвостового відділу. Морфометричні параметри наведено в таблиці 2.

Самиці I генерації (гермафродитні) ($n=10$) помітно більші за самиць II генерації (рис. 2). 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

2. Морфометричні параметри виявлених популяцій *Heterorhabditis bacteriophora* із різних регіонів України*

Ізоляти ЕПН Параметри	Полісся		Лісостеп
	Житомирська обл. (ізолят Ovr-2)	Чернігівська обл. (ізолят Ost-4)	Київська обл. (ізолят DD-14)
Інвазійні личинки (L3) (n = 10)			
L	550 (506-610)	512 (504-520)	600 (520-660)
W	21,4 (19-24)	20,3 (19-22)	23 (21-25)
EP	100 (82-106)	89 (86,4-90)	105 (89-108)
ES	117 (110-120)	109 (106-112)	116 (108-120)
TL	85 (80-90)	90 (80-95)	94,4 (78-114)
ABW	–	–	–
D%	84 (82-89)	81 (79-85)	93 (70-100)
E%	110 (100-120)	100 (90-110)	108 (100-117)
Самиці (♂) II генерації (n=10)			
L	968 (890-1026)	850 (770-940)	925 (895-1018)
W	44,7 (42-48)	47,5 (45-48)	57,5 (39,5-97)
TL	22 (18-24)	27 (24-31)	35,5 (31-42,3)
ABW	23,2 (18,3-26,7)	21 (1,3-25,5)	23,1 (19-25,4)
SL	38,3 (37-43)	42,6 (37-48)	41,2 (33,8-46,5)
GL	22,7 (19-24)	24,3 (23-26)	21,5 (18,3-23,9)
EP	134 (107-162)	136,4 (115,5-169,0)	97,6 (84,5-119,7)
ES	100 (89-102)	103 (98-107)	115,3 (101,4-139,4)
D%	118,4 (104,8-150,7)	86,8 (77,9-107,6)	92 (77,9-107,6)
E%	–	–	–
GS%	52,2 (43,7-57,7)	4,8 (43-61)	49,8 (42,3-65)
SW%	179,8 (150,2-220,4)	180,6 (117,6-230,8)	180,6 (117,6-230,8)
Примітка: * — вимірювання наведено в мкм і представлено у формі: M (min-max)			

простежується, на кінці утворює пальцеподібний виступ, термінус до деякої міри відокремлений. Анус спереду ясно прикритий кутикулою (рис. 2).

Самиці II генерації ($n=10$) схожі на самиць першої генерації. Голова овальна, злегка відокремлена від тіла, її висота становить 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 генерації простежується звуження в середній частині, термінус більш загострений (рис. 2).

Самиці II генерації ($n=10$). Довжина тіла варіює від 850 до 968 мкм, ширина — 44,7–57,5 мкм. Поверхня кутикули виразно покреслена 4–5-ма поздовжніми лініями (валиками), які виразніше проявляються ближче до хвостового відділу. Голова зовсім не відокремлена від тіла, ротова порожнина дуже малень-

ка. Відстань від голови до основи стравоходу становить 102,6 (97,5–110) мкм, видільна пора не проглядається. Сім'яник один, дзеркальний, спікули парні, симетричні, завдовжки 38,3–41,2 мкм, прямі, на дистальному кінці загострені. Головка спікул варіює по формі. Губернакулум паличкоподібний, завдовжки 21,5–24,3 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. 2).

Інвазійні личинки третього віку ($n=10$). 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. 2).

Господарське та комерційне значення. Має сільськогосподарське та біомедичне значення. Застосовується в якості біоінсектицидів. Інші антибіотичні властивості (нематотицидні, фунгіцидні зокрема) вивчені недостатньо.

Групи тварин, що уражуються. *H. bacteriophora* уражують 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.

H. bacteriophora володіють також іншими антибіотичними властивостями, зокрема



щодо фітопаразитичних нематод NEMATODA [6].

ВИСНОВКИ

Виявлені нами з агроценозів ентомопатогенні нематоди (Steinernematidae, Heterorhabditidae) поглиблюють знання про нематодофауну країни для подальших досліджень їхнього ефективного використання як біологічних агентів проти комах-шкідників сільського господарства. Для двох видів ентомопатогенних нематод виявили нові локалітети: *Steinernema carpocapsae* та *Heterorhabditis bacteriophora* уперше виявлені у зразках ґрунту із Житомирської та Чернігівської областей.

Фінансування: Дослідження проведено за рахунок бюджетної тематики Інституту захисту рослин НААН (12.01.00.21.П. Розробити превентивні та контролюючі протинематодні заходи в системі фітосанітарної безпеки (№ДР 0116U003530) у 2016—2018 роках.

Конфлікт інтересів: автор декларує про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

- Штейнхауз Э. Патология насекомых ; пер. с англ. В.В. Хвостова, И.В. Цоглина ; под ред. Е.Н. Павловского. Москва: Иностранная литература, 1952. 839 с.
- Положенцев П.А. Черви — паразиты насекомых. Природа. 1956. № 12. С. 102-104.
- Злотин А.З. Техническая энтомология. Киев: Наукова думка, 1989. 183 с.
- Спиридонов С.Э. Энтомопаразитические и энтомопатогенные нематоды. В кн.: Патогены насекомых: структурные и функциональные аспекты ; под ред. В.В. Глушова. Москва: Круглый год, 2001. С. 428-474.
- 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. Brill, Leiden, 429 pp.
- 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. Doi: 10.1590/S1519-566X2001000200001
- Griffin C.T., Downes M.J., Block W. Tests of Antarctic soils for insect parasitic nematodes. *Antarctic Science*. 1990. Vol. 2(3). P. 221-222.
- Hominick W.M. Biogeography. In Gaugler R. (Eds), *Entomopathogenic Nematology*. CAB International, Wallingford. 2002. P. 115-143.
- Poinar G.O. Jr., Grewal P.S. History of entomopathogenic nematology. *Journal of Nematology*. 2012. Vol. 44 (2). P. 153-161.
- 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. Doi: 10.1186/s41938-020-0212-y
- Кириянова Е.С., Пучкова Л.В. Новый паразит свежловичного долгоносика *Neoplectana bothynoderi* Kirjanova et Putschkova, sp. n. (Nematodes). *Тр. зоол. ин-та АН СССР*. 1955. Т. 18. С. 53-62.
- 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. Т. 2 (7). С. 1-11.
- Сігарьова Д.Д., Олененко В.В., Граціанова Н.В. Видовий склад ентомопатогенних нематод родів *Steinernema* та *Heterorhabditis*, виявлених на території України. Інформаційний бюлетень ВПРС МОББ (спецвип. приуроч. науч.-практ. симпозиуму «Біологічна заштита растений на пути инноваций»). 2012. № 43. С. 63-66.
- Yakovlev Ye.B., Kharchenko V.A., Mráček Z. Findings of entomopathogenic nematodes (Rhabditida, Steinernematidae) in nature reserves in Ukraine. *Vestnik zoologii*. 2014. Vol. 48. P. 167-173.
- Yakovlev Ye., Nermuf 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.
- 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.
- Bedding R.A., Akhurst R. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*. 1975. Vol. 21(1). P. 109-110.
- White G.F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*. 1927. Vol. 66. P. 302-303.
- Яковлев Е.Б., Харченко В.О. Методи вивчення ентомопатогенних нематод. Вісник Київського національного університету ім. Т. Шевченка. Біологія. 2015. Вип. 3 (68). С. 51-54.
- Лазаревская С.Л. К методике изучения нематод насекомых. *Труды ГЕЛАН СССР*. 1962. № XII. С. 43-51.
- Суменкова Н.И. О методах приготовления препаратов нематод для морфотаксономических исследований. *Фитогельминтологические исследования*. Москва: Наука, 1978. С. 127-136.
- Nguyen K.B., Smart Jr G.C. Identification of entomopathogenic nematodes in the Steinernematidae and Heterorhabditidae (Nematoda: Rhabditida). *Journal of nematology*. 1996. Vol. 28(3). P. 286-300.
- 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.
- 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. Doi: 10.2478/vzoo-2019-0028
- Nguyen K.B., Hunt D. Entomopathogenic nematodes: systematics, phylogeny and bacterial symbionts. Leiden: E.J. Brill, 2007. 816 pp.
- 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. Doi: 10.1534/g3.119.400180
- Ciche T. The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora*. In Jonathan Hodgkin and Philip Anderson (Eds.), *WormBook*. The *C. elegans* Research Community. 2007. P. 1-9. Doi: 10.1895/wormbook.1.135.1
- Poinar G.O., Jr. Description and biology of a new insectparasitic rhabditoid, *Heterorhabditis bacteriophora* n. gen. n.sp. (Rhabditida; Heterorhabditidae n. fam.). *Nematologica*. 1976. Vol. 21. P. 463-470.

Kovtun A.,

ORCID: 0000-0002-6119-860X
Odesa State Agrarian University,
st. Panteleimonivska, 13, Odesa,
65012, Ukraine
e-mail: andrii_kovtun@ukr.net

New locality records for *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) fauna of Ukraine

Goal. Of this study is to present new locality records (from agricultural ecosystems) for *Steinernema* and *Heterorhabditis* (Nematoda: Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) fauna of Ukraine. **Methods.** The object of our research were entomopathogenic nematodes collected from different localities of Ukraine between 2016 and 2021. We used stereoscopic microscope MBS-9, light microscope Carl Zeiss Primo Star 100x—1000x and specialized keys for entomopathogenic nematodes identification. **Results.** We analyzed 312 samples for entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae). Entomopathogenic nematodes were isolated from Zhytomyr region, Chernihiv region and Kyiv region. Entomopathogenic nematodes from Zhytomyr region and Chernihiv region is a new record for Ukraine. EPN-positive soil samples with *Steinernema* spp. were noticeably pre-dominating over the *Heterorhabditis* spp. (ratio 1.5 to 1). Three species of entomopathogenic nematodes (*S. carpocapsae*, *Steinernema* sp. «glaseri»-group and *H. bacteriophora*), have been described. The information on the specimens location and brief notes on the habitats is provided. In present study, we examined differences in the morphological and morphometric characters between two EPN species from different regions/zones of Ukraine. **Conclusions.** We found new locality records for two entomopathogenic nematodes species: *S. carpocapsae* and *H. bacteriophora* reported from Zhytomyr region and Chernihiv region of Ukraine for the first time. Further studies aiming to improve the knowledge on entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis*) fauna should focus on collecting in little-known areas and some specific habitats of Ukraine.

entomopathogenic nematodes; Nematoda; Steinernema; Heterorhabditis; species diversity; Ukraine

Надійшла до редакції: 20.04.2023

Прийнята до друку: 04.05.2023

Надруковано й опубліковано онлайн:
липень 2023