

УДК 632.937.01:576.895.132:57

## ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ И ИНВАЗИОННОЙ АКТИВНОСТИ ЭНТОМОПАТОГЕННЫХ НЕМАТОД В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ ИХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Л.Г. Данилов<sup>1</sup>, В.С. Турицин<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный аграрный университет

При использовании энтомопатогенных нематод (ЭПН) в биологическом контроле знание особенностей поведения свободно живущей инвазионной стадии не вызывает сомнения. В этой связи наиболее актуальны сведения о том, каким образом на поведении инвазионных личинок отражается многократное культивирование этих паразитов на искусственных питательных средах (ИПС). В лабораторных экспериментах изучена инвазионная активность культур нематод вида *S. carpocapsae* штамм “*agriotos*” после многократного их культивирования на искусственной питательной среде в условиях промышленного производства. Среди культур нематод после 1–20 пересевов на ИПС доля активных личинок, то есть способных инвазировать хозяина, составила 45–55%. Количество же инвазионных личинок, проникших в тест-насекомое после 40 их пересевов на ИПС в среднем не превышало 28% от общей численности нематод, присутствующих в зоне нахождения насекомых – хозяев, ожидаемого роста интенсивности гибели насекомых с увеличением дозы нематод практически не наблюдается. Такое снижение активности культур нематод будет сопровождаться снижением эффективности нематодных препаратов, что определяет необходимость корректировки норм их расхода в процессе испытаний, либо при практическом их использовании.

**Ключевые слова:** энтомопатогенные нематоды, *Steinernema carpocapsae*, инвазионная активность, культивирование нематод, искусственная питательная среда.

Энтомопатогенные нематоды (ЭПН) из семейств *Steinernematidae* и *Heterorhabditidae* рассматриваются как перспективные агенты биологического контроля численности многих видов насекомых-вредителей [Lawrence, Ноу, Grewal, 2006]. Эти нематоды только в последние годы стали рассматриваться многими исследователями как ор-

ганизмы, отвечающие на многие вопросы паразитической биологии. Имея активную третью стадию инвазионной личинки (как у многих видов нематод) они отличаются от других нематод-паразитов наличием мутуалистической связи с бактериями и представляют собой отличную мо-

дель для изучения вопросов паразитологии [Lewis et al., 2006].

Знание особенностей экологии ЭПН в будущем будет определять и успешность их использования в качестве биологических агентов и, что не менее важно, особого рассмотрения требуют вопросы, связанные с изучением особенностей экологии и поведения культур этих паразитов после многократного их культивирования на искусственных питательных средах (ИПС).

Многократное культивирование нематод на искусственной питательной среде, по мнению ряда исследователей, может привести к уменьшению полезных признаков, таких как вирулентность, экологическая толерантность или репродуктивная способность [Shapiro et al., 1996a; Wang, Grewal, 2002; Bai et al., 2004; Bilgrami et al., 2006]. В качестве мер защиты при этом предполагается, например, сведение к минимуму серийности пассажей, введение свежего генетического материала и усовершенствованных методов криоконсервации маточных культур [Bai et al., 2004] или создание гомозиготных инбредных линий, устойчивых к признакам ухудшения нематодных

культур в процессе их массового производства [Bai et al., 2005; Chaston et al., 2011].

В процессе изучения влияния неблагоприятных условий культивирования нематод *S. glaseri* на возможность проявления эффекта инбридинга, либо генетического сдвига и адаптации нематод к новым условиям существования было установлено, что после 12 пассажей нематод через вошинную моль и японского жука отмечается снижение репродуктивного потенциала нематод и некоторое снижение инвазионной активности при культивировании на вошинной моли в отличие от культивирования их на личинках японского жука [Stuart, Gaugler, 1996].

В своих исследованиях мы сделали попытку изучения особенностей поведения нематод, прошедших многократные пересевы через искусственные питательные среды, с использованием оцениваемых показателей – поисковых способностей и инвазионной активности видов нематод.

Для исследований в данном направлении мы выбрали те вопросы, которые могут быть проверены экспериментально и которые могут быть использованы в повышении эффективности применения биологических препаратов, изготавливаемых на основе ЭПН [Данилов, 2008].

### Материалы и методы исследований.

В лабораторных экспериментах оценивались по инвазионной активности в отношении насекомых-хозяев культуры нематод вида *S. carpocapsae* штамм “*agriotos*” после многократного их культивирования на ИПС в условиях опытно-промышленного производства [Данилов и др., 2003].

Особенности поведения инвазионных личинок нематод оценивали путём заражения тест-насекомых – гусениц большой вошинной моли (*Galleria mellonella*). Гусеницы старших возрастов большой вошинной моли получены из лабораторной популяции.

Оценка зависимости инвазионной активности нематод *S. carpocapsae* от длительности культивирования на искусственных питательных средах проводилась по двум основным показателям: по интенсивности гибели тест-насекомых в зависимости от дозы нематод и числа пересевов ( $LD_{50}$ ,  $LD_{90}$ ) и по интенсивности проникновения инвазионных личинок внутрь тела насекомых в зависимости от дозы нематод и числа пересевов. Первый показатель позволяет определить минимальную дозу нематод, необходимую для ограничения численности целевого объекта, второй показывает, какая часть нематод, составляющих основу препарата, определяет его эффективность, определяемую по снижению численности целевого объекта после применения нематодного препарата.

Инвазионную активность оценивали по интенсивности гибели зараженных насекомых, которая находится в прямой зависимости от интенсивности проникновения (инвазионной активности) паразитов в тело хозяина [Веремчук, Данилов, 1978; Gaugler et al., 1990; Glaser, 1991]. Все культуры нематод испытывали в 4 дозах: 10, 30, 60 и 90 личинок на чашку Петри. В контроле вносили на фильтры воду без нематод. Все варианты опыта и контроль имели 3–5-кратную повторность. Во время учётов погибших насекомых выбирали из чашек, вскрывали на часовом стекле под бинокуляром МБС-10 и определяли причину их гибели. Обнаруженных нематод подсчитывали и таким образом устанавливали интенсивность их проникновения в хозяина, а оценку инвазионной активности энтомопатогенных нематод проводили по показателю  $LD_{50}$  в отношении гусениц вошинной моли.

Экспериментальные данные, получаемые в процессе исследований, подвергались статистической обработке, при этом в зависимости от характера распределения величин использовались параметрические (критерий Стьюдента) и непараметрические (критерий Вилкоксона-Манна-Уитни) критерии различий. Применяли дисперсионный и корреляционный анализы.

### Результаты и обсуждение.

Результаты оценки интенсивности гибели насекомых в зависимости от дозы нематод и числа пересевов отражают зависимость доли погибших насекомых от дозы нематод (табл. 1, рис. 1).

Длительность культивирования нематодно-бактериального комплекса, о чем свидетельствуют полученные нами экспериментальные данные на протяжении 20 пересевов, незначительно отражается на инвазионной актив-

ности нематод. Показатель  $LD_{50}$  для нематодных культур 1, 3, 4, 5 и 6 пересевов составил в среднем от 25 до 34 нематод (таблица 1), а  $LD_{95}$  – 75–81 соответственно.

Уже при дозе 25 нематод на 10 насекомых отмечена их гибель на уровне 75%, тогда как у культур 1–6 пересевов при этой дозе наблюдалась гибель лишь 50–55%. С повышением дозы нематод интенсивность гибели соответствует показателям 1–6 пересева (рис.2).

Таблица 1. Вирулентность инвазионных личинок *S. carpocapsae* для гусениц большой вошинной моли в зависимости от числа пересевов нематод на ИПС

Летальная доза	Номер пересева на ИПС						
	1	3	4	5	6	20	40
$LD_{50}$	25.4 (6–45)	22.0 (7–38)	33.7 (11–56)	29.3 (14–44)	28.0 (13–44)	-	32.9 (14–52)
$LD_{90}$	65.5 (46–85)	73.9 (58–89)	73.6 (51–96)	67.7 (53–88)	72.8 (57–88)	66 (46–86)	-
$LD_{95}$	75.0 (35–95)	83.3 (68–98)	80.7 (58–103)	75.2 (60–90)	80.0 (64–96)	75 (55–95)	-

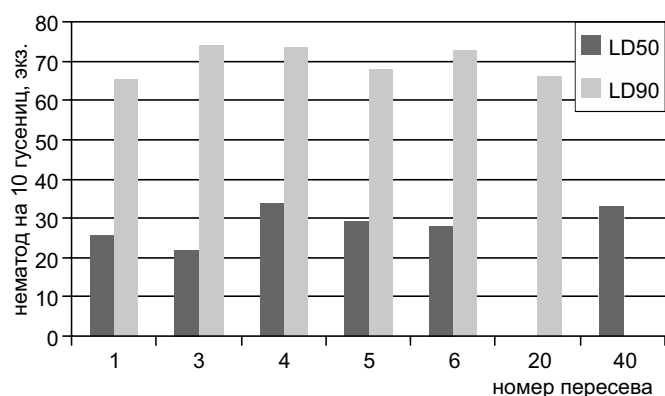


Рисунок 1. Показатели летальных доз инвазивных личинок *S. carpocapsae* для гусениц большой вошинной моли – *G. mellonella* в зависимости от числа пересевов на искусственных питательных средах

Культура нематод после 40 пересевов показала худшие результаты. При дозе приблизительно 30 нематод погибло около 50% насекомых, что примерно соответствует показателям предыдущих пересевов. Однако ожидаемого роста интенсивности гибели насекомых с увеличением дозы нематод практически не наблюдается.

Так, в диапазоне доз от 50 до 100 нематод процент гибели насекомых колебался между 65 и 68%.

Немаловажное значение при оценке активности культур нематод, полученных после многократного их культивирования на ИПС, имеет показатель интенсивности проникновения их инвазивных личинок при определенной их численности в зоне обитания тест-насекомого.

Результаты оценки влияния длительности культивирования нематод на ИПС на способность активно инвазировать насекомое-хозяина представлены в таблице 2 и рисунке 2. Среди культур нематод после 1–20 пересевов на ИПС доля активных личинок, то есть способных инвазировать хозяина, составила 45–55%. И только у нематод 6 пассажа этот показатель был несколько ниже (около 40%).

Худшие результаты по активности проникновения в насекомых показали нематоды после 40 их пересева на

ИПС. Количество инвазивных личинок, проникших в тест насекомое, в среднем не превышало 28% от общей численности нематод, присутствующих в зоне нахождения насекомых – хозяев.

Таблица 2. Влияние числа пересевов *S. carpocapsae* на активность проникновения их инвазивных личинок в тест-насекомых (*G. mellonella*)

№ пересева	Проникло в тест-насекомое инвазивных личинок нематод (% от дозы)
1	55.77±6.55 г
3	45.1±3.44 бвг
4	47.08±3.0 бвг
5	46.88±4.88 бвг
6	39.43±3.22 бв
20	52.5±3.16 г
40	27.88±3.62 а

Примечание: одинаковыми буквами обозначены достоверно не отличающиеся значения ( $p > 0.05$  по критерию Стьюдента).

На основании экспериментальных данных нами также установлено, что количество личинок нематод, активно инвазирующих хозяина, зависит от численности нематод, находящихся в зоне нахождения насекомых (рис. 3).

У инвазивных личинок после разового культивирования нематод на ИПС отмечается рост процента особей, активно инвазировавших тест-насекомых до дозы 60 нематод. С увеличением численности нематод в зоне обитания насекомых отмечается снижение количества нематод проникающих в насекомых.

Аналогичные результаты поведения отмечены и у инвазивных личинок после 5 и 40 пересевов нематод на ИПС. При этом количество проникших в тест-насекомое инвазивных личинок при дозе 100 экземпляров на 10 насекомых соответствовало таковому при дозе 50.

В этой связи наиболее актуальны знания о том, каким образом на поведении этой стадии отражается многократное культивирование данных паразитов в условиях, отличающихся от условий их существования в природе.

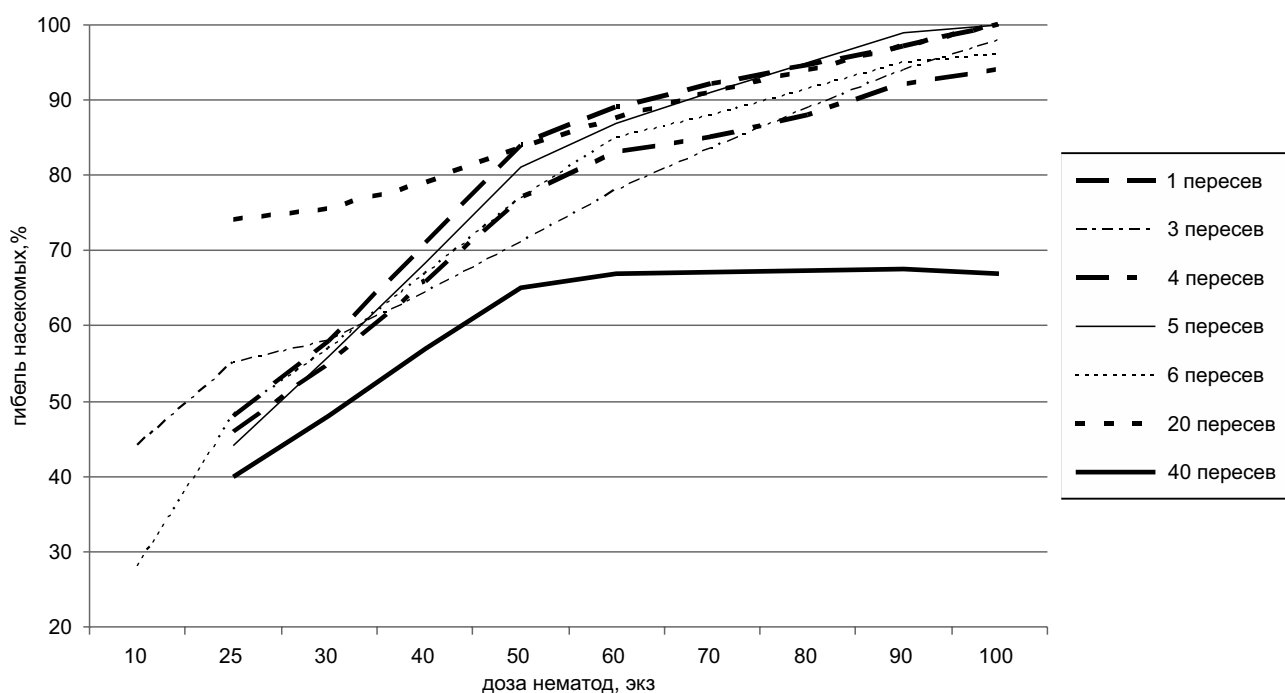


Рисунок 2. Зависимость вирулентности инвазивных личинок нематод *S. carpocapsae* от числа их пересевов на ИПС

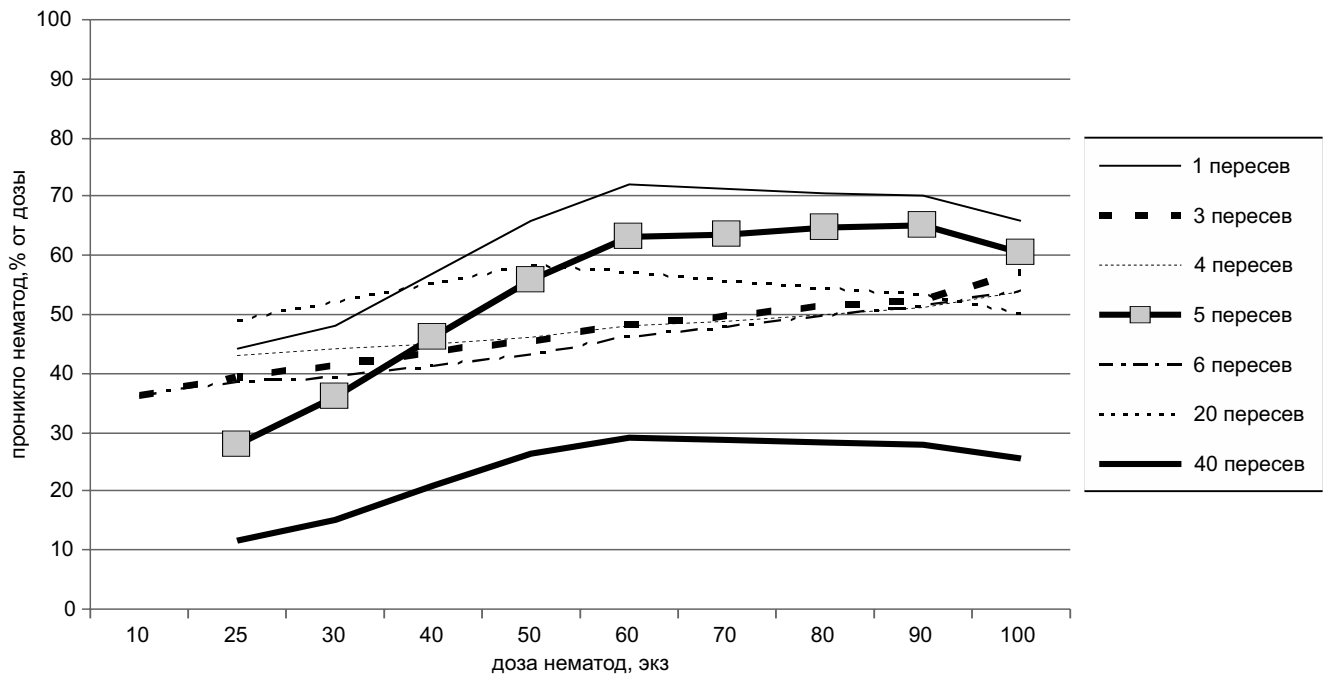


Рисунок 3. Инвазивная активность инвазивных личинок *S. carpocapsae* в зависимости от длительности культивирования в условиях промышленного производства и численности нематод в зоне обитания тест-насекомых

В коммерческих целях ЭПН наработываются в количествах несопоставимых с другими паразитами или хищниками. Первоначально внимание исследователей было направлено на изучение возможностей повышения патогенности ЭПН в отношении насекомых в лабораторных условиях. Большим препятствием для генетического улучшения культур нематод является отсутствие исследований на генетической основе и определения связи эффективности нематод с определенными генетическими показателями.

Большинство известных видов и штаммов нематод выделены из единичных трупов насекомых в одной географической зоне. Поэтому в исходном образце малого размера содержится недостаточное количество аллелей, что значительно снижает генетическое разнообразие выделенного из природной популяции ЭПН изолята и становится реальной опасностью возникновения инбридинга. Проблема инбридинга, возникающая в малых популяциях, не рассматривается как серьезная в колониях большого размера в больших коммерческих программах наработок хищников и паразитов [Roush, 1990].

*S. carpocapsae* штамм «*agriotos*» в условиях опытно-технологической линии ВИЗР постоянно обновляется из живой коллекции ВИЗР, которая пополняется путем отлова нематод на тест-объект из природной популяции этих паразитов [Данилов, Айрапетян, Турицин, 2001]. При этом в одну выборку из природной популяции объединяются изоляты нематод, выращенные в трупах не менее 5–10 тест-насекомых, то есть первоначальный изолят нематод из природной популяции содержит сотни тысяч особей.

*S. carpocapsae* наработывается в одном биореакторе в количестве  $2.14 \times 10^8$  инвазивных личинок [Данилов, Айрапетян, 2004]. При таком количестве возможных скрещиваний в выбранном изоляте нематод не может проявиться инбридинг, даже если они выращиваются во многих генерациях. Однако здесь возникает опасность, что аллели, детерминирующие адаптацию нематод к полевым

условиям, при повышении гетерогенности популяции не проявляются.

Для ЭПН возможность неуправляемой селекции, вероятно, может иметь значение. Причиной может послужить то, что они редко культивируются в насекомом-хозяине, а культивируются в изолированных ёмкостях, что, возможно, может привести к подавлению аллелей, ответственных за поведение нематод в полевых условиях. Подтверждает сказанное информация по изучению поисковых способностей у различных штаммов нематод *S. carpocapsae* в полевых условиях.

При изучении влияния *S. carpocapsae* штамм «*agriotos*» на численность членистоногих в плодовых садах хозяйства «Виноградарь» (Ростовская область) нематоды были внесены в норме 500 тыс. инвазивных личинок на 1 м<sup>2</sup> поверхности почвы. При этом отмечалось максимальное снижение (до 50%) общей численности насекомых фитофагов на обработанном участке. Увеличение и уменьшение дозы нематод сопровождалось повышением численности фитофагов [Данилов и др., 2008]. В среде обитания II-го порядка, то есть вне тела насекомого-хозяина в почве, с возрастанием плотности популяции инвазивных личинок выше оптимальной начинают действовать факторы, регулирующие поведение и инвазивную активность нематод на макропопуляционном уровне, приводящие к тому, что большая часть инвазивных личинок впадает в инактивированное состояние.

Ранее было установлено, что у нематод *S. carpocapsae* штамма *A11*, прошедшего многократные пассажи через ИПС в коммерческих условиях, поисковые способности инвазивных личинок снизились вдвое по сравнению с исходной культурой. При испытаниях таких нематод в полевых условиях при десятикратном увеличении нормы расхода инвазивных личинок в расчете на 1 м<sup>2</sup> поверхности почвы биологическая эффективность нематод против личинок японского жука не превышала 50% [Gaugler, McGuire and Campbell, 1989].

В условиях промышленного производства препаратов на основе ЭПН, когда нематод длительно пересевают на искусственные среды без обновления культуры, неизбежно наступает ситуация, когда при проверке партий препарата на соответствие заявленным свойствам летальные дозы оказываются гораздо выше ожидаемых. В этом случае, чтобы достичь ожидаемого эффекта применения нематодных препаратов, производители вынуждены существенно повышать нормы расхода [Borgemeister et al., 2002; Simard et al., 2006]. Однако это ведет, с одной стороны, к удорожанию препарата, а с другой стороны увели-

чение нормы расхода может и не привести к повышению эффективности, так как при высокой численности особей в популяции нематод в ограниченном месте их обитания увеличивается и численность инактивированных особей. Вскрытые нами некоторые закономерности поведения инвазионной стадии ЭПН могут рассматриваться как значимые при определении возможностей использования ЭПН в биологическом контроле насекомых. Производимые же нематоды для реализации должны быть адаптированы ко многим факторам, включая и культивирование на ИПС.

### Заключение

Изучение особенностей экологии и поведения инвазионных личинок ЭПН, прошедших многократные пересевы через искусственные питательные среды, с оценкой инвазионной активности и поисковых способностей нематод, позволило выявить ряд практически значимых результатов, которые могут быть взяты за основу при массовом размножении этих гельминтов и эффективном использовании в качестве биологических агентов в борьбе с насекомыми вредителями.

Существенное значение имеют полученные экспериментальные данные о том, что в процессе производства нематодных препаратов на искусственных питательных средах качество нематодных культур, оцениваемых по инвазионной активности, не претерпевает существенных изменений на протяжении 20 пассажей. У инвазионных личинок даже после однократного культивирования нематод на ИПС отмечается рост процента личинок, активно инвазивировавших тест-насекомых. Однако после увеличения численности нематод в зоне обитания насекомых до оптимальной величины отмечается снижение количества нематод, проникающих в насекомых.

Следовательно, с возрастанием численности инвазионных личинок в зоне обитания насекомых выше оптимальной начинают действовать факторы, регулирующие

поведение и инвазионную активность нематод на макропопуляционном уровне, приводящие к тому, что большая часть инвазионных личинок впадает в инактивированное состояние.

Многократные пересевы нематод на ИПС существенно отражаются на доле инвазионных личинок, активно проникающих в насекомого-хозяина в зависимости от их численности в зоне обитания последнего. Такая активность снижается у культур нематод после 30–40 - кратного их культивирования на ИПС, что в свою очередь будет сопровождаться снижением эффективности нематодных препаратов и указывать на необходимость увеличения норм их расхода, однако повышения эффективности от применения нематодных препаратов в этом случае не следует ожидать.

Вскрытые закономерности поведения инвазионных личинок ЭПН в почве свидетельствуют о необходимости постоянного контроля качества нематодной культуры в процессе её массового производства на ИПС и своевременного обновления посевной культуры инвазионных личинок из коллекционного материала путем получения чистых отселектированных маточных культур симбиотических бактерий и моноксенных культур инвазионных личинок нематод.

### Библиографический список (References)

- Веремчук Г.В., Данилов Л.Г. Об определении инвазионной активности *Neoraplectana carpocapsae* Weiser (Steinernematidae) / Г.В. Веремчук, Л.Г. Данилов // Тез. докл. Всес. научн. конф. Микробиологические методы борьбы. Кишинев. 1976. С.132–134.
- Данилов Л.Г. Методические подходы к процессам изучения особенностей биологии энтомопатогенных нематод (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) и технологические решения эффективного их использования в качестве средств биологической защиты растений / Л.Г. Данилов // ООО «Инновационный центр защиты растений. «ВИЗР, С.-Петербург-Пушкин, 2003. 32 с.
- Данилов Л.Г. Разработка и практическое использование биологических препаратов на основе энтомопатогенных нематод для защиты растений // Сборн. «Теоретические основы разработки биологических средств защиты растений, новые отселектированные формы полезных организмов, технологии изготовления биологических средств защиты растений и их применение» / Л.Г. Данилов // Москва, 2004. С. 32–52.
- Данилов Л.Г. Немабакт и энтонем-F - биологические препараты на основе энтомопатогенных нематод / Л.Г. Данилов // «Овощеводство и тепличное хозяйство». 2008. N 12. С. 43–45.
- Данилов Л.Г., Айрапетян В.Г., Нашекина Т.Ю., Турицин В.С. Оптимизация процесса культивирования энтомопатогенных нематод семейства Steinernematidae (Nematoda: Rhabditida) на искусственных питательных средах с использованием инертного носителя / Л.Г. Данилов, В.Г. Айрапетян, Т.Ю. Нашекина, В.С. Турицин // Вестник защиты растений, 2003. N 1. С. 54–58.
- Данилов Л.Г., Махоткин А.Г., Васильев С.В., Турицин В.С. Взаимодействие энтомопатогенных нематод *Steinernema carpocapsae* с фауной членистоногих и природными популяциями этих паразитов в биотопе плодового сада / Л.Г. Данилов, А.Г. Махоткин, С.В. Васильев, В.С. Турицин // Паразитология. 2008, том 42(2). С. 129–138.
- Данилов Л.Г., Павлюшин В.А. Состояние, перспективы изучения и практического использования энтомопатогенных нематод (Steinernematidae) и их симбиотических бактерий (*Xenorhabdus*) против насекомых и возбудителей заболеваний растений / Л.Г. Данилов, В.А. Павлюшин // Вестник защиты растений, 2015. 3(85). С. 10–15.
- Bai C, Shapiro-Ilan DI, Gaugler R, Yi S. Effect of entomopathogenic nematode concentration on survival during cryopreservation in liquid nitrogen // Journal of Nematology. 2004. 36. P 281–284.
- Bai C., Shapiro-Ilan DI, Gaugler R., Hopper K.R. Stabilization of beneficial traits in *Heterorhabditis bacteriophora* through creation of inbred lines // Biological Control. 2005. 32. P. 220–227.
- Bilgrami A.L., Gaugler R., Shapiro-Ilan D.I., Adams B.J. Source of trait deterioration in entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* during *in vivo* culture // Nematology. 2006. 8. P. 397–409.
- Borgemeister C., Ebssa L., Premachandra D. et al. Biological control of soil-dwelling life stages of Western Flower Thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) by entomopathogenic nematodes and *Hypoaspis* spp. (Acari: Laelapidae). Integrated Control in Protected Crops, Temperate Climate IOC/wprs Bulletin. 2002. Vol. 25. P. 29–32.
- Chaston J.M., Dillman A.R., Shapiro-Ilan DI, Bilgrami AL, Gaugler R., Hopper K.R., Adams B.J. Outcrossing and crossbreeding recovers deteriorated traits in laboratory cultured *Steinernema carpocapsae* nematodes // International Journal of Parasitology. 2011. 41 P. 801–809.

- Gaugler R., McGuire T., Campbel J. Genetic variability among streins of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* // J. Nematol. 1989. Vol.21. N 2. P. 247–253.
- Glaser I., Galper S., Sharon E. Virulence of the nematode (Steinernematids and Heterorhabditids) - bacteria (*Xenorhabdus* spp.) complex to the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) // J. Invertebr. Patholog. 1991. Vol. 57. N 3. P. 94–100.
- Lawrence J.L., Hoy C.W., Grewal P.S. Spatial and temporal distribution of endemic entomopathogenic nematodes in a heterogeneous vegetable production landscape // Biological Control. 2006. Vol.37. Is. 3. P. 247–255.
- Lewis E.E., Campbel J., Griffin C. et al. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes // Biological Control. 2006. Vol. 38. N 1. P. 47–53.
- Roush R.T. Genetic considerations in the propagations of entomophagous species // See Ref. 1990. Vol. 11. P. 373–378.
- Shapiro-Ilan D.I., Glazer I, Segal D. Trait stability and fitness of the heat tolerant entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* IS5 strain // Biological Control. 1996a, 6. P.238–244.
- Stuart R.J., Gaugler R. Patchines in populations of entomopathogenic nematodes // J. Invertebr. Pathol. 1994. Vol. 64. P. 39–45.
- Wang X., Grewal P.S. Rapid genetic deterioration of environmental tolerance and reproductive potential of an entomopathogenic nematode during laboratory maintenance // Biological Control. 2002. 23. P.71–78.

#### Translation of Russian References

- Danilov L.G. Methodological approaches to the study of biology characteristics of processes of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae) and technological solutions for effective use as means of biological control. St. Petersburg, Innovatsionnyi centr zashchity rastenii VIZR, 2003. 32 p. (In Russian).
- Danilov L.G. Development and practical use of biological preparations based on entomopathogenic nematodes for plant protection. In: Teoreticheskie osnovy razrabotki biologicheskikh sredstv zashchity rastenii, novye otsektirovannyye formy poleznykh organizmov, tekhnologii izgotovleniya biologicheskikh sredstv zashchity rastenii i ikh primeneniye. Moscow, 2004. P. 32–52. (In Russian).
- Danilov L.G. Nemabakt and Entonem-F biological preparations based on entomopathogenic nematodes. Ovoshhevodstvo i teplichnoe hozjajstvo. 2008. N. 12. P. 43–45. (In Russian).
- Danilov L.G., Airapetyan V.G., Nashekina T.Y. Turitsyn V.S. Process of cultivation optimization of entomopathogenic nematodes of the family Steinernematidae (Nematoda: Rhabditida) on artificial nutrient environments using inert carrier. Vestnik zashchity rastenii. 2003. N. 1. P. 54–58. (In Russian).
- Danilov L.G. Makhotkin A.G., Vasiliev S.V., Turitsyn V.S. Entomopathogenic nematodes *Steinernema carpocapsae* interaction with fauna of arthropods and natural populations of these parasites in biotope of fruit garden. Parazitologiya. 2008. V. 42 (2). P. 129–138. (In Russian).
- Danilov L.G., Pavlyushin V.A. Prospects for state examination and practical use of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) and their symbiotic bacteria (*Xenorhabdus*) against insects and pathogens of plants. Vestnik zashchity rastenii. 2015. N 3(85). P. 10–15. (In Russian).
- Veremchuk G.V., Danilov L.G. On definition of invasive activity of *Neoapectana carpocapsae* Weiser (Steinernematidae). In: Tez. dokl. Vses. nauchn. konf. Mikrobiologicheskie metody bor'by. Kishinev. 1976. P. 132–134.

Plant Protection News, 2016, 4(90), p. 66–71

## BEHAVIOUR AND INVASIVE ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES DEPENDING ON CONDITIONS OF CULTIVATION ON ARTIFICIAL NUTRIENT MEDIUM

L.G. Danilov<sup>1</sup>, V.S. Turitsyn<sup>2</sup>

<sup>1</sup>All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Saint Petersburg State Agricultural University, Russia

When using entomopathogenic nematodes in biological control, the knowledge on free-living invasive stage behavior is important. In this context, the most relevant information on this stage is the repeated cultivation of those parasites on artificial nutrient media (ANM). In laboratory experiments, the invasive activity of *Steinernema carpocapsae* strain *agriotos* is examined after repeated cultivation on the ANM at the industrial production. During the cultivation of nematodes on the ANM after 20 transfers, insignificant effect on invasive activity of nematode larvae is found, reaching 45–55%. The number of invasive larvae migrating into test-insects after 40 transfers on the ANM does not exceed 28% of nematodes, on the average, found in the area of host insects. This decline in the nematode number is accompanied by a decrease in the efficiency of nematode drugs that point out the necessity of adjustment of their dose during testing or in their practical use.

**Keywords:** entomopathogenic nematode; *Steinernema carpocapsae*; invasive activity; cultivation; artificial nutrient medium.

#### Сведения об авторах

Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608 Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация

\*Данилов Леонид Григорьевич. Ведущий научный сотрудник, доктор сельскохозяйственных наук, e-mail: biodan@mail.ru

Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Петербургское шоссе, дом 2, 196601, Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация

Турицин Владимир Сергеевич. Доцент, кандидат биологических наук, e-mail: turicin\_spb@mail.ru

#### Information about the authors

All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo shosse, 3, 196608, St Petersburg, Pushkin, Russian Federation

\*Danilov Leonid Grigorievich. Leading researcher, DSc in Agriculture, e-mail: biodan@mail.ru

St. Petersburg State agricultural University, Petersburgskoe shosse, 2, 196601, St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation

Turitsyn Vladimir Sergeevich. PhD in Biology, e-mail: turicin\_spb@mail.ru

\* Ответственный за переписку

\* Responsible for correspondence