ენტომოპათოგენური ნემატოდების ძიება და მათი გამოყენების საფუძვლები უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ ბიოლოგიური კონტროლისათვის საქართველოში

მარიამ ჩუბინიშვილი

სადისერტაციო ნაშრომი წარდგენილია საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტის სადოქტორო სკოლის აგრონომიულ ფაკულტეტზე აგრარულ მეცნიერებათა დოქტორის აკადემიური ხარისხის მინიჭების მოთხოვნების შესაბამისად

სადოქტორო პროგრამა: აგრარული მეცნიერებები

სამეცნიერო ხელმძღვანელები:

პროფ. ცისია ჩხუბიანიშვილი - ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
მზაღო ლობჟანიძე - ბიოლოგიის მეცნიერებათა აკადემიური დოქტორი, პროფესორი

საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი
თბილისი 2018

დეკლარაცია

როგორც წარდგენილი სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი, ვაცხადებ, რომ ნაშრომი წარმოადგენს ჩემ ორიგინალურ ნამუშევარს და არ შეიცავს სხვა ავტორების მიერ აქამდე გამოქვეყნებულ, გამოსაქვეყნებლად მიღებულ ან დასაცავად წარდგენილ მასალებს, რომლებიც ნაშრომში არ არის მოხსენებული ან ციტირებული სათანადო წესების შესაბამისად.

მარიამ ჩუბინიშვილი

/ხელმოწერა/ */თარიღი/*

ენტომოპათოგენური ნემატოდების ძიება და მათი გამოყენების საფუძვლები უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ ბიოლოგიური კონტროლისათვის საქართველოში

საქართველოს ლანდშაფტი მრავალფეროვანია - განვითარებული მემცენარეობით, სადაც სასოფლო-სამეურნეო და ტექნიკურ კულტურებში გავრცელებული მავნე მწერებისაგან გამოწვეული ზიანი საშუალოდ ¼-მდე ამცირებს მოსავალს. ცნობილია, რომ მავნებლებისაგან მცენარეთა დაცვაში ქიმიური საშუალებების გამოყენებას გააჩნია რიგი უარყოფითი მხარეები. ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქციის მიღებას განაპირობებს გარემოსათვის უსაფრთხო მცენარეთა დაცვის ბიოლოგიური საშუალებების გამოყენება.

მავნე მწერების წინააღმდეგ ენტომოპათოგენური ნემატოდების (ეპნ), როგორც ბიოლოგიური კონტროლის აგენტების გამოყენება ერთ-ერთი ეფექტური და უსაფრთხო მიდგომაა მავნე ორგანიზმების მართვის ინტეგრირებულ (IPM) სისტემაში. დღეისათვის მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში მიმდინარეობს ნემატოდური პრეპარატების წარმოება და ფართოდ გამოყენება, როგორც მიწისზედა, ისე მიწისქვეშა ბინადარი მავნე მწერების მიმართ.

ნემატოდები - მრგვალი ჭიები (ქვეტიპი: Nemathelminthes, კლასი: უმდაბლესი ჭიები) შეიძლება იყოს თავისუფლად მცხოვრები, მტაცებელი ან პარაზიტული (პათოგენური). პარაზიტული სახეობებიდან ენტომოპათოგენური ნემატოდები სასარგებლოა მავნე მწერებთან ბიოლოგიური კონტროლისათვის.

საქართველოს აგროცენოზებიდან მოძიებულია ეპნ-ის ადგილობრივი შტამები *Steinernema* გვარიდან, კულტივირებულია საცდელ მწერებზე, იდენტიფიცირებულია, როგორც *Steinernema feltiae* (აშშ, არიზონას უნივერსიტეტი) და რეპროდუცირებულია *in vivo* და *in vitro* მეთოდებით (ისრაელი, საქართველო). შესწავლილია სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობა და პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების გზები, გამოყვანილია ეპნ-ის აქტიური და გამძლე შტამები. გენეტიკური და ბუნებრივი სელექციისა გზით (ისრაელი), დადგენილია სასოფლო-სამეურნეო

კულტურების უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ ეპნ-ის მოქმედება, შემუშავებულია ბიოკონტროლში ადგილობრივი ეპნ-ის გამოყენების საფუძვლები.

ღია გრუნტში ეპნ-ის გამოყენებაზე შესწავლილია *S. feltiae*-ს და ამერიკული თეთრი პეპელას - *Hypanthria cunea* ურთიერთდამოკიდებულება - ნემატოდური ხსნარებით მწერის მატლების ინვაზიისა და ეპნ-ის სიცოცხლიუნარიანობისა და ეფექტურობის გახანგრძლივებისათვის.

დადგენილია, რომ ნაკლებ ეფექტურია ნემატოდების შესხურება მცენარის მიწისზედა ნაწილებზე, შემზღუდველი ფაქტორია მცენარის მწვანე საფარიდან ხსნარის სწრაფი აორთქლება და ეპნ-ის გამოშრობა. შესწავლილია ხსნარებზე ანტიდესიკანტი ნივთიერებების დამატების დადებითი როლი.

ნიადაგში მცხოვრები მავნებლების მიმართ ეპნ-ის გამოყენებაზე, კვლევა ჩატარებულია სათბურის კულტურებისა და საჭმელი სოკოების მავნებლების: ფესვის კოღონების, *Lycoriella spp.* და *Bradysia spp.* (Diptera: Sciaridae) წინააღმდეგ, სადაც დადგენილია *S. feltiae* ეფექტური დოზები - 1.0-დან 1.5-მდე x 106 IJs/მ^2, სოკო შამპინიონის (*Agaricus bisporus*) სათბურებში კოღონების ლარვების წინააღმდეგ *S.feltiae*-ს ქართული შტამები იძლევა საუკეთესო შედეგს (მავნებლის სიკვდილიანობა - 94%).

დადგენილია ეპნ-ის სუსპენზიების (1000 IJs/მლ) ეფექტიანობა ლაბორატორიაში, როგორც საცდელი მწერების (*Galleria mellonella* - 98 %), ისე მავნე მწერების წინააღმდეგ (*Tuta absoluta* – 78 %, *Aphis rapae* – 41 %). შემუშავებულია ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიები.

S. feltiae ქართული შტამის ინფექციურ საწყისზე მოხდა მაღალვირულენტური, იდენტიფიცირებული შტამების ჯვარედინი ჰიბრიდიზაცია. შესწავლილია *S. feltiae-ს* „ქართული შტამი“, მისი ფორმულაციის - *Geo-nema* კომერციული პოტენციალი.

შტამებზე დამზადებული ბიოლოგიური ინსექტიციდი, რომელიც რეგისტრირებულია „*Geo-nema*“-ს სახელით, განიხილება, როგორც გარემოსათვის უსაფრთხო, კონკურენტუნარიანი საშუალება, რომლითაც გამდიდრდა მავნე მწერებთან ბიოლოგიური ბრძოლისათვის უსაფრთხო საშუალებების არსენალი.

საკვანძო სიტყვები: ბიოსფერო, IPM, ეპნ, ქართული შტამი, ბიოკონტროლი

Investigation of Entomopathogenic Nematodes and Outline of Application for the Major Pest Insects' Biological Control in Georgia

Georgia's biosphere is diversified with highly developed plant production, where the pest insects cause the ¼ of yeld loss in the agricultural and technical crops. Use of chemical means for plant protection has its several disadvantages. Biological plant protection ensures obtaining the environmentally friendly crop production.

Use of Entomopathogenic Nematodes (EPN) as biological control agents to pest insects is the safe approache to Integrated Pest Management (IPM). Numerous nematode preparations are commercially produced around the globe.

The **nematodes** or **roundworms** constitutethe phylum **Nematoda** (also called *Nemathelminthes*). They could be free living, predators or parasites (pathogens). Several parasitic species considered as beneficial, to be able to control pest insect populations (*Steinernema* and *Heterorhabditis*).

Steinernematidae nematodes have been derived from Georgian agrocenoses, cultivated at the Biocontrol Laboratory and identified thereafter as a *Steinernema feltiae* local, Georgian strains (Arizona State University, USA). EPNs are reproduced *in vivo* and *in vitro* (Israel, Georgia). The study has been carried out for enhancement of EPN tolerance and the Genetical Improvement of Pathogenesis Ability towards Stress Factors, highly virulentive and resistant strains are breeded.

EPN's pathogenicity to the major agricultural pest insects has been established by genetic selection and natural breeding (Israel), the basis of the local EPN application has been developed for the biological control purpose of the major pest insects.

S. feltiae and the American white moth – *Hyphanthria cunea* interaction was studied for determination EPNs invasion index to the above-ground pest insects in field conditions, as for the extensibility of EPN activity and effectiveness.

It was established that EPNs are the less effective when applied to soil surface, in field condition, where the main limiting factors are the rapid evaporation and dehidratation of the EPN solutions. However the EPN effectiveness increases if antidessicant substances are added.

EPNs application study against the soil dwelling pests is carried out *for Sciarid* flys *Lycoriella*, *Bradysia* spp. (Diptera: *Sciaridae*) to champignon (*Agaricus bisporus*) greenhouses, where *S. feltiae* effective doses are - 1.0 to 1.5 x 106 IJs / m^2. The best results for *Lycoriella* sp. control are obtained by *S. Feltiae* (94% of the larval mortality), the better result than mortality by chemical means (Grewal, 2007).

The EPNs suspension efficacy (1000 IJs/ml) was established to the test insects (*Galleria mellonella* - 98%) as for the pests (*Tuta absoluta* - 78%, *Aphis rapae* - 41%) in laboratory conditions.

The cross-hybridization of virulentive identified EPN were performed on the *S. feltiae* Georgian strain basis and commercial potential of "*Geo-nema"* formulation was studied

Biological Insecticide, prepared on EPN *S. feltiae* Georgian strains, registered as "*Geo-nema*", considered as a environmently safe, competitive agent for enrichment the pest biological control means.

Key Words: Biosphere, IPM, EPN, Georgian Strain, Biocontrol

მადლობა

სადისერტაციო ნაშრომის ავტორი მადლიერია და პატივისცემას გამოხატავს სამეცნიერო ხელმძღვანელის, პროფ. ცისია ჩხუბიანიშვილის მიმართ, მის მიერ გაწეული ღვაწლისათვის. ავტორი დიდ მადლობას უხდის - ნაშრომის თანახელმძღვანელს, სრულ პროფესორ მზაღო ლობჟანიძეს მისი მხრიდან პროფესიული მხარდაჭერისათვის; ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტის, ბიოკონტროლის ლაბორატორიის მეცნიერ თანამშრომლებს თანადგომისა და პროფესიული რჩევებისათვის სამეცნიერო შრომებისა და სადისერტაციო ნაშრომის მომზადებაში.

წარმოდგენილი კვლევები და სამეცნიერო აქტივობები შესრულებულია საერთაშორისო და ადგილობრივი ფონდების ფინანსური მხარდაჭერით.

ს ა რ ჩ ე ვ ი

	სარჩევი	1
	ცხრილების ჩამონათვალი	3
	აბრევიატურის ჩამონათვალი.....	3
	გრაფიკების ჩამონათვალი	3
1.	შესავალი	5
1.1.	საკვლევი პრობლემა	5
1.2.	კვლევის მნიშვნელობა	6
1.3.	კვლევის მიზანი	7
1.4.	ჰიპოთეზა და საკვლევი საკითხები	7
2.	სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა	9
2.1.	*ენტომოპათოგენური ნემატოდების შესწავლის ისტორია*	9
2.2.	*ენტომოპათოგენური ნემატოდების გამოყენება მცენარეთა ბიოლოგიურ დაცვაში*	12
2.2.1.	*ეპნ-ის გამოყენება ნიადაგში ბინადარი მავნე მწერების კონტროლისათვის*	14
2.2.2.	*ეპნ-ის გამოყენება მცენარეების მიწისზედა მავნე მწერების მიმართ*	15
2.2.3.	*ენტომოპათოგენური ნემატოდების გამოყენება ნიადაგის ზედაპირზე მცხოვრები მავნე მწერების კონტროლისათვის*	16
2.2.4.	*ეპნ-ის გამოყენება ფარულად მცხოვრები მავნე მწერების კონტროლისათვის*	17
3.	მეთოდოლოგია	21
3.1.	*ექსპერიმენტული ნაწილის შესასრულებლად საჭირო დანადგარები და მასალები*	21
3.2.	*ნემატოდების ძიება*	22
3.3.	*ეპნ-ის იზოლირება და კულტივაცია*	24

3.3.1. *იზოლირება* 24
3.3.2. *კულტივაცია - რეპროდუქციის პოტენციალი* 28
3.4. ***ეპნ-ის იდენტიფიკაცია*** 29
.....
3.5. ***იდენტიფიცირებული შტამების რეპროდუქცია*** 32
.....
3.5.1 *ნემატოდების გამრავლება - in vivo* 32
3.5.2 *ნემატოდების გამრავლება - in vitro* 33
3.6. ***სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის შესწავლა*** 34
....
3.7. ***ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების შესწავლა*** 36
.....
3.7.1. *S. feltiae-ს ჰეტეროგენური პოპულაციის ფონდის შექმნა (HFP)*..... 36
3.8. ***სელექცია*** 36
3.8.1. *გენეტიკური სელექცია* 36
3.8.2. *სელექცია სწრაფი გამოშრობის ტოლერანტობისათვის* 38
3.8.3 *სელექცია ნელი გამოშრობის ტოლერანტობისათვის* 38
3.8.4. *სელექცია პატრონის ძებნის უნარის გახანგრძლივებისათვის* 39
3.9. ***სელექციური შტამების ბიოლოგიური აქტივობის დადგენა*** 40
.....
3.9.1. *ცდები ვარგისიანობის განსაზღვრისათვის* 40
3.10. ***ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლა მავნე მწერების მიმართ*** 41
.....
3.11. ***ბიოპესტიციდის კომერციული პოტენციალის შესწავლა - ბიოფორმულაცია და ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიები*** 47
.....
4 შედეგები 50
.....
4.1. ***ეპნ-ის ძიება*** 50
.....
4.2. ***ეპნ-ის იზოლირება და კულტივაცია*** 52
.....
4.3. ***ეპნ-ის იდენტიფიკაცია*** 54
.....
4.4. ***იდენტიფიცირებული შტამების რეპროდუქცია*** 54
.....
4.5. ***სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის შესწავლა*** 55
....

4.6. *ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების შესწავლა* 57
4.6.1. *ეპნ-ის ვარგისიანობის განსაზღვრა* 58
4.7. ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლა მავნე მწერების მიმართ 61
4.7.1. *ეპნ-ის გამოყენება მავნე მწერების მიმართ ღია გრუნტში* 62
4.7.2 *ეპნ-ის გამოყენება მავნე მწერების მიმართ დახურულ გარემოში* 66
4.8. *ბიოპესტიციდის კომერციული პოტენციალის შესწავლა - ბიოფორმულაცია და ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიების შემუშავება* 68
5 შედეგების ინტერპრეტაცია 71
6 დასკვნა და რეკომენდაციები 73
7 ბიბლიოგრაფია 75
დანართი 1. *Geo-nema*-ს უსაფრთხოების მონაცემთა ფურცელი 88
დანართი 2. *Geo-nema* ბიოფორმულაციის წინასახის-საჩვენებელი მოდელის დიზაინის შექმნა და მისი გაცნობა საზოგადოებისა და ინვესტორებისათვის 93
დანართი 3. სასტენდო მოხსენება „ადგილობრივი ენტომოპათოგენური ნემატოდების ძიების შედეგები საქართველოს სხვადასხვა აგროცენოზებში“ (ქ. ზაგრები, ხორვატია, 2013) 95
დანართი 4. *Geo-nema* –ს გამოყენების პერსპექტივები მავნე მწერების წინააღმდეგ მცენარეთა დაცვაში“ (მაინცი, გერმანია, 2014) 96
დანართი 5. სასტენდო მოხსენება: „ახალი ბიოპესტიციდი *Geo-nema*- ს შემუშავება ადგილობრივი ენტომოპათოგენური ნემატოდების ბაზაზე საქრთველოში“ (ანტალია, თურქეთი, 2014) 97
დანართი 6. ზეპირი მოხსენება: „*Tuta absoluta*-გან ბოსტნეული კულტურების კომპლექსური დაცვა დახურულ გრუნტში“ (რიგა, ლატვია, 2015) 98
დანართი 7. ბიოფორმულაცია *Geo-nema*-ს მიმღებიანობის შესწავლა სათბურის მავნებლებისათვის (ერევანი, სომხეთი, 2015) 99
დანართი 8. საქართველოში სტრატეგიული კულტურების მდგრადი დაცვისათვის ახალი ბიოფორმულაციების განვითარება (ანკარა, 100

	თურქეთი, 2015)	
დანართი 9.	**ნემატოდური ბიოპესტიციდის, *Geo-nema*-ს სარეგისტრაციო მოწმობა**	**101**

ცხრილების ჩამონათვალი

ცხრილი 1.	**ნემატოდების დინამიკა ალაზნის ველის ნიადაგებში**	**53**
ცხრილი 2.	**ეპნ-ის *In-vitro* მეთოდით გამრავლების შედეგები**	**55**
ცხრილი 3.	**ათპ-ს რიცხოვნობის დინამიკა ბუნებაში**	**63**

აბრევიატურის ჩამონათვალი

ეპნ - ენტომოპათოგენური ნემატოდები

IPM - მავნებლების ინტეგრირებული მართვა

M&B - ადამიანი და ბიოსფერო

სფ - სათბურის ფრთათეთრა

ეკ- ევროკავშირი

ათპ - ამერიკული თეთრი პეპელა

HFP - ჰოლოტიპი

გრაფიკების ჩამონათვალი

სურ. 25	იზოლირებული ეპნ საქართველოს სხვადასხვა ნიადაგიდან	გვ.51
სურ. 26	ადგილობრივი ეპნ-ის ინვაზიურობის უნარის შედარება გერმანულ კომერციულ შტამთან	გვ.51
სურ.27	კახეთის რეგიონიდან იზოლირებული ნემატოდები	გვ.52
სურ.29	ეპნ-ის სხვადასხვა კონცენტრაციით გამოწვეული ცვილის ჩრჩილის სიკვდილიანობა	გვ.53
სურ. 30.	სწრაფი გამოშრობის მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის მაჩვენებლები	გვ.56

სურ. 31	ეპნ-ის ხანგრძლივი გამოშრობის შედეგები	გვ.57
სურ. 32.	*S.feltiae*-ს სიცოცხლისუნარიანობა გამოშრობისას	გვ.58
სურ. 33	ქვიშის კოლბებში ეპნ-ის გადაადგილება	გვ.59
სურ. 34	სელექციური პოპულაციის გაუმჯობესებული ტოლერანტობა 12 თაობაში	გვ.59
სურ.35	ეპნ-ის სიკვდილიანობა შესხურებიდან 12 საათის განმავლობაში- Iვარიანტი	გვ.63
სურ. 36	ეპნ-ის სიკვდილიანობა და მოქმედება - II ვარიანტი	გვ.64
სურ.38	ეპნ-ის მოქმედებით გამოწვეული ყურძნის ჭიის მეორე თაობის მატლების სიკვდილიანობა	გვ.65
სურ.39	ეპნ-ის მოქმედებით ყურძნის ჭიის მე-3 თაობის მატლების სიკვდილიანობის მაჩვენებელი	გვ.65
სურ.40	სათბურის ფრთათეთრას მიმართ ეპნ-ის კომბინაციის გამოცდა	გვ.66
სურ.41	*Tuta absoluta*-ს მიმართ გამოცდილი პრეპარატების შედარებითი ეფექტურობა	გვ.67
სურ.42	სათბურის მავნებლების კომპლექსის მიმართ *S.feltiae*-ს ბიოლიგიური ეფექტურობა	გვ.67

1. შესავალი

1.1. საკვლევი პრობლემა

საქართველო ამიერკავკასიის დასავლეთ ნაწილში, შავი ზღვის აღმოსავლეთ სანაპიროზე მდებარეობს და განიხილება, როგორც თანამედროვე ევროპის ნაწილი.

საქართველოს მთელი ტერიტორიის 43.4% (3 მლნ ჰექტარზე მეტი) მოიცავს სასოფლო-სამეურნეო სავარგულებს, საძოვრებისა და მდელოების ჩათვლით. საქართველოს ბიოსფერო მრავალფეროვანია - ფრიად განვითარებული მემცენარეობით, სადაც სასოფლო-სამეურნეო და ტექნიკურ კულტურებში (მარცვლეული, ვაზი, ხეხილი, ბოსტნეული, კაკლოვანი და ზეთოვანი კულტურები, კარტოფილი და სხვ.) გავრცელებული მავნე მწერებისაგან გამოწვეული ზიანი საშუალოდ ¼ -მდე ამცირებს მოსავალს. მწერების მასობრივი გამრავლების დროს აუცილებელი ხდება დაცვითი ღონისძიებების ჩატარება.

ცნობილია, რომ მავნებლებისაგან მცენარეთა დაცვაში ქიმიური საშუალებების გამოყენებას გააჩნია მთელი რიგი უარყოფითი მხარეები - გარემოს დაბინძურება ხდება არაორგანული ნივთიერებებით, დამახასიათებელი მოქმედების ფართო სპექტრით და უარყოფით ზეგავლენას ახდენს როგორც მავნე, ისე სასარგებლო ენტომოფაუნაზე. ქიმიური ნაერთები აღწევს ნიადაგის ღრმა ფენებსა და გრუნტის წყლებში, ირღვევა ბიოლოგიური ჯაჭვი, ქიმიური ნარჩენები აკუმულირდება მცენარეულ პროდუქციაში, აქვეითებს მის ხარისხს და უარყოფითად მოქმედებს ადამიანზე.

საერთაშორისო გლობალური პროგრამის – „ადამიანი და ბიოსფერო“ (M&B) სათანადო პროექტში მცენარეთა დაცვითი ღონისძიებების შემუშავებას მნიშვნელოვანი ადგილი უკავია. სულ უფრო ფართოვდება სასოფლო–სამეურნეო კულტურების მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებულ მართვაში (IPM) ადამიანისა და გარემოსათვის უსაფრთხო საშუალებების მოქმედების ასპარეზი. ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქციის მიღებას განაპირობებს მავნებლების წინააღმდეგ გარემოსათვის უვნებელი

საშუალებების გამოყენება. ამ მხრივ, განსაკუთრებული ადგილი ენიჭება მცენარეთა დაცვის ბიოლოგიურ საშუალებებს.

როგორც მსოფლიო სავაჭრო ორგანიზაციის წევრს, საქართველოს ხელშეკრულებები აქვს გაფორმებული პრეფერენციების საყოველთაო სისტემის ფარგლებში აშშ-თან, კანდასთან, ნორვეგიასა და იაპონიასთან. ასევე, ძალაშია შეთანხმება თავისუფალი ვაჭრობის შესახებ თურქეთთან და უკრაინასთან, ქვეყანას აქვს პრეფერენციალური წვდომა თითქმის ყველა პოსტსაბჭოთა სახელმწიფოს ბაზართან.

2014 წ. საქართველომ ხელი მოაწერა ხელშეკრულებას ფართო და ყოვლისმომცველი თავისუფალი ვაჭრობის შესახებ ევროკავშირთან (ეკ), რაც გულისხმობს, რომ საქართველოდან ექსპორტირებული სასოფლო-სამეურნეო პროდუქტები შეიძლება თავისუფლად შევიდეს ევროპის ბაზარზე იმ პირობით, თუ ეს პროდუქტები შეესაბამება ევროკავშირი მოთხოვნებს. ეს ქმნის დიდ შესაძლებლობებს სოფლის მეურნეობის და ეკონომიკის განვითარებისთვის და ამავე დროს ზრდის მოთხოვნილებას ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქციის წარმოებაზე.

1.2.კვლევის მნიშვნელობა

დღეისათვის ბიოლოგიური კონტროლი მოიაზრება, როგორც მცენარეთა დაცვის ერთ-ერთი გამართლებული მიმართულება და მავნე ორგანიზმების მართვის ახალი ტექნოლოგია, რაც მნიშვნელოვან ადგილს იკავებს სურსათის უვნებლობის სტრატეგიაში.

ბიოლოგიური ფორმულაციები, დაფუძნებული ენტომოპათოგენურ საწყისებზე, წარმოადგენს სასოფლო-სამეურნეო კულტურების მავნებლებისაგან დაცვის ეფექტურ საშუალებებს, რაც, თავის მხრივ, დადასტურებულია უსაფრთხო და ხარისხიანი სასოფლო-სამეურნეო პროდუქციის წარმოებაში გატარებული პრაქტიკული ღონისძიებებით.

უკანასკნელ წლებში, ენტომოპათოგენური ნემატოდები (ეპნ) განსაკუთრებულ ყურადღებას იმსახურებს, როგორც მავნე მწერების რიცხოვნობის მარეგულირებელი, გარემოსათვის უსაფრთხო, ბიოლოგიური აგენტები. დღეისათვის მსოფლიოს მრავალ

ქვეყანაში მიმდინარეობს ნემატოდური პრეპარატების წარმოება და ფართოდ გამოიყენება, როგორც მიწისზედა, ისე ნიადაგში მცხოვრები მავნე მწერების მიმართ ბიოლოგიური კონტროლისათვის. სულ უფრო აქტუალური ხდება ადგილობრივი პათოგენური ნემატოდების ძიება და რეპროდუქცია, მათი გამოყენება და ჩართვა მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებული მართვის (IPM) სისტემებში, სხვადასხვა აგროცენოზისთვის. ამ მნიშვნელოვან საკითხს ეხება წარმოდგენილი სამეცნიერო ნაშრომი.

1.3.კვლევის მიზანი

კვლევის მიზანს შეადგენდა საქართველოს სხვადასხვა აგროცენოზში ენტომოპათოგენური ნემატოდების ადგილობრივი შტამების ძიება, მათი შემდგომი გამოყენების საფუძვლების შესწავლა უმთავრესი მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიური კონტროლისათვის.

1.4.ჰიპოთეზა და საკვლევი საკითხები

ნემატოდების, როგორც ბიოლოგიური აგენტების გამოყენებისადმი ინტერესი მნიშვნელოვნად გაიზარდა ბოლო ორი ათწლეულის განმავლობაში. მსოფლიოს ათასობით მკვლევარი და პრაქტიკოსი სწავლობს ეპნ-ის პოტენციალს მავნე მწერების, მოლუსკებისა და მცენარეთა ნემატოდების მართვაში.

ნემატოდები არის მარტივი, მრგვალი, უფერო ჭიები. ისინი შეიძლება იყოს თავისუფლად მცხოვრები, მტაცებელი, ან პარაზიტული. პარაზიტული სახეობების ნაწილი იწვევს მცენარეების, ცხოველებისა და ადამიანის მძიმე დაავადებებს, ზოგი მათგანი კი - სასარგებლოა მავნე მწერებთან ბიოლოგიური კონტროლისათვის. ესენი არიან ენტომოპათოგენური ნემატოდები გვარების - *Steinernema* და *Heterorhabditis* წარმომადგენლები, რომლებიც მჭიდრო კავშირში არიან მწერებთან, იკვებებიან მკვდარ მწერზე არსებული მიკროორგანიზმებით. მათი პარაზიტიზმი მასპინძელ მწერზე

სხვადასხვა სახით ვლინდება, ესენია - სტერილურობა, დაქვეითებული ნაყოფიერება, სიცოცხლის შემცირებული ხანგრძლივობა, ფრენის შესუსტებული უნარი და შეფერხებული განვითარება (Kaya, Stock, 1997).

ეპნ-ის სახეობები გამოყენებულია მავნე მწერების - ხვატარების, პარკხვევიების, ხერხიების, ხოჭოების, თრიფსებისა და სხვ. კონტროლისათვის (Stock, Hunt, 2005; Koppenhöfer, 2007). მსოფლიოში ცნობილია ეპნ-ის ოცდაათზე მეტი სახეობა მავნე მწერებთან ბრძოლისათვის, მათ შორის მიმდინარეობს დაახლოებით 8 სახეობის კომერციული წარმოება.

ეპნ განიხილება, როგორც მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებული მართვის მნიშვნელოვანი კომპონენტი, მდგრად სოფლის მეურნეობაში. ზოგიერთ სახეობას აქვს უნარი თვითნებურად გამრავლდეს და გააგრძელოს არსებობა გარემოში, სადაც მონაწილეობს ნიადაგის ხარისხის გაუმჯობესებაში და თავსებადია ინტეგრირებულ მართვაში გამოყენებული ქიმიური და ბიოლოგიური პესტიციდების ფართო სპექტრთან. კვლევის მიზნიდან გამომდინარე დასმული იყო შემდეგი საკვლევი საკითხები:

- ნემატოდების ძიება;
- იზოლირება და კულტივაცია;
- ეპნ-ის იდენტიფიკაცია;
- იდენტიფიცირებული შტამების რეპროდუქცია;
- სტრეს-ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის შესწავლა;
- ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესება;
- ეპნ-ის სელექცია;
- სელექციური შტამების ბიოლოგიური აქტივობის დადგენა;
- ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლა მავნე მწერების მიმართ;
- ბიოპესტიციდის კომერციული პოტენციალის შესწავლა - ბიოფორმულაცია და ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიები.

2. სამეცნიერო ლიტერატურის მიმოხილვა

ნემატოდები (ბერძნულად ნიშნავს ‘‘ძაფისებურს’’) მიკროსამყაროს ერთ-ერთი მრავალრიცხოვანი წარმომადგენლები არიან. ზოგიერთი მკვლევარის აზრით მათი სახეობათა რაოდენობა შესაძლებელია ერთი მილიონიც კი იყოს. ნემატოდების 50% ცხოვრობს ოკეანეებსა და ზღვებში, 25% მტკნარ წყლებში და ნიადაგში, 15% ადამიანის და ცხოველის პარაზიტია, ხოლო 10%-კი ცხოვრობს მცენარეებში. ნემატოდებმა ფაქტიურად დაიპყრეს ყველა ბიოტოპი, სადაც კი შესაძლებელია სიცოცხლე (მუდმივი ყინულები, უდაბნოს ცხელი ქვიშები, გეიზერები, წყლისა და ნიადაგის სიღრმეები, უმაღლესი მწვერვალები). მეცნიერთა აზრით ნემატოდები ევოლუციის დღევანდელ ეტაპზე განიცდიან ბიოლოგიურ პროგრესს.

2. 1. ენტომოპათოგენური ნემატოდების შესწავლის ისტორია

ენტომონემატოლოგია - არის ჰელმინთოლოგიის განხრა, რომელიც სწავლობს ნემატოდებს, დაკავშირებულს მწერებთან. ეს ჰელმინთოლოგიური მეცნიერების შედარებით ახალგაზრდა მიმართულებაა. მწერების ჰელმინთები - ფართო, თავისებური ორგანიზმების ჯგუფია, რომელსაც, როგორც თეორიული, ისე პრაქტიკული მნიშვნელობა აქვს. ენტომოჰელმინთოლოგიის ერთერთი დამფუძნებელია გერმანელი მეცნიერი ფუხსი, რომელმაც შეადგინა ენტომონემატოდების კლასიფიკაცია (Fuchs, 1937). შემდგომში ჩატარდა ფუნდამენტური გამოკვლევები ნემატოდების სისტემატიკაში. მწერების ნემატოფაუნის შესახებ მონაცემებს ვხვდებით გამოჩენილი რუსი მეცნიერის კ.სკრიაბინის შრომებში, რომელიც აღნიშნავდა, რომ „მწერების ჰელმინთების შესწავლა გვეხმარება სამომავლოდ შევიმუშავოთ ჰელმინთოლოგიური ღონისძიებები სასოფლო-სამეურნეო მცენარეებისა და ტყის ჯიშების მავნებლებთან ბრძოლისათვის“ (Скрябин, 1946). კარგად არის შესწავლილი ევროპის ფეხსახსრიანების ნემატოფაუნა (Wachek, 1955).

აშშ-ში იაპონური ხოჭოს მკვდარი მატლებიდან გამოვლინდა დიდი რაოდენობით ნემატოდები, რომელიც ცნობილი გახდა, როგორც ახალი სახეობა, *Steinernema glaseri*. ამ პერიოდიდან დაიწყო ნემატოდებით ბრძოლის ბიოლოგიური მეთოდის შემუშავების მცდელობა.

ენტომონემატოდების სისტემატიკის, ფაუნისტური გამოკვლევების, ცალკეულ სახეობათა ბიოლოგიისა და ეკოლოგიის შესწავლის საქმეში დიდი წვლილი იქნა შეტანილი რიგი უცხოელი მეცნიერების მიერ (Glaser, 1932; Stoll, 1953; Jackson, 1962; Welch, 1958). ცნობები *Steinernema*-ს ბიოლოგიისა და ეკოლოგიის შესახებ გვხვდება საბჭოთა კავშირის მეცნიერების შრომებში (Филипьев, 1934; Положенцев, 1950; Кирьянова, Пучкова, 1965; Веремчук,1963; 1964). მსოფლიოში დაახლოებით 25.000 ნემატოდების სახეობა არის აღწერილი (Lambshead at al., 2003).

საქართველოში მწერების პათოგენური ნემატოდების შესწავლა დაიწყო მე-20 საუკუნის 60-იან წლებში, საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის, ზოოლოგიის ინსტიტუტის, ენტომონემატოლოგიის ლაბორატორიაში. შესწავლილია ბორჯომის ხეობის წიწვოვანი მცენარეების ქერქიჭამიებისა და ნაძვის დიდი ლაფანჭამიის ნემატოდების ფაუნა (კაკულია, 1965; ყურაშვილი და სხვ., 1980), სასოფლო სამეურნეო კულტურებისა და ტყის ფოთლოვანი მცენარეების უმთავრესი მავნე მწერების ნემატოდები და მათი გამოყენება მცენარეთა ბიოლოგიურ დაცვაში (გორგაძე, 1991; ლორთქიფანიძე, 2006). ჩატარებულია ფაუნისტურ-ეკოლოგიური გამოკვლევები, სამიზნე მწერების სხვადასხვა ჯგუფის ნემატოდების გამოვლენასა და მათი ბიოლოგიის შესწავლაზე. კვლევის შედეგები წარმოდგენილია გ. კაკულიას და ნ. მიქაიას მონოგრაფიებში (Какулия, 1989; მიქაია, 2009).

ეპნ, როგორც ნიადაგში ბინადარი ორგანიზმები, გადარჩენისათვის კარგად ადაპტირებულნი არიან ნიადაგის სხვადასხვა ტენიანობის, ტემპერატურისა და ქიმიური შემადგენლობის მიმართ. ნემატოდების მგრძობელობა ექსტრემალური გარემო პირობების მიმართ კი, ხელს უშლის მათი, როგორც ბიოლოგიური კონტროლის აგენტების სრული პოტენციალის მიღწევას. ეს, თავის მხრივ, აისახება ველზე მიღებულ არამდგრად შედეგებზე (Georgis *et al*., 2006). ამ შეზღუდვების თავიდან აცილებისათვის

შემუშავებულია სხვადასხვა ფიზიკური და ბიოლოგიური მიდგომა ნემატოდების დაცვისათვის (Grewal, 2002; Lacey *et al*., 2015), მაგრამ მათი ეფექტურობა ლიმიტირებული და ურთიერთგამომრიცხავია განსაზღვრულ გარემოში (Georgis *et al*., 2006). ჩატარებულია ექსპერიმენტები სხვადასხვა ფაქტორის მიმართ ეპნ-ის გენეტიკურ გაუმჯობესებისათვის (Burnell, 2002: Anbesse *et al.,* 2013).

2002 წ. ლ. ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტის ბიოლოგიური კონტროლის განყოფილებაში იწყება მავნე მწერების ნემატოდური პათოლოგიის შესწავლა. კვლევები მიმდინარეობდა ძირითადად ინტროდუცირებული (ისრაელი, გერმანია) პათოგენური ნემატოდის, *Steinernema feltiae* ბიოლოგიური ეფექტურობის დადგენაზე, სხვადასხვა სახეობის მავნე მწერების მიმართ. გამოკვლევები ჩატარდა სხვადასხვა საერთაშორისო ორგანიზაციის ფინანსური მხარდაჭერით:

1) USAID-Israel-CDR „ენტომოპათოგენური ნემატოდები, როგორც მავნებლებთან ბრძოლის აგენტები საქართველოში, გამოყენება და გენეტიკური გაუმჯობესება ეფექტურობის გახანგრძლივებისათვის“;
2) CRDF/GRDF/GNSF, NSS-05-07 „ენტომოპათოგენური ნემატოდების გამოყენების შესწავლა მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვისათვის“;
3) GNSF-STCU # 4326 „ენტომოპათოგენური ნემატოდებისა და პარაზიტული მწერების შემუშავება მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვისათვის დახურულ გარემოში“;
4) STCU # 4561 „უმთავრესი მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვა ურბანულ მეურნეობაში“;
5) GNSF # 509 „ბიოლოგიური კონტროლის გამოყენების ტექნოლოგიის შემუშავება ამერიკული თეთრი პეპელას წინააღმდეგ“;
6) GNSF-STCU # 5051 “ქიმიური ტოქსიკურობის შემცირება ბიოლოგიური კოტროლის გზით საქართველოს ვენახებში“;
7) CRDF/GRDF/DTRA/USA GMG-01/13 საქართველოს ვენახების აგროცენოზიდან იზოლირებული ენტომოპათოგენური ნემატოდების იდენტიფიკაცია“;

8) STEP 344760 # 3647 „ბიოპრეპარატის *Geo-nema*-ს წარმოება ენტომოპარაზიტული ნემატოდა, *Steinernema feltiae*-ს ადგილობრივი, ქართული შტამის საფუძველზე მავნე მწერებისაგან სასოფლო-სამეურნეო კულტურების ბიოლოგიური დაცვისათვის“;

9) STCU–GRNSF # 5909 „გარემოსათვის უსაფრთხო საშუალებების (პარაზიტოიდი ენკარზია, ენტომოპათოგენური ნემატოდა) ბიოტექნოლოგიის შემუშავება სათბურის მავნებლებისაგან მცენარეთა კომპლექსური ბიოლოგიური დაცვისათვის“;

10) GITA MG # 17/2014 “ბიოლოგიური *პესტიციდის, Geo-nema-ს* სტარტაპის განვითარება“

ჩატარებული გამოკვლევების საფუძველზე დასახულია პერსპექტივები ნემატოდური ბიოინსექტიციდის ტექნოლოგიის სრულყოფასა და მის პრაქტიკულ გამოყენებაზე, მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიურ დაცვაში. მიღებული შედეგები წარმოდგენილია ნაშრომის ექსპერიმენტალურ ნაწილში.

2. 2. ენტომოპათოგენური ნემატოდების გამოყენება მცენარეთა ბიოლოგიურ დაცვაში

ენტომოპათოგენური ნემატოდების (ეპნ)-ის ბიოლოგიური თავისებურებიდან გამომდინარე, მისი ძირითადი სამიზნე მწერები ნიადაგის ბინადარი სახეობებია. თუმცა შესწავლილი და პრაქტიკაში დანერგილია ეპნ-ის გამოყენება მიწისზედა მავნებლების კონტროლისათვის (განსაკუთრებით დახურული გრუნტის პირობებში).

ეპნ, როგორც ბიოლოგიური აგენტების გამოყენებისადმი ინტერესი მნიშვნელოვნად გაიზარდა ბოლო სამი ათწლეულის განმავლობაში. მსოფლიოს ათასობით მკვლევარი და პრაქტიკოსი სწავლობს ეპნ-ის პოტენციალს, მავნე მწერების რიცხოვნობის რეგულირებაში.

ეპნ-ის მრავალი სახეობა შესაძლებელია გამოყენებულ იქნას მავნე მწერების - სხვადასხვა სახეობის - ხვატარების, პარკხვევიების, ხერხიების, ხოჭოების, თრიფსების და სხვ. ბიოლოგიური კონტროლისათვის. ნემატოდების სახეობები ოჯახებიდან -

Steinernematidae და Heterorhabditidae მრავალგზის გამოცდილი და დადგენილია, როგორც ეფექტური ბიოლოგიური აგენტები (Stock, Hunt, 2005; Koppenhöfer, 2007). მსოფლიოში ცნობილია ეპნ-ის ოცდაათზე მეტი სახეობა მავნე მწერებთან ბრძოლისათვის, მათ შორის მიმდინარეობს დაახლოებით 8 სახეობის კომერციული წარმოება (Miles, Blethen, 2001).

ეპნ-ის შერჩევა ცალკეული მავნებლის კონტროლისათვის ემყარება რამოდენიმე ფაქტორს, რომელთაგან ძირითდია ოთხი - ტენიანობა, ტემპერატურა, პათოგენობა სამიზნე მწერის მიმართ და საკვების მოპოვების სტრატეგია (Kung *et al*., 1991; Kaya, Gaugler, 1993; Campbell *et al*., 2003; Grewal *et al.,* 2005a). ბიოტური (ეპნ-ის სახეობა, სამიზნე მწერი, მისი ხნოვანება, ნიადაგის ფაუნა) და აბიოტური ფაქტორების (ტემპერატურა, ტენიანობა, აერაცია, ნიადაგის ტიპი) ზეგავლენა შესწავლილია მრავალი მეცნიერის მიერ (Grewal *et al.,* 2005a; Georgis *et al*., 2006; Gaugler, Kaya, 1990; Kaya, Gaugler, 1993; Shapiro-Ilan *et al.,* 2012).

მწერების ბიოლოგიური კონტროლისათვის შესწავლილი ნემატოდებიდან, როგორც ზემოთ აღვნიშნეთ, მნიშვნელოვანია Steinernematidae და Heterorhabditidae-ს ოჯახებში შემავალი სახეობები*,* როგორც მრავალი ნიშან-თვისებებით ეფექტური აგენტები ბიოკონტროლისათვის (Kaya, Gaugler, 1993; Grewal *et al.,* 2005a; Koppenhöfer, 2007; Shapiro-Ilan *et al.,*2012b; Sundh, Goettel, 2013). გასული სამი ათწლეულის განმავლობაში ჩატარებულმა ფართომასშტაბიანმა გამოკვლევებმა აჩვენა ეპნ-ის, როგორც დადებითი, ისე უარყოფითი თვისებები სასოფლო-სამეურნეო კულტურების, დეკორატიული მცენარეების, გაზონებისა და მწვანე მოლის მავნე მწერების კონტროლისათვის (Shapiro-Ilan *et al.,* 2002; Georgis *et al.,* 2006). დღეისათვის ეპნ წარმატებით გამოიყენება სასოფლო სამეურნეო კულტურების, როგორც ღია, ისე დახურულ გრუნტში, სანერგეებში, გაზონებში, საძოვრებსა და ბალახის საფარის მავნე მწერებთან ბიოლოგიური კონტროლისათვის (Grewal *et al.,* 2005c).

ეპნ განიხილება, როგორც მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებულ მართვის მნიშვნელოვანი კომპონენტი, მდგრად სოფლის მეურნეობაში. ზოგიერთ სახეობას აქვს უნარი თვითნებურად გამრავლდეს და გააგრძელოს არსებობა გარემოში. ეპნ თავსებადია

მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებულ მართვაში გამოყენებული ქიმიური და ბიოლოგიური პესტიციდების ფართო სპექტრთან (Sundh, Wilcks, Goettel, 2012 a,b).

2.2.1. ეპნ-ის გამოყენება ნიადაგში ბინადარი მავნე მწერების კონტროლისათვის

ეპნ მოიპოვება ნიადაგიდან და ბუნებრივია, რომ მეტი ყურადღება ეთმობა ნიადაგში ბინადარი მავნებლების წინააღმდეგ მისი გამოყენების შესწავლას. ეპნ-ის მეშვეობით, ღრაჭების, Scarabaeidae და ცხვირგრძელების, Curculionidae ოჯახის მავნე მწერების რიცხოვნობა წარმატებით რეგულირდება. ლიტერატურული მონაცემების მიხედვით მხოლოდ ფლორიდაში (აშშ), წლიურად, დაახლოებით 19 000 ჰა მიწის ფართობი მუშავდება ნემატოდებით ციტრუსოვანთა ფესვის ცხვირგრძელას, *Diaprepis abbreviatus* კონტროლისთვის (Shapiro-Ilan *et al.,* 2005). სანერგე ნაკვეთებსა და სათბურებში ვაზის შავი ცხვირგრძელას, *Otiorhynchus sulcatus* წინააღმდეგ ბრძოლაში ეპნ-მა მთლიანად ჩაანაცვლა ქიმიური პესტიციდები - ალდრინი® და კარბოფურანი® ევროპის ტერიტორიაზე (Van Tol *et al*., 2005). ეპნ ასევე გამოიყენება გოლფის სათამაშო მოედნებზე ცხვირგრძელების კონტროლისთვის იაპონიაში. ვაზის შავი ცხვირგრძელას, *O. sulcatus,* შტოშის პარკხვევიას, *Chrysoteuchia topiaria* წინააღმდეგ შტოშის პლანტაციებში აშშ-ში (Cowles *et al.,* 2005; Grewal *et al.,* 2005). მეცნიერული გამოკვლევებისა და პრაქტიკაში გამოცდის მრავალი მაგალითი არსებობს იაპონური ხოჭოს, *Popullia japonica* მატლების და Scarabaeidae ოჯახის სხვა სახეობების მიმართ ეპნ-ის გამოყენებაზე (Klein, 1990; Kaya, Gaugler, 1993; Shapiro-Ilan, *et al*., 2002; 2012; Grewal *et al.,* 2005b, Lewis, Clarke, 2012).

ცნობილია, რომ ეპნ-ის და კონტროლის სხვა აგენტების ერთობლივი გამოყენება ხასიათდება სინერგისტული მოქმედებით და იწვევს სამიზნე მწერების უფრო მაღალ სიკვდილიანობას, ვიდრე ამ აგენტების ცალკეული გამოყენების დროს. მაგალითად, ეპნ-ის და *Bacillus thuringiensis* ერთდროული მოქმედება Scarabaeidae მწერების მიმართ, ნეონიკოტინოიდ ინსექტიციდის და ეპნ-ის ერთდროულად გამოყენება, იმიდაკლოპრიდის ეპნ-თან შერევა ხასიათდება სინერგისტულად და იწვევს მავნებლის უფრო ეფექტიანად მართვას (Koppenhöfer, Kaya, 1998; Koppenhöfer *et al.,* 2000; Polavarapu *et al.,* 2007; Koppenhöfer, Fuzy, 2008; Shapiro-Ilan, Brown, 2013). ეპნ-ის (*Steinernema*

carpocapsae და *Heterorhabditis megidis*) გამოყენება *O. sulcatus* ლარვების მიმართ იწვევს ამ მავნებლის 49.5 - 65 % შემცირებას (Kakouli-Duarte *et al.,* 1997; Haukeland, Lola-Luz, 2010). შესწავლილია პათოგენური სოკოს, *Metarhizium anisopliae (*Hypocreales*)* და ეპნ-ის ერთობლივი გამოყენება *O. sulcatus* მიმართ. შესხურებიდან 1 ან 2 კვირის შემდეგ იწვევს მავნებლის მესამე ხნოვანების მატლების 100 % სიკვდილიანობას.

საჭმელი სოკოების პროდუქციისა და სათბურის კულტურების მნიშვნელოვანი მავნებლების - ფესვის კოღოების, *Lycoriella* spp. და *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) წინააღმდეგ ეფექტურია *S. feltiae* და *Heterorhabditis* spp. გამოყენება (Scheepmaker *et al.,* 1998a, 1998b; Jagdale *et al.,* 2004, 2007; Jess *et al.,* 2005; Tomalak *et al.,* 2005; Grewal, 2007). შესასხურებელი დოზები - 1.0-დან 1.5-მდე x 10^6 *S. feltiae* IJs/$მ^2$ იძლევა საუკეთესო შედეგს *Lycoriella*-ს სახეობების ეფექტური კონტროლისათვის, რაც აღემატება ქიმიური ინსექტიციდებით გამოწვეულ შედეგს (Jagdale *et al.,* 2004; Grewal, 2007). ამასთან, რადგანაც *S. feltiae* რეპროდუქცირდება აღნიშნული მავნებლის ლარვებში, ეპნ-ის ეფექტიანობა გახანგრძლივებულია და ბევრად აღემატება დიფლუბენზურონიის და მეთოპრენის ეფექტურობას (Grewal, Richardson, 1993**).** ამის გათვალისწინებით, აშშ-სა და ევროპის ბევრ ქვეყანაში *S. feltiae*-ის კომერციული შტამებით მთლიანად კონტროლდება *Lycoriella* spp. (Grewal, Georgis, 1998; Georgis *et al.,* 2006; Grewal, 2007).

რადგან აღნიშნული ბიოაგენტები ცოცხალი ორგანიზმებია და საჭიროებენ წყალში გახსნილ ჟანგბადს, რეკომენდირებულია დაბალი ტემპერატურის ხსნარების გამოყენება.

2.2.2. ეპნ-ის გამოყენება მცენარეების მიწისზედა მავნე მწერების მიმართ

მიწისზედა მავნებლების რიცხოვნობის რეგულაციაში ეპნ-ის მოქმედების მაგალითია ამერიკული თეთრი პეპელას მიმართ *S. feltia*-ს მოქმედება.

უკანასკნელ წლებში ამერიკული თეთრი პეპელა ფართოდ გავრცელდა დასავლეთ საქართველოში, შავი ზღვის სანაპირო ზოლზე. მავნებელი ძირითადად ბინადრობს დასახლებულ ადგილებში, წელიწადში იძლევა ორ თაობას და ახასიათებს სწრაფი გავრცელების უნარი.

ამერიკული თეთრი პეპელას მიმართ *S. feltiae* -ს მოქმედებაზე უმნიშვნელო ცნობები მოგვეპოვება. ჩვენს ამოცანას და ინტერესს შეადგენდა *S. feltiae* -ს და ათპ-ს ურთიერთდამოკიდებულების შესწავლა - ნემატოდური ხსნარების ინვაზიითა და ხსნარში ჟელატინის დამატებით, ნემატოდების სიცოცხლისა და ეფექტურობის გახანგრძლივებისათვის.

ღია გრუნტში მავნე მწერების წინააღმდეგ ეპნ-ის გამოყენებაზე ჩატარებული მრავალი ცდის შედეგად მიღებული მონაცემების საფუძველზე დადგენილია, რომ ყველაზე ნაკლებ ეფექტურია ნემატოდების შესხურება მცენარის მიწისზედა ნაწილებზე, სადაც უმთავრესი შემზღუდველი ფაქტორია მცენარის მწვანე საფარიდან ეპნ-ის ხსნარის სწრაფი აორთქლება და მაინფიცირებელი იუვენილების გამოშრობა, თუმცა ხსნარებზე ანტიდესიკანტი (გამოშრობის საწინააღმდეგო) ნივთიერებების დამატებით მაღლდება ეპნ-ის ეფექტურობა მავნებლების გარკვეული სახეობების მიმართ. *Steinernema carpocapsae* ხშირად გამოიყენება მავნე მწერების წინააღმდეგ მცენარეთა მიწისზედა ნაწილების დამუშავებისათვის, რადგან ახასიათებს მასპინძლის ეფექტური მოძიების უნარი, განსაკუთრებით - ნიადაგის ზედაპირთან ახლო მანძილზე (Arthurs *et al.,* 2004).

2.2.3 ენტომოპათოგენური ნემატოდების გამოყენება ნიადაგის ზედაპირზე მცხოვრები მავნე მწერების კონტროლისათვის

ეპნ ეფექტურად გამოიყენება მავნე მწერების წინააღმდეგ, იმ დროს, როდესაც ისინი გადაადგილდებიან ნიადაგის ზედა ფენებში და მის ზედაპირზე. ამის ერთ-ერთი წარმატებული მაგალითია ციტრუსოვანთა ფესვის ცხვირგრძელას, *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera:Cucurlionidae) პირველი-მეორე ხნოვანების მატლების მიმართ ეპნ-ის (*S. riobrave* და *H. indica*) სუსპენზიის გამოყენება ხდება ნიადაგის ზედაპირის დასამუშავებლად. ეპნ-ის საშუალებით მავნებლის კონტროლი, ფლორიდაში (აშშ), 20 წელიწადზე მეტია, რაც ცნობილია (Lacey, Georgis, 2012; Kaya,Vega 2012; Kaya,Vega 2012). ბუნებაში ფესვის ცხვირგრძელას მატლების მიმართ *S. riobrave*-ის (1.2 x 10^{10} IJs/ჰა) გამოცდის შედეგად მიღებულია 90% სიკვდილიანობის მაჩვენებელი. სარწყავ სისტემაში ეპნ-ის სუსპენზიების ჩართვა ეფექტურია ხე-მცენარეების ვარჯის ქვეშ მაინფიცირებელი

იუვენილების განაწილებისათვის, სადაც ჩვეულებრივ თავმოყრილია მავნებლის მატლები (McCoy *et al.,* 2002; Shapiro-Ilan *et al.,* 2002; Stuart *et al.,* 2008 Hiltpold *et al.,* 2012; Sporleder, Lacey, 2013).

ხვატარები (Lepidoptera: Noctuidae) თავისი ბიოლოგიური ციკლის თვისებურების მიხედვით წარმოადგენენ ეპნ-ის საუკეთესო სამიზნეს, ისეთ გარემოში, სადაც ნიადაგის ტენიანობა საკმარისია მაინფიცირებელი იუვენილების გადარჩენისათვის. ცნობილია ხვატარების მიმართ ეპნ-ის ეფექტურობა (Capinera *et al.,* 1988; Shapiro-Ilan *et al.,* 2002; Ebssa, Koppenhöfer, 2011).

Steinernema და *Heterorhabditis* მოქმედება შესწავლილია ქლიავის ცხვირგრძელას, *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera:Curculionidae) (Shapiro-Ilan, 2004, 2008; Alston *et al.,* 2005; Kim, Alston 2005), ხილის ბუზების - *Rhagoletis indifferens, Anastrepha ludens* (Diptera:Tephritidae) (Yee, Lacey, 2003) და რამოდენიმე სხვა სახეობის მავნებლების წინააღმდეგ (Georgis *et al.,* 2006; Dolinski, Lacey, 2007).

2.2.4. ეპნ-ის გამოყენება ფარულად მცხოვრები მავნე მწერების კონტროლისათვის

ფარულ საბინადროდ მოიაზრება (მაგრამ არ შემოიფარგლება) მავნებლის საცხოვრებელი გარემო ქერქისა და ფოთლის ნარჩენების ქვეშ, საყრდენი მასალის, მოსავლის შესაგროვებელი ყუთების, თხილის/კაკლის ნაჭუჭების და ნასხლავის ქვემოთ. ეპნ-ის გამოყენება ფარულად მცხოვრები ხეხილის მავნებლების წარმატებული კონტროლისათვის აღწერილია მრავალი მკვლევარის მიერ (Shapiro-Ilan *et al.,* 2005; Lacey *et al.,* 2007).

ვაშლის ნაყოფჭამია, *Cydia pomonella* (Lepidoptera:Tortricidae) მსოფლიოში ფართოდ გავრცელებული მავნებელია. ეპნ-ის წარმატებული მოქმედების საუკეთესო მაგალითია ნაყოფჭამიას კონტროლი ეპნ-ის საშუალებით. მწერის ბოლო ხნოვანების მატლები დიაპაუზაში გადადიან და იზამთრებენ ქერქის ქვეშ და სხვა დაფარულ ადგილებში. ამ პერიოდისათვის მავნებლის კონტროლი ეპნ-ის საშუალებით მნიშვნელოვნად ამცირებს მომავალი გაზაფხულისათვის გამოფრენილი იმაგოების რაოდენობას. ვაშლის ნაყოფჭამიას წინააღმდეგ ბრძოლისათვის ხშირად გამოიყენება ეპნ-ის შემდეგი

სახეობები - *S. carpocapsae*, *S. feltiae, H. bacteriophora,* და *H. zealandica.* აბიოტური ფაქტორები - ტემპერატურა, ტენიანობა და საცხოვრებელი გარემოს ტიპი დიდ გავლენას ახდენს ეპნ-ის ლარვიციდურ უნარზე (Kaya *et al.,* 1984; Lacey, Unruh, 1998; Unruh, Lacey, 2001; Lacey *et al.,* 2006a; Atwa *et al.,* 2013; Moshayov *et al.,* 2013). *S. carpocapsae*-ს, ან *S. feltiae*-ს მაინფიცირებელი იუვენილების გამოყენებამ (2.5 x 10^6 IJs/ხეზე ან 1-2.5x10^9/ჰა) ოპტიმალური ტემპერატურისა და ტენიანობის პირობებში (20-25°C, გაჯერებული ტენიანობა), შესაძლოა გამოიწვიოს მოზამთრე მატლების რიცხოვნობის 90%-ით შემცირება (Unruh, Lacey, 2001; Lacey *et al*., 2006a: Brusselman *et al.* 2012; Shapiro-Ilan *et al.,* 2012a). მავნებლის კონტროლისათვის ორივე სახეობა ეფექტურია, თუმცა *S. feltiae* ტემპერატურის მიმართ მეტი შემგუებლობით ხასიათდება და მისი გამოყენება შესაძლებელია გვიან შემოდგომით (10°C). ნემატოდების ლარვიციდული მოქმედება უმჯობესდება ეპნ-ის სუსპენზიაზე დამატენიანებლების დამატებით, სარწყავი სისტემების გამოყენებით, მულჩირებითა და მიწის ზედაპირის მაქსიმალურად ათვისებით (Unruh, Lacey, 2001; Lacey *et al.,* 2005, 2006a, 2006b, 2010; Shapiro-Ilan *et al.,* 2014b).

ნაყოფის შესაგროვებელ ყუთებზე, რომელიც მავნებლის დიაპაუზაში გადასვლის პერიოდში განთავსებულია პლანტაციებში, შესაძლოა მწერმა დაიბუდოს გამოსაზამთრებლად. მოზამთრე მატლები უძლებენ შენახვის პირობებს (0-4 °C, N_2-ის მაღალი და O_2-ის დაბალი დონე) და შესაძლოა გამოჩნდნენ ხეხილში მომავალ წელს, როდესაც ყუთები კვლავ განთავსდება მოსავლის ასაღებად. ეპნ გამოიყენება მავნე მწერის დაჭუპრებული ლარვების წინააღმდეგ ხილის ყუთებზე შესხურებით, ან ეპნ-ის სუსპენზიაში ყუთების მოთავსებით (Lacey, Chauvin, 1999; Cossentine *et al.,* 2002; Lacey *et al.,* 2005). მიუხედავად იმისა, რომ ეკოლოგიურად სუფთა ხილის მრავალი მწარმოებელი დიდ ინტერესს იჩენს ვაშლის ნაყოფჭამიას წინააღმდეგ ეპნ-ის გამოყენებაზე, დღესდღეობით ეპნ-ის გამოყენება არ არის დანერგილი მოზამთრე მატლების წინააღმდეგ.

დახურულ გარემოში მცხოვრები მავნე მწერების მიმართ ეპნ-ის გამოყენებაზე მრავალი კვლევა და საველე ცდა არის ჩატარებული. აქ თავმოყრილია თხილის

ჩრჩილი, *Cydia latiferreanus* (Tortricidae) (Chambers *et al.,* 2010; აღმოსავლური ნაყოფჭამია, *Grapholita molesta* (Tortricidae) (Riga *et al.,* 2006); ატმის ხერხია, *Synanthedon pictipes* (Lepidoptera: Sesiidae) (Shapiro-Ilan *et al.,* 2010; Ilan *et al.,* 2013) ხორბლის ღეროს ხერხია *Cephus cinctus* (Hymenoptera:Cephidae)(Scott *et al.,* 2016) და აღწერილია დამატებით სხვა სახეობებიც (Shapiro-Ilan *et al.,* 2005, 2012; Lacey *et al.,* 2007; Lacey, Shapiro-Ilan, 2008).

დღეისათვის შემუშავებული ეპნ-ის გამოყენების ტექნოლოგიები - სტანდარტული სარწყავი სისტემები და ასევე ქიმიური პესტიციდებისათვის განკუთვნილი შესასხურებელი მოწყობილობები, შესაძლოა გამოყენებულ იქნას ეპნ-ის ხსნარებთან სამუშაოდ. პრაქტიკაში ეპნ-ის გამოყენება ძირითადად ხდება წყალხსნარების სახით (სადაც წყლის ტემპარატურა მერყეობს 4-30°C-მდე. ამასთან, დაუშვებელია ძლიერ ქლორირებული წყლის გამოყენება. ცნობილია, რომ ჟანგბადის დაბალი შემცველობა იწვევს ეპნ-ის მაინფიცირებელი იუვენილების აქტიურობის დაქვეითებას). ეპნ ხასიათდება ნაკლებ ტოლერანტობით ქიმიურ ინსექტიციდებთან, ფუნგიციდებთან და ჰერბიციდებთან (Peters, 2003).

მავნე მწერებთან ბიოლოგიური კონტროლისათვის ნემატოდების გამოყენებაში გარკვეული წვლილი მიუძღვის ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტის ბიოკონტროლის განყოფილებას. შესწავლილია ინტროდუცირებული და ადგილობრივი *S. feltiae*-ს გამოყენების შესაძლებლობა სხვადასვა სახეობის მავნე სახეობის მწერების მიმართ, როგორც ცალკე, ისე სხვა ბიოლოგიურ საშუალებებთან ერთად. შესწავლილია სათბურის ფრთათეთრასთან ბრძოლისათვის *S. feltiae*-ს და მიკოპესტიციდის BotaniGard® ES (ჩხუბიანიშვილი, მიქაია, კახაძე, 2006); *S. feltiae*-ს და პარაზიტოიდი ენკარზიას (მიქაია, სხირტლაძე, რიჟამაძე, 2007; სხირტლაძე, რიჟამაძე, ჩუბინიშვილი, 2013.) ერთობლივი მოქმედება ამერიკული თეთრი პეპელას მიმართ (Chkhubianishvili, Malania, Kakhadze, 2007; ჩუბინიშვილი, მალანია, ჩხუბიანიშვილი, 2010). შესწავლილია *S. feltiae*-ს მიმღებიანობაზე ბაქტერიულ პრეპარატთან - XenTari DF (ჩხუბიანიშვილი და სხვ. 2007) და სხვადასხვა ბიოლოგიურ აგენტებთან ერთად (Chkhubianishvil *et al.,* 2008) *S.feltiae*-ს მიმღებიანობის დადგენა ყურძნის ჭიის (კახაძე და სხვ., 2011; ჩუბინიშვილი და სხვ., 2012), კოლორადოს ხოჭოს (Chkhubianishvili, Glazer *et al.,* 2008), თუთის მცირე ალურას

(Чхубианишвили и др., 2011; Kakhadze *et al.,* 2010), გვიმრის ფარიანას (Mikaia *et al.,* 2012), ვაზის ფქვილისებრი და ბალიშა ცრუფარიანების (Kakhadze *et al.,* 2012) ამერიკული მენაღმე ჩრჩილის და შამპინიონის კოღონების მიმართ.

3. მეთოდოლოგია

კვლევის მიზანს შეადგენდა ეპნ-ის ადგილობრივი შტამების ძიება საქართველოს აგროცენოზებში, მათი შემდგომი გამოყენებისათვის უმთავრესი მავნე მწერებისაგან სასოფლო სამეურნეო კულტურების ბიოლოგიური დაცვისათვის.

დასახული ამოცანების შესასრულებლად (2006-2016 წწ.) ჩატარებულია შერეული ტიპის კვლევები. სამუშაო მიმდინარეობდა - ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტის, ბიოლოგიური კონტროლის ლაბორატორიაში; სოფლის მეურნეობის კვლევითი ორგანიზაციის (ARO), მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტის ნემატოლოგიის დეპარტამენტში (ისრაელი); სოფლის მეურნეობის ექსპერიმენტალური სადგურის ნემატოლოგიის და ენტომოლოგიის დეპარტამენტში (კალიფორნიის უნივერსიტეტი, დევისი, აშშ); *e-nema*-ს ბიოტექნოლოგიისა და ბიოლოგიური დაცვის კომპანიაში (გერმანია); ენტომოლოგიისა და მემცენარეობის დეპარტამენტში (არიზონას უნივერსიტეტი, ტუსონი, აშშ).

კვლევის ძირითადი ობიექტია ადგილობრივი და ინტროდუცირებული ენტომოპათოგენური ნემატოდები - *Steinernema* და *Heterorhabditis* გვარებიდან.

3.1. ექსპერიმენტული ნაწილის შესასრულებლად საჭირო დანადგარები და მასალები

ინკუბატორი, სხვადასხვა ტემპერატურული რეჟიმის მაცივრები, ლამინარული ნაკადის კაბინა, სანჯღრეველა, ავტოკლავი, ინვერტული, სტერეო და სინათლის მიკროსკოპები, საცდელი მწერების გამოსაზრდელი ბოქსი, ცენტრიფუგა, სხვადასხვა ზომის კოლბები და მატრასები, ბერმანის ძაბრები, ნიადაგის გამოსაწვავი ღუმელი, საცდელი მცენარეების სავეგეტაციო ფართობი, ნიჩბები და ნიადაგის სინჯის ასაღები მოწყობილობები, სანიტარულ დანიშნულების მასალები.

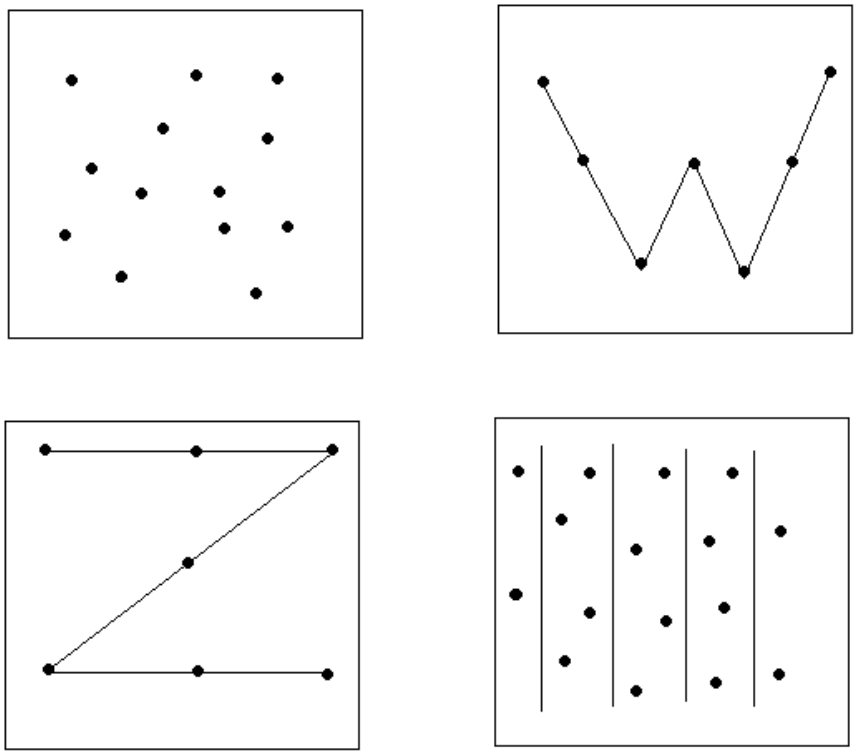
3.2. ნემატოდების ძიება

ეპნ ნიადაგში ბინადარობენ, საიდანაც ხდება მათი გამოყოფა. ეპნ-ის სავარაუდო ადგილსამყოფელის დასადგენად და პათოგენური შტამების იზოლირებისათვის შესწავლილი იყო საქართველოს ნიადაგური დარაიონების სქემა, ფიზიკურ-გეოგრაფიული მხარეების და რაიონების რუკა (საბაშვილი, 1965; ჯავახიშვილი, 1978, ურუშაძე, 1999; გამყრელიძე, 2003). მოძიებული და განხილული იყო შესაბამისი ლიტერატურა სახელმძღვანელოები, სამეცნიერო ჟურნალები, პრაქტიკული რეკომენდაციები.

ეპნ-ის ადგილობრივი შტამების ძიებისათვის შეირჩა საქართველოს სხვადასხვა ტიპის ნიადაგი აღმოსავლეთ და დასავლეთ საქართველოს (ქართლი, კახეთი, იმერეთი, სამეგრელო, აჭარა, სვანეთი, რაჭა) აგროცენოზებში. ექსპერიმენტები ნემატოდების ძიებისათვის მიმდინარეობდა ნემატოლოგიაში აპრობირებული მეთოდებით (Kaya, Stock, 1997). აღებულ ნიმუშებში ინვაზირებული საცდელი მატლების გარეგანი სიმპტომებისა და მიკროსკოპული გამოკვლევებით გამოვლენილია ენტომოპათოგენური ნემატოდები ოჯახიდან Steinernematidae, რომელთა პათოგენობა საცდელი და სამიზნე მწერების მიმართ დადგენილია ლაბორატორიულ და საველე პირობებში.

ნიადაგის სინჯების აღება ხდებოდა მახვილპირიანი ნიჩბის, ბარის, ნიადაგის ბურღისა და სხვა მიწის სათხრელი იარაღების საშუალებით, ზედაპირიდან 15 – 30 სმ სიღრმეზე (Curran, 1992). თითოეული ნიმუშის რაოდენობა უტოლდებოდა ან აღემატებოდა 1 კგ-ს. თითოეული აგროცენოზიდან გროვდებოდა მინიმუმ 3 სათადარიგო ვარიანტის (10×10×15 სმ) 3 ნიმუში, 2-4 $მ^2$-ის რადიუსის ფარგლებში (სურ. 1,2). შემდეგ გასუფთავება ხდებოდა დიდი ზომის გოროხებისაგან, ინახებოდა პოლიეთილენის ჩამკეტიან პარკში, 8-10°C ტემპერატურის პირობებში. ნიადაგის ნიმუშების შეგროვების დასრულებისთანავე სამუშაო იარაღები ირეცხება გამდინარე წყალში და იწმინდება 70% ალკოჰოლით, ან ქლორირებული სითხით. ყოველ ნიმუშს თან ახლავს ეტიკეტი შემდეგი ინფორმაციით: 1 - ადგილმდებარეობა GPS კოორდინატებით, 2 - თარიღი, 3 - ჰაბიტატი, 4 - კულტურა, 5 - ტემპერატურა.

სურ. 1. ნიადაგის ნიმუშების შეგროვების პროცესი



სურ. 2. ნიადაგის ნიმუშების შეგროვების სქემა

3.3.ეპნ-ის იზოლირება და კულტივაცია

3.3.1. იზოლირება

ეპნ-ის იზოლირება ხდება სხვადასხვა მეთოდით - „მწერის მისატყუარით“, ბერმანის ძაბრით, გაცრით (Byrd *et al.,* 1976) და ცენტრიფუგირების საშუალებით. ჩვენ მიერ უმეტესად გამოყენებული იყო „მისატყუარი მწერი“. ნიადაგიდან აღებული თითოეული ნიმუში (200-500 სმ^3) ნაწილდება პლასტმასის კონტეინერებში, ტენიანდება 7-10 კილო/პასკალზე, სადაც თავსდება „მისატყუარი“ - ცვილის დიდი ჩრჩილის, *Galleria mellonella* ან პურის ხოჭოს, *Tenebrio molitor* მატლები (სურ. 3,4), 5-10 ცალის ოდენობით (Pedigo, Buntin, 1994; Leather, 2005), მჭიდროდ ეფარება თავსახური და ინახება ოთახის ტემპერატურაზე (18-24°C).

სურ.3. ცვილის დიდი ჩრჩილის, *Galleria mellonella* მატლები

სურ.4. პურის ხოჭოს, *Tenebrio molitor* მატლები

ნიადაგში ბინადარი ნემატოდა ეძებს მწერს, იჭრება მის სხეულში ბუნებრივი ხვრელების საშუალებით და აინვაზირებს. მისატყუარი მატლები პერიოდულად (3-4 დღეში ერთხელ) მოწმდება, დაინვაზირებული ინდივიდები ირეცხება გამოხდილი წყლით, თავსდება ცალ-ცალკე ფილტრის ქაღალდზე, პეტრის თასში (60×15 მმ), ბნელ გარემოში, White-ის დამჭერებზე (White, 1927), 22-26°C პირობებში, ეპნ-ის საინკუბაციოდ და ახალი თაობის შესაგროვებლად (სურ.5).

სურ.5. დაინვაზირებული მატლების გასუფთავება და ვაითის დამჭერებზე გადატანა

აღნიშნულ მეთოდთან ერთად, ჩვენ მიერ მცირე რაოდენობის საკვლევი ნიმუშებიდან, ეპნ-ის იზოლირებისათვის ასევე გამოყენებული იყო პირდაპირი ექსტრაქციის მეთოდი ბერმანის ძაბრით, რომელიც მისაღებია მოძრავი, აქტიური ეპნ-ის შეგროვებისათვის (Kaya, Stock,1997; Stock, Goodrich-Blair, 2012). მისი გამოყენება ეფუძნება ნემატოდების ჰიდროტროფულ ხასიათს. ჩვეულებრივი ძაბრი დამაგრებულია ვერტიკალურ მდგომარეობაში და ბოლოზე მორგებული აქვს რეზინის მილი ჩამკეტით. ძაბრში ჩასხმულია გამოხდილი წყალი და ზემოდან ემაგრება მყარი ბადე, რომელზეც მოთავსებულია დოლბანდის ან მუსლინის ქსოვილში შეხვეული ნიადაგის ნიმუში. წყალი ოდნავ ეხება საკვლევ მასალას, ამ დროს ნემატოდები მიისწრაფვიან წყლისკენ და თავს იყრიან ძაბრის ფსკერზე, საიდანაც ყოველ 12 სთ ერთხელ ხდება ნემატოდების შეგროვება, სპეციალურ კონტეინერებში (სურ.6,7).

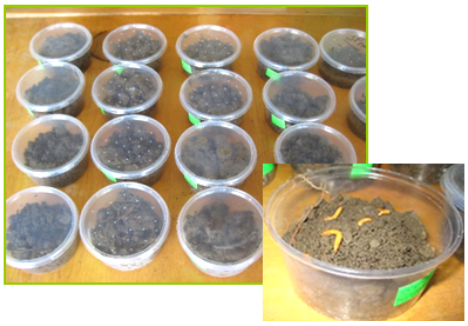
სურ. 6. ბერმანის მეთოდის გამოყენების პროცესი

სურ.7. შეგროვილი ნემატოდების წყალხსნარი

ნიადაგის ნიმუშების გადატანა ხდება ლაბორატორიაში, სუფთავდება მექანიკური მინარევებისაგან და თავსდება პლასტმასის ძაბრებში ჩაფენილ დოლბანდის ქსოვილზე.

ნიადაგიდან ნემატოდების იზოლირების საილუსტრაციოდ მოგვაქვს ვენახის აგროცენოზში ჩატარებული კვლევის მაგალითი - ნიადაგის ნიმუშები აღებულ იქნა კახეთის და ქართლის მევენახეობის რაიონებში – გურჯაანი, საგარეჯო, თელავი, ახმეტა, ყვარელი, გორი, ვენახების შერჩეული ფართობებიდან.

მასალა შეგროვდა მწკრივთაშორისი და რიგთაშორისი პრინციპით, ვაზის ფესვებიდან 1 მ რადიუსში, ნიმუშები ლაბორატორიაში დამუშავდა სათანადო პროტოკოლის მიხედვით (Grunder, 2005) და განაწილდა პლასტმასის კონტეინერებში თითოეულში 200 გ რაოდენობით, დატენიანდა გამოხდილი წყლით და შიგ განთავსდა წინასწარ კულტივირებული საცდელი მწერის – პურის ხოჭოს, *T. molitor* ბოლო ხნოვანების მატლები, 20 ცალის რაოდენობით, დამჭერის მეთოდის (White, 1927) მიხედვით. კონტეინერები დაიფარა ნასვრეტებიანი თავსახურით და განთავსდა ოთახის ტემპერატურაზე (სურ. 8).



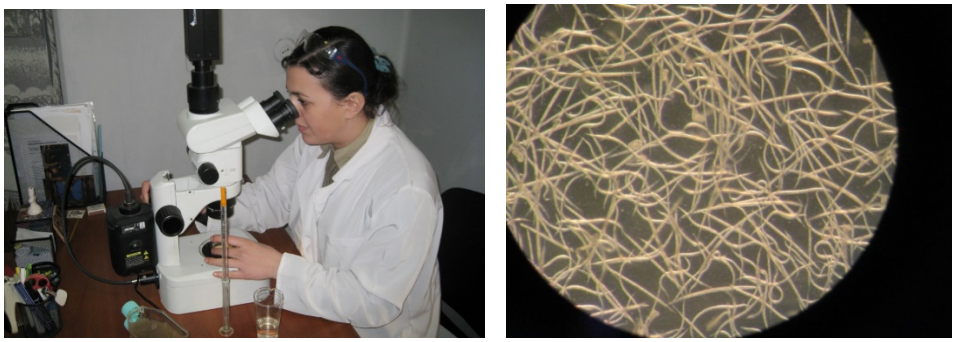
სურ. 8. ნიადაგის ნიმუშების გამოკვლევა, მისატყუარით

ნიადაგის ნიმუშების გამოკვლევა ჩატარდა მაინფიცირებელი იუვენილების (IJs), ახალგაზრდა თაობის ძიებისათვის მწერების ნემატოლოგიაში მიღებული მეთოდებით (Glazer, 2002; Kaya, Stock, 1997; Stock, Hunt, 2005).

ნიადაგის სინჯებიდან გამოცალკევებული, ინვაზირებული მატლები აღირიცხა და საანალიზოდ განთავსდა პეტრის თასებში. მატლის სხეული დანაწევრდა და განზავდა გამოხდილ წყალში. მწერის ცხიმოვანი ქსოვილის დასაშლელად დაემატა საპნის სუსტი (2%) ხსნარი. საკვლევ ხსნარებში აღირიცხა მწერის სხეულიდან მიგრირებული პარაზიტული ნემატოდები, შემდეგ ხსნარები გასუფთავდა მსხვილი მინარევებისგან, გაიფილტრა და მოესხურა პეტრის თასებში განთავსებულ ფილტრის ქაღალდს, რაზედაც განაწილდა საცდელი მწერის, *G. mellonella*-ს მატლები ახალი საინვაზიო ციკლისთვის დამჭერების საშუალებით. ხსნარების სარეზერვო ნაწილი განთავსდა სინჯარებში.

მიღებული ბიომასა – სხვადასხვა სახეობის ნემატოდების ნარევი (ფიტო და ენტომოპარაზიტული, ნიადაგში თავისუფლად მცხოვრები) გამოყენებული იყო ლაბორატორიულ ექსპერიმენტებში *G.mellonela-ს in vivo* კულტურაზე ენტომოპარაზიტული სახეობების იზოლირებისათვის.

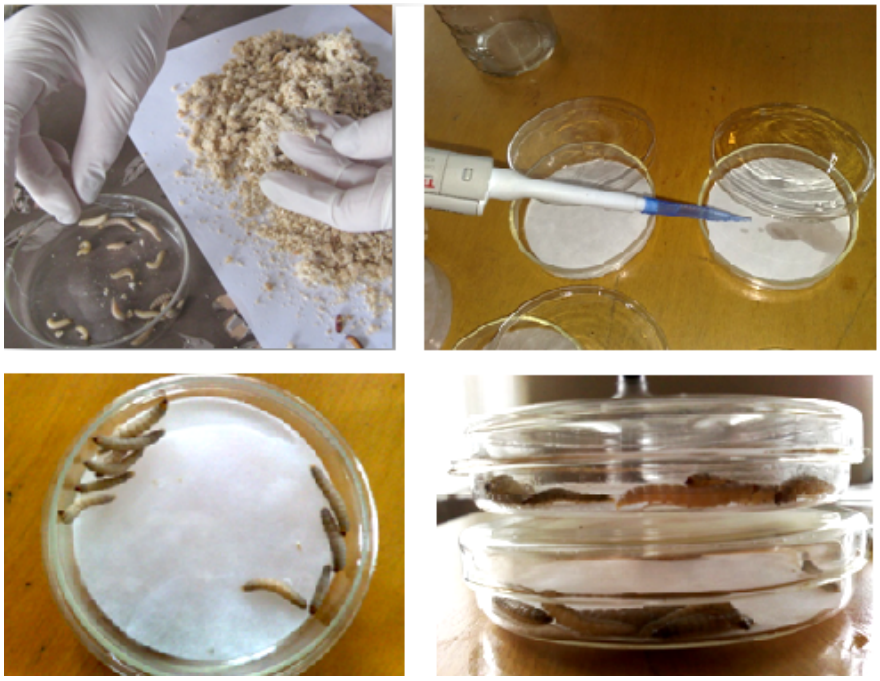
მიღებული ინდივიდების გამოკვლევა ჩატარდა სინათლის, სტერეო და ინვერტული მიკროსკოპების საშუალებით (სურ. 9).



სურ.9. მიღებული ინდივიდების გამოკვლევა

3.3.2. კულტივაცია - რეპროდუქციის პოტენციალი

ნემატოდების გამრავლებისათვის გამოყენებულ იყო ლაბორატორიაში ჩვენ მიერ ხელოვნურად გამრავლებული ცვილის დიდი ჩრჩილის, *G. mellonela*–ს ბოლო ხნოვანების მატლები, საშუალო წონით 0.7 ± 0.06 გ. რომლებიც ექსპოზირებული იყო ნემატოდების სელექციური პოპულაციების (5 მატლი/500 IJ-ის) მიმართ, 5-10 სმ Ø პეტრის თასებში, ჩაფენილი ტენიანი ფილტრის ქაღალდით, საცდელი მატლების დამუშავება ხდება მოძიებული ნემატოდების ხსნარებით (500 ნემატოდა/მლ) (სურ. 10).



სურ.10. ცვილის ჩრჩილის მატლების ინვაზია საცდელი ეპნ-ით

ინვაზირებული მატლები ინკუბირებული 25°C-ზე, 72 სთ შემდეგ აღირიცხებოდა და თავსდებოდა White-ს დამჭერებზე (სურ. 11). ინვაზირებული მატლის სხეულიდან გამოსული IJ-ბი 8 დღის შემდეგ, 14 დღის განმავლობაში ყოველდღიურად გროვდებოდა და მზადდებოდა ნემატოდური წყალხსნარები. დამჭერებიდან შეგროვილი ნემატოდების ახალი თაობა შემდგომი ინკუბაციისთვის თავსდებოდა მაცივარში, 4-5°C-ზე (სურ. 12).

სურ. 11. ვაითის დამჭერი

სურ.12. ეპნ-ის სუსპენზიის შენახვა

3.4. ეპნ-ის იდენტიფიკაცია

ადგილობრივი ეპნ-ის ინფექციური საწყისის მქონე მასალის პირველადი იდენტიფიცირება მოხდა ლაბორტორიაში სისხლის წვეთის მეთოდით: ცვილის ჩრჩილის, ბოლო ხნოვანების მატლები ცოცხლად გაიკვეთა, პიპეტით გამოიტუმბა მწერის ჰემოლიმფა, სტერილურ სასაგნე მინაზე მოთავსდა ჰემოლიმფის რამოდენიმე წვეთი, გამოვლენილი ნემატოდების საკვლევი ინდივიდები ცალკეულად გადანაწილდა ჰემოლომფის წვეთში და საინკუბაციოდ განთავსდა 25°C, ბნელ და ნოტიო (80-90 % ფ ტ) ადგილას. დაკვირვება მიმდინარეობდა 24 სთ ინტერვალით, როდესაც ნემატოდამ მიაღწია იმ ზომას, რომ შესამჩნევი გახდა სქესი და გამოიკვეთა პირველადი ნიშნები, საშუალება მოგვეცა, დაგვედგინა, რომ ჩვენ მიერ იზოლირებული ინდივიდები მიეკუთვნებოდნენ *Steinernema* გვარს.

ეპნ-ის საბოლოო იდენტიფიკაცია ჩატარდა 2013 წ. პროფ. პატრიცია სტოკის ხელმძღვანელობით, ენტომოლოგიისა და მემცენარეობის დეპარტამენტში (არიზონას უნივერსიტეტი, ტუსონი, აშშ).

ეპნ-ის იდენტიფიკაცია ძირითადად ემყარება კლასიკური (მორფოლოგიური), მოლეკულური დიაგნოსტირების მეთოდებს და ჯვარედინი ჰიბრიდიზაციის კვლევებს.

კლასიკური მეთოდი მოიცავს - ა) მასალის შეგროვებასა და საწყის დონეზე მომზადებას; ბ) ინდივიდების ფიქსირებას; გ) ელექტრონული მიკროსკოპით კვლევას; დ) ნიმუშების დაშტამპვას და დეპონირებას.

მოლეკულური მეთოდი ფართოდ გამოიყენება სწრაფი დიაგნოსტირების მიზნით ან, როგორც მორფოლოგიური დიაგნოზის თანმხლები ეტაპი.

ჯვარედინი ჰიბრიდიზაციის მეთოდის გამოყენება რეკომენდირებულია რამოდენიმე, მორფოლოგიური ნიშნით მსგავსი სახეობის იდენტიფიკაციის დროს, სიმპტომების შესადარებლად.

საქართველოში იზოლირებული და კულტივირებული ეპნ-ის სახეობების იდენტიფიკაცია ჩატარდა სამივე მეთოდის გამოყენებით, აშშ-ს კვლევით ლაბორატორიაში.

მასალის შეგროვებისა და საწყის დონეზე მომზადებისათვის გამოყენებული იყო სტერეომიკროსკოპი 10-100× გადიდებით, ობიექტივის ბრტყელი სამაგრი არეალითა და ოპტიმალური განათებით. ნემატოდური მასალა, გამოცალკევებული ინვაზირებული მატლის სხეულიდან, მოთავსდა რინგერის ხსნარში ან M9 ბუფერში, რათა თავიდან აგვეცილებინა ინდივიდების გამოცალკევებისას ოსმოსური შოკი, რომელიც თან სდევს დისტილირებული წყალხსნარის გამოყენებას. სასაგნე მინაზე დაწვეთებულ ხსნარში ცოცხალი მასალის მოთავსების შემდეგ ნიმუშის ფიქსაცია ხდებოდა საფარი მინით და წებოს საშუალებით.

ეპნ-ის ნიმუშების ფიზიოლოგიური ხსნარით დამუშავების შემდეგ, მასალა თავსდებოდა 60°C ტემპერატურის წყლის აბაზანაში, 2 წთ-ის განმავლობაში. ნემატოდებს ემატებოდა საფიქსაციო სითხე და ნიმუშები ილუქებოდა პარაფინირებული ცელოფნით.

ნემატოდების ნიმუშებისგან მუდმივი პრეპარატების მოსამზადებლად და ინდივიდების გამჭვირვალობის გაუმჯობესებისათვის ხდება საკვლევი მასალის გლიცერინით დამუშავება. ნემატოდები მოთავსდა 0,5 მლ რაოდენობის პირველ ხსნარში (20 წილი 95% ეთანოლი, 1 წილი გლიცერინი, 79-80 წილი გამოხდილი წყალი), სირაქისის მინაზე, რომელიც ჩადგმული იყო საშრობ აპარატში, 12 სთ-ით 35 °C-ზე. აღნიშნული

დროის გასვლის შემდეგ ჭურჭელი ივსებოდა მეორე ხსნარით (5 წილი გლიცერინი, 95 წილი 95% ეთანოლი) და შრობა გაგრძელდა 40°C-ზე 3 სთ. დამუშავებული ნემატოდური მასალა ბოლოს თავსდება სუფთა გლიცერინში, სასაგნე მინაზე და ფიქსირდება წებოს საშუალებით.

მომზადებული მასალის ტაქსონომიური იდენტიფიცირებისათვის კვლევა ტარდებოდა ელექტრონული მიკროსკოპით.

მომზადდა საკვლევი ნემატოდების ჰოლოტიპების და პარატიპების ნიმუშები დეპონირებისათვის.

მოლეკულური დიაგნოსტიკა და მასალის კვლევა ჯვარედინი ჰიბრიდიზაციის მეთოდით ჩატარდა პ. სტოკის ლაბორატორიის თანამშრომლების მიერ არსებული პროტოკოლების მიხედვით (Stock, Goodrich-Blair, 2012) (სურ. 13).

სურ.13. ადგილობრივი ეპნ-ის იდენტიფიკაცია (აშშ)

3.5. იდენტიფიცირებული შტამების რეპროდუქცია

ენტომოპათოგენური ნემატოდები შესაძლებელია მასობრივად გამრავლდეს როგორც *in vivo*, ასევე *in vitro* მეთოდებით. *in vivo* პროცესში მწერი გვევლინება, როგორც ბიორეაქტორი, *in vitro* პროცესში გამოიყენება ხელოვნური საკვები არე. გამოყენებული იყო ნემატოდების გამრავლების როგორც ერთი, ისე მეორე გზა, მაგრამ უპირატესობას ვანიჭებდით *in vivo* მეთოდს, რადგან ეს უკანასკნელი ბევრად უფრო მარტივი და კომერციული თვალსაზრისით გამართლებულია.

3.5.1. ნემატოდების გამრავლება - in vivo

იზოლირებული ნემატოდების ინფექციური იუვენილების (IJs) ხელოვნური გამრავლება ძირითადად მიმდინარეობს ცვილის ჩრჩილის, *Galleria mellonella*–ს ბოლო ასაკის მატლებზე. *G. mellonella* ლაბორატორიულ პირობებს ადვილად ეგუება და ამასთან კომერციულად იწარმოება. ასევე ხასიათდება ეპნ-ის საუკეთესო გამოსავლიანობით (0,5 $\times 10^5$ და 4×10^5 IJs/ლარვა). მზადდება ეპნ-ის სუსპენზია კონცენტრაციით 200 IJ/მლ და 9-10 მმ, რომლებიც 1 მლ ოდენობით ფილტრის ქაღალდზე 100×15 პეტრის თასში თანაბრად ესხურება. თითოეულ თასზე თავსდება მწერის 10 მატლი ~ 20 IJ/მატლზე, ეფარება თავსახური და გადაბრუნებული სახით თავსდება კონტეინერში, ოთახის ტემპერატურაზე (20-25°C) სინათლისგან დაცულ ადგილას. 3-5 დღის შემდეგ მწერის მკვდარი ინდივიდები გადაიტანება White-ის ნემატოდების დამჭერებზე, რომლებიც მზადდება შემდეგნაირად: 60 მმ Ø პეტრის თასის თავსახური იდგმება 100 მმ Ø პეტრის თასში. შიგნით ეფინება შესაბამისი ზომის (55 მმ) მცირედ დატენიანებული ფილტრის ქაღალდი, რაზედაც თავსდება ინვაზირებული მატლები. დიდი ზომის პეტრის თასი ნახევრად ივსება სტერილური წყლით, ისე, რომ არ მოხვდეს ინფიცირებულ მატლებს, რათა თავიდან ავიცილოთ ნემატოდების ასფიქსია. 7-8 დღის შემდეგ გროვდება მწერებიდან მიგრირებული ნემატოდების ახალი მაინვაზირებელი თაობა, რომელიც მიისწრაფვის წყლისკენ დიდ პეტრის თასში (White, 1927; Kaya,

Stock,1997; Stock, Goodrich-Blair, 2012). შეგროვილ ნემატოდებზე გამოხდილი წყლის დამატებით მზადდება სუსპენზიები და ინახება მაცივარში 4-5 °C ტემპერატურაზე (სურ14).

სურ. 14. ენტომოპათოგენური ნემატოდების ბიომასის დაგროვება ლაბორატორიაში *in vivo* მეთოდით

3.5.2. ნემატოდების გამრავლება - in vitro

ცდების მიზანი იყო ეპნ მასობრივი გამრავლება და ოპტიმალური საკვები მასალის შერჩევა. მზადდება სხვადასხვა სახის საკვები არე (2 ვარიანტი) *S. feltiae*-ს სიმბიოტური ბაქტერიის, *Xenorhabdus bacteriophora* გამრავლებისათვის.

ეპნ-ის *in vitro* გამრავლება ცნობილი მეთოდიკის მიხედვით (Kaya, Stock, 1997)

სოიოს ბულიონის საკვები არე (I)	*ღვიძლის ბულიონის საკვები არე (II)*
0.25 გ საფუვრის ექსტრაქტი	0.25 გ საფუვრის ექსტრაქტი
2.00 გ სოიოს ბულიონი	2.00 გ ღვიძლის ბულიონი
50 მლ გამოხდილი წყალი	50 მლ გამოხდილი წყალი
ძაღლის საჭმელის საკვები არე (I, II)	**“ტერგიტორ 7 აგარის” საკვები არე (II)**
20 გ ძაღლის საკვები	8.25 გ ტ.7 აგარი
4 გ აგარი	4 გ აგარი
1.1 გ ღვიძლის ბულიონი	ტტქ (ტრიფენილ ტეტრაზოლიუმ ქლორიდი)
250 მლ გამოხდილი წყალი	250 მლ გამოხდილი წყალი
სოიოს აგარის საკვები არე (I)	
2.0 გ საფუვრის ექსტრაქტი	
8.0 გ სოიოს ბულიონი	
4.0 გ აგარი	
200 მლ გამოხდილი წყალი	

ღრუბლის საკვები არე (I)	ღრუბლის საკვები არე (II)
0.88 გ ღვიძლის ბულიონი	15 გ კვერცხის ფხვნილი
0.32 გ საფუვრის ექსტრაქტი	10 გ საფუვრის ექსტრაქტი
14.4 გ სიმინდის ფქვილი	10 გ სიმინდის ფქვილი
10.4 გ სიმინდის ზეთი	8.5 გ სიმინდის ზეთი
10 გ ღრუბელი	10 გ ღრუბელი
50 მლ წყალი	30 მლ წყალი

საკვები არეების მომზადება. ცვილის ჩრჩილის ინვაზირებული მატლიდან მიღებული იქნა ბაქტერიული სუსპენზია და წვეთებად მოესხურა პეტრის ჯამებსა და სინჯარებში ჩამოსხმულ აგარს, რომელიც 24 სთ განთავსდა ინკუბატორში და მეორე დღეს ბაქტერია გადატანილ იქნა თხევად საკვებ არეზე, მასობრივი გამრავლებისათვის. კოლბები მოთავსდა სანჯღრეველაში 250 ბ/წთ სიჩქარეზე, 24 სთ განმავლობაში.

გამრავლებული ბაქტერიული მასა გადანაწილდა აგარის პეტრის ჯამებში (ძაღლის საკვები) და 48 სთ მოთავსდა საინკუბაციოდ.

ეპნ-ის მაინფიცირებელი თაობა გასტერილებული და გადატანილი იქნა პეტრის ჯამებში გამოზრდილ ბაქტერიაზე და მოთავსდა 10 დღით 27°C-ზე. აღნიშნული დროის გასვლის შემდეგ პეტრის თასები გამოირეცხა გამოხდილი და გასტერილებული წყლით და მიღებული ნემატოდური სუსპენზია მოესხურა კოლბებში ღრუბლის საკვებ არეს, რომელიც მანამდე დაინფიცირებული იყო სიმბიოტური *Xenorhabdus* ბაქტერიით. კოლბები 15 დღით განთავსდა ინკუბატორში, ხოლო შემდგომ გამოირეცხა გამოხდილი წყლით, იმისათვის, რომ მოგვეხდინა მიღებული ნემატოდების შეგროვება. ეპნ-ის ახალი თაობა მოთავსდა მაცივარში 4 °C-ზე.

3.6. სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის შესწავლა

გამოკვლევები ჩატარებულია მწერების ნემატოლოგიაში აპრობირებული მეთოდებით (ისრაელი, აშშ ლაბორატორიები). ნიადაგში მავნე მწერების მიმართ ეპნ-ის მოქმედებაზე დაკვირვება და ეპნ–ის პოპულაციების ინვაზიურობის დონის განსაზღვრა ხდება ორ განსხვავებულ ბიოლოგიურ ექსპერიმენტში (Glazer, Lewis, 2000).

ექსპერიმენტები ეფუძნება ქვიშის/ნიადაგის კოლბების გამოყენებას, სადაც იქმნება ხელოვნური ბარიერი სამიზნე მწერსა და ნემატოდებს შორის. რადგან ფილტრის ქაღალდიანი პეტრის თასები არ არის რეკომენდირებული ბუნებრივ მდგომარეობასთან განსხვავებულობის გამო, ცდებში გამოიყენება 20-25 სმ სიგრძის და 5-10 სმ Ø PVC კოლბები.

საქართველოს სხვადასხვა აგროცენოზიდან შეგროვილი ნიადაგები თერმულად დამუშავდა 100-121°C-ზე 3 სთ განმავლობაში. საცდელი ნიადაგი დატენიანდა (80%) და 200 გ ოდენობით, განაწილდა 21 სმ სიგრძის და 5 სმ Ø მქონე პლასტმასის (PVC) სვეტებში. სვეტების თავი და ბოლო დავგმანეთ 5 სმ Ø პეტრის თასებით და მჭიდროდ დავამაგრეთ ქაღალდის წებოვანი ლენტის მეშვეობით.

საცდელ მწერებად გამოვიყენეთ ცვილის ჩრჩილის ბოლო ხნოვანების მატლები, რომლებიც განთავსდა ნიადაგის სვეტების ფსკერზე (თითოეულზე - 10 ცალი). ცდებში გამოყენებული იყო *S. feltiae*-ს განსხვავებული კონცენტრაციის წყალხსნარები, კერძოდ - 0.5, 1 და 2%-იანი სუსპენზიები (პირობითად 1% ნიშნავს 1 მლ წყალში 1000 მაინფიცირებელ ინდივიდს), რომლებიც ნიადაგს მოესხურა ზედა ფენაზე და სვეტები განთავსდა 25 °C-ზე, 72 სთ. საინკუბაციო პერიოდის გასვლის შემდეგ სვეტები დაიშალა. ნიადაგში ნემატოდას მოძრაობის მიმართულების დასადგენად ნიმუშები დაიყო სამ დონედ (ფსკერი, შუა ნაწილი და ზედაპირი) და ცალ-ცალკე განლაგდა ბერმანის საცერზე, საიდანაც 48 სთ-ის გასვლის შემდეგ მოხდა ძაბრის ფსკერზე დალექილი ნემატოდების შეგროვება და მიკროსკოპის ქვეშ მათი დათვლა. მოხდა ინვაზირებული მატლების აღრიცხვა, შეგროვება და შემდგომში მათი გაკვეთა. სამიზნე მწერების სიკვდილიანობა აღირიცხა აბოტის ფორმულით (Abbot, 1925). სინათლის და ინვერტული მიკროსკოპის საშუალებით მოხდა მწერში შეჭრილი ნემატოდების დათვლა. პათოლოგიური ნიმუშების მიკროსკოპული გამოკვლევის მონაცემები შეტანილია შესაბამის პროტოკოლებში (Bedding, 1991; Gunder, 2005).

3.7. ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების შესწავლა

გამოკვლევები (ისრაელი) ჩატარდა ნემატოდა, *Steinernema feltiae* Filipjev-ის ჰეტეროგენური პოპულაციის გენეტიკურ გაუმჯობესებაზე, გამოშრობისადმი გამძლეობასა (როგორც სწრაფი, ისე ეტაპობრივი) და პატრონის ძიების ქცევისათვის. ორივე თვისება შეირჩა იმისთვის, რომ გაიზარდოს ნემატოდას გარემო პირობების დაძლევის უნარი და გაუმჯობესდეს მისი, როგორც ბიოლოგიური აგენტის ეფექტურობა. ამ საკითხების შესწავლისათვის გამოყენებული იქნა ისრაელის ლაბორატორიაში შემუშავებული მეთოდები.

3.7.1. S. feltiae-ს ჰეტეროგენური პოპულაციის ფონდის შექმნა (HFP)

HFP შექმნისათვის გამოყენებული იყო *S. feltiae*-ს შტამები, რომლებიც იზოლირებული იყო ისრაელის სხვადასხვა ნიადაგიდან. HFP იქმნებოდა სათანადო სქემის მიხედვით (Gaugler *et al.,* 1989b). ერთი შტამის მდედრები და მეორე შტამის მამრები თავსდებოდა აგარის არეზე, სადაც წინასწარ დათესილი იყო სიმბიოტური ბაქტერია, *X. nematophilus*, მრავალ-უჯრიან პლანშეტზე. უჯრები შევსებული იყო 0.5 მლ აგარის არით. თვითეულ უჯრაში ინოკულრებული იყო 60 µl 24-სთ *X. nematophilus* კულტურა. პლანშეტების ინკუბირება ხდებოდა სიბნელეში, 24°C, 10-12 დღის განმავლობაში. ახალი შეჯვარებული პოულაციები ერეოდა და რჩებოდა *G. mellonella*-ს მატლებში HFP შტამის მისაღებად (Gaugler *et al.,* 1989b). გენეტიკური სელექციისთვის გამოყენებული იყო 2-3 კვირის IJ-ბის წყლის სუსპენზია, შენახული 8°C.

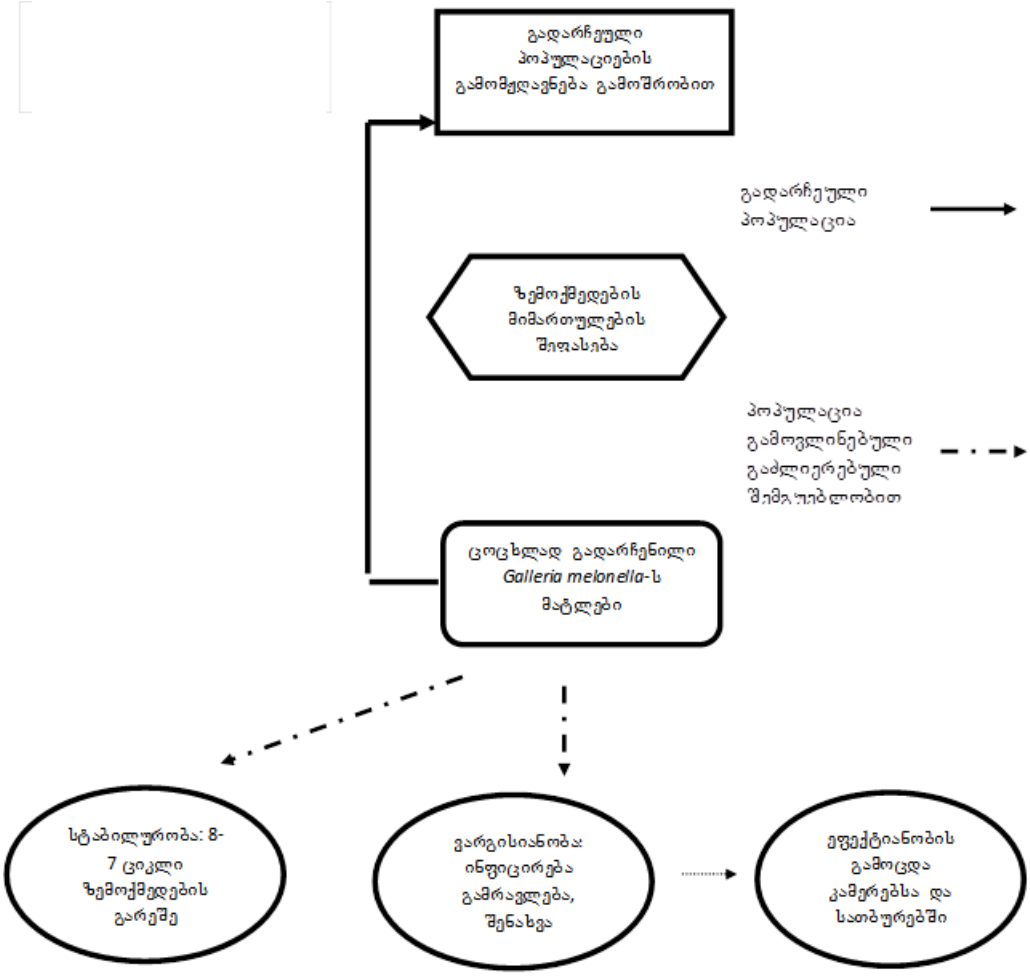
3.8. სელექცია

3.8.1. გენეტიკური სელექცია

სამუშაო პროცესი მიმდინარეობდა პროფ. გლაზერის ხელმძღვანელობით (ისრაელი).

მოპოვებული ნემატოდების კულტურები ერთმანეთს შეერია და ცვილის ჩრჩილის მატლებზე გამრავლდა ცალკეული პოპულაციების გენეტიკური ვარიაციებისათვის.

ამავე დროს ვადგენდით სწრაფი გამოშრობის, თანმიმდევრული გამოშრობისა და ნიდაგში გადაადგილების სელექციის რეჟიმს. სელექციის ყოველი მიმართულების პროცესი აღწერილია ქვემოთ (სურ.15).



სურ.15. ეპნ-ის სელექციის მსვლელობა

სელექციური პროცედურები ტარდებოდა HFP-დან მიღებული IJ-ბის ექსპოზიციით სხვადასხვა სელექციურ რეჟიმში. დამუშავების (სტრესების ცდები) ეფექტების აღრიცხვა და გადარჩენილი, ან შერჩეული IJ-ბის გამრავლება ხდებოდა მომავალი სელექციისათვის. სელექციის ციკლები მეორდებოდა მინიმუმ 20-მდე. ახალი, სელექციური პოპულაცია ჩართული იყო მთელ რიგ ბიოლოგიურ ცდებში.

3.8.2. სელექცი სწრაფი გამოშრობის ტოლერანტობისათვის

IJ-ბი HFP-დან კონცენტრირებული იყო ვაკუუმის ფილტრაციით 5 სმ Ø ფილტრის ქაღალდის დისკში - სიმჭიდროვით 10,000 ნემატოდა/დისკზე. დისკების ექსპოზიცია ხდებოდა 22-25°C; 55-65% ფტ გარემოში, 100 წთ, 24 სთ შემდეგ ნემატოდების სიცოცხლისუნარიანობა განისაზღვრება მათ მოძრაობაზე დაკვირვებით სტერეომიკროსკოპის საშუალებით. გამოკვლეული იყო 600 ინდივიდი. წინასწარ ჩატარებულმა ცდებმა გვიჩვენეს, რომ ამ პირობებში მოცემულ HFP-დან IJ-ბი გადარჩენილობა (გადარჩენა) 3-7%-ს აღწევდა. გადარჩენილი IJ-ბი გამოვყავით მკვდარი ინდივიდებიდან და მივეცით მიგრაციის საშუალება 30 μ -უჯრიანი პლასტიკური საცერის საშუალებით, წყლის სუსპენზიაში. შემდეგ ხდებოდა მათი რეექსპოზიცია *G. mellonella*-ს 30 მატლზე გამრავლებისათვის, ტენიან 5 სმ Ø ფილტრის ქაღალდზე, სამ პლასტიკურ პეტრის თასში (10 მწერი თითო თასში) და ინკუბირება ხდებოდა 3 დღის განმავლობაში, 25°C სიბნელეში. მკვდარი მწერები გადატანილი იქნა „დამჭერზე“ და კვლავ ხდებოდა მათი ინკუბირება 12 დღის განმავლობაში. „დამჭერზე“ შეგროვილი IJ-ბი განმეორებით თავსდება გამოშრობის რეჟიმში. ყოველი ექსპოზიციის ციკლი შეიცავდა 6 განმეორებას. ნემატოდების სიცოცხლიუნარიანობის მკვეთრი გაზრდის შემდეგ მე-4 ციკლის დროს, ექსპოზიციის დრო გაგრძელდა 140 წთ.

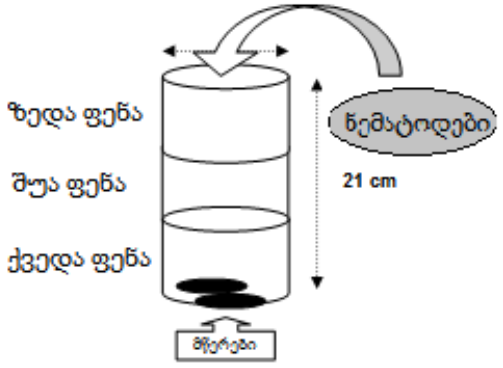
3.8.3. სელექცია ნელი გამოშრობის ტოლერანტობისათვის

IJ-ბი HFP-დან კონცენტრირებული იყო ვაკუუმის ფილტრაციით 5 სმ Ø ფილტრის ქაღალდის დისკში, ისე, როგორც ეს აღწერილია ზემოთ. დისკები გადატანილი იყო დესიკატორებში 25°C და 97% ფტ პირობებში. 72 სთ ექსპოზიციის ზემოქმედების შემდეგ, ნემატოდები გადავიდნენ ანჰიდრობიოტურ მდგომარეობაში, რომელიც გამოწვეული იყო სხეულების გაუწყლოებით. ამის შემდეგ IJ-ბი დამატებით ინკუბირებული იყო დესიკატორებში 85% ფტ პირობებში, 72 სთ ექსპოზიციით. ნემატოდების რეჰიდრაცია ხდებოდა უშუალო იმერსიით, დისტილირებულ წყალში. მათი სიცოცხლისუნარიანობა განისაზღვრა 24 სთ შემდეგ და გადარჩენილები განმეორებით ექსპოზირებული იყო *G.*

mellonella-ს მატლებზე გამრავლებისათვის. თვითეული ექსპოზიციის ციკლი იყო 6 განმეორებით.

3.8.4. სელექცია პატრონის ძებნის უნარის გახანგრძლივებისათვის

IJ-ბს HFP-დან მიეცათ გადაადგილების საშუალება ნიადაგის მეშვეობით და მოთავსდნენ სამიზნე მასპინძელთან ქვიშის სვეტის ცდაში (Salame *et al.,* 2010). პლასტმასის მილები სავსე იყო დატენიანებული ქვიშიანი ნიადაგით (სურ. 16).



სურ.16. ქვიშის სვეტის მოდელი

IJ-ბი მოთავსებული იყო სვეტების თავზე, კონცენტრაციით - 4000 IJ/მლ. *G. mellonella*-ს მეოთხე ხნოვანების მატლები მოთავსებული იყო სვეტის ძირში. სვეტები ინკუბირებული იყო სიბნელეშ 25°C, 72 სთ ინკუბაციური პერიოდის გასვლის შემდეგ ნიადაგი მოსცილდა სვეტიდან და დაიყო სამ ფენად - ზედა, შუა და ქვედა ფენებად. ნემატოდების გამოცალკევება ნიადაგის ნიმუშებიდან ხდებოდა ღამით, „ბერმანის ძაბრის“ გამოყენებით. ტარდებოდა თვითეული ფენიდან გამოყოფილი ნემატოდების აღრიცხვა. სვეტიდან გამოცალკევებული მკვდარი მატლები ირეცხებოდა წყალში და ხდებოდა მათი შემდგომი ინკუბირება. ციკლი შეიცავდა 6 განმეორებას. ცხრა ციკლის შემდეგ გამოყენებული IJ-ის რაოდენობა შემცირდა სვეტის ზედა ფენაში (2000 ინდივიდი) და შემოკლდა საინკუბაციო დროც (48 სთ) .

საკონტროლო ვარიანტი შეიცავდა არასელექციურ IJ-ბს HFP-დან და ჩართული იყო ყველა ცდასა და სელექციურ ციკლში.

3.9. სელექციური შტამების ბიოლოგიური აქტივობის დადგენა

3.9.1. ცდები ვარგისიანობის განსაზღვრისათვის

ბიოლოგიური ცდების სერია ჩატარებულია სწრაფი გამოშრობის ტოლერანტობის მე-15 და მე-20 ციკლის შთამომავლობაზე.

ინფექციურობის უნარის შეფასება ხდებოდა ორი განსხვავებული ბიოცდით - ინვაზიის სიჩქარისა და დოზის რეაქციის ცდებით (Glazer, Lewis, 1998). ინვაზიის სიჩქარის ცდაში, სელექციური პოპულაციებიდან 500 IJ ექსპოზირებული იყო *G. mellonella*-ს ბოლო ხნოვანების მატლებზე, 5 სმ Ø ფილტრის ქაღალდით ჩაფენილ პეტრის თასში. 24 სთ 25°C ექსპოზიციის შემდეგ სხეულის ზედაპირიდან ნემატოდების მოცილებისათვის მწერები ირეცხებოდა ონკანის წყლით და ხდებოდა განმეორებითი ინკუბირება ნემატოდებისაგან თავისუფალ პეტრის თასებში, 48 სთ. სტერეომიკროსკოპის ქვეშ ტარდებოდა მწერების დანაწევრება და მაინვაზირებელი ნემატოდების რაოდენობის აღრიცხვა. ყოველი ვარიანტი შეიცავდა 5 განმეორებას (1 თასი = 1 განმეორება) და ექსპერიმენტი მეორდებოდა ორჯერ.

დოზის რეაქციის ცდაში, მეხუთე ხნოვანების პურის ხოჭო, *T. molitor* სელექციური პოპულაციებიდან ექსპოზირებული იყო 0, 125, 250, 500 ან 1000 IJ-ის მიმართ 5 სმ-Ø პეტრის თასებში, ჩაფენილი ტენიანი ფილტრის ქაღალდით. თასები ინკუბირებული იყო 25°C 96 სთ და შემდეგ განისაზღვრებოდა მწერის სიცოცხლის უნარიანობა. როგორც ინფექციურობის ცდაში, ყოველი დამუშავება შიცავდა ხუთ განმეორებას (1 თასი + 1 განმეორება) და ექსპერიმენტები მეორდებოდა ორჯერ.

სელექციური პოპულაციებიდან IJ-ბი სუსპენზირებული იყო 15 მლ დიტსილირებულ წყალში, 25 მლ კონუსურ კოლბებში კონცენტრაციით - 5000 IJ/კოლბა. კოლბები ინჯღრეოდა ფრთხილად 40 ბრ/წთ 6 სთ, წყლის აბაზანაში 37°C. შემდეგ, თვითეული კოლბიდან ამოღებული იყო 1 მლ მოცულობის ნიმუში და იხსნებოდა პეტრის თასებში, 10 მლ წყალში (22-25°C). ნემატოდების სიცოცხლის უნარიანობა აღირიცხებოდა თვითეულ პოპულაციაში ნემატოდების მოძრაობაზე და რეაქციაზე. დაკვირვება ხდებოდა სტერეომიკროსკოპის საშუალებით, 24 სთ შემდეგ.

3.10. ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლა მავნე მწერების მიმართ

არსებობს ეპნ-ის გამოყენების შემდეგი მოდელები: ა) წყალხსნარის სახით ნიადაგის ზედაპირზე მოსხურება; ბ) საირიგაციო სისტემებში ნემატოდური ხსნარის ჩართვა; გ) მცენარის სავეგეტაციო ნაწილებზე შესხურება; დ) კუმულაციური რესურსის სახით ნიადაგში შეტანა და სხვ.

ნემატოდები ძირითადად გამოიყენება წყალხსნარის სახით, სადაც ტემპერატურული რეჟიმი (4-30°C) უნდა იყოს დაცული, ცდებში რეკომედებულია სუფთა, ხილული ინფექციური ინდივიდების (IJs) შემცველი, სუსპენზიების მომზადება და გამოყენება. ნემატოდების კონცენტრირებული სუსპენზიის რეგულირებისათვის კონტეინერი კარგად უნდა შეინჯღრეს, საიდანაც 5 μლ სუსპენზია მიკროპიპეტით გადაიტანება 5 სმ პეტრის თასში. თვითეული სუსპენზიიდან მოხდა სამი ნიმუშის აღება და გადატანა სხვადასხვა პეტრის თასში, სადაც ჩაემატა 50 მლ წყალი. მოხდა პეტრის თასებში ნემატოდების დათვლა, ნემატოდების კონცენტრაციის 50 μლ სუსპენზიის 20 ჯერადი დათვლის შედეგად მიღებული რიცხვის 3-ზე გამრავლებით.

ნემატოდური კონცენტრაციის რეგულირებისათვის გამოიყენება შემდეგი ფორმულა: $[(i/c) – 1] X V = V_a$, სადაც

I = საწყისი კონცენტრაცია, 50 μლ $^{-1}$

c = საბოლოო კონცენრაცია, 50 μლ $^{-1}$

V = სუსპენზიის მოცულობა, მლ

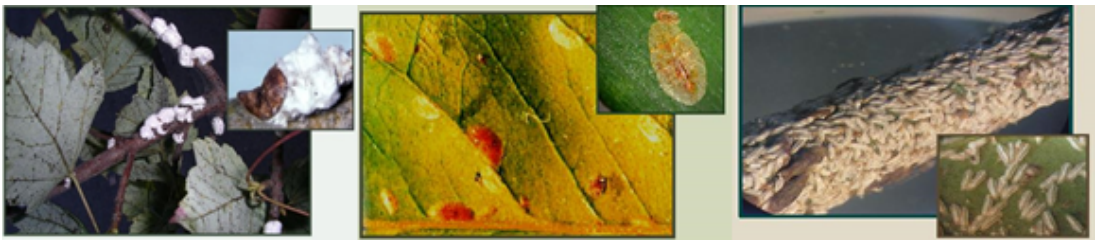
V_a = წყლის რაოდენობა (მლ), დამატებული ან ამოღებული.

ფინალური კონცენტრაცია უნდა შემოწმდეს 1 და 2 ეტაპის განმეორებით. ფინალური დათვლა უნდა შეიცავდეს საჭირო კონცენტრაციას ± 10%. ნემატოდების ყველა სუსპენზია ინახება 20-25 ˚C პირობებში, ცდის დაწყებამდე, 24 სთ განმავლობაში.

ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლისათვის ჩატარებულია გამოკვლევები სასოფლო-სამეურნეო და დეკორატიული მცენარეთა უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ საქართველოში, - კოღონები, Sciaridae*;* ამერიკული თეთრი პეპელა, *Hyphantria cunea;*

ყურძნის ჭია, *Lobesia botrana*; ვაზის ფქვილისებრი ცრუფარიანა, *Planococcus ficus;* ვაზის ბალიშა ცრუფარიანა, *Neopulvinaria innumerabilis,* კოლორადოს ხოჭო, *Leptinotarsa decemlineata*; სათბურის ანუ ორანჟერეის ფრთათეთრა, *Trialeurodes vaporariorum*; სამხრეთ ამერიკული მენაღმე ჩრჩილი, *Tuta absoluta;* ბუგრი, *Aphis rapae* და ა.შ. (სურ. 17).

ა, ბ, *Tuta absoluta;* გ, *Trialeurodes vaporariorum;* დ, *Aphis rapae;* ე, *T. vaporariorum*



ვ. Coccidae

სურ. 17. საკვლევი მწერების მავნეობა მცენარეებზე

ამერიკული თეთრი პეპელას, *Hyphantria cunea* მიმართ ეპნ-ის მოქმედების შესწავლისათვის ექსპერიმენტები ჩატარდა ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტის ბიოკონტროლის განყოფილებასა და *e-nema* GmbH კომპანიის ლაბორატორიაში (დრ. ა. პეტერსი, ქ.რაისდორფი, გერმანია), (სურ.18).

სურ. 18. *e-nema* საწარმო ქ. რაისდორფი, გერმანია

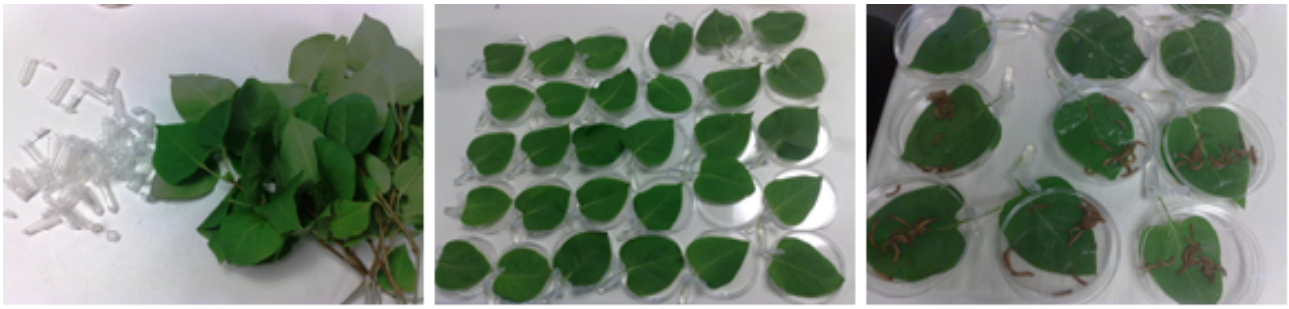
ექსპერიმენტის პირველი სტადია ითვალისწინებდა ცვილის ჩრჩილის, *G. mellonella* ბოლო ასაკის მატლებზე ენტომოპარაზიტული ნემატოდას, *S. feltiae*

გამრავლებას, დაგროვილი ბიომასა ინახებოდა 5-60°C–ზე. ცდების დაწყების წინ, 24 სთ ადრე, ბიომასა აკლიმატიზაციის მიზნით თავსდებოდა 18-20°C–ზე. ამ მასალიდან ხდებოდა საცდელი ნემატოდური სუსპენზიების დამზადება.

ექსპერიმენტის შემდეგი სტადია მოიცავდა ლაბორატორიულ ცდებს 20-25°C და 50-60% ფტ პირობებში. ცდა ჩატარდა 3-ჯერადი განმეორებით *H. cunea*-ს მატლებზე. 150 ინდივიდი განაწილდა 15 პეტრის თასზე, რომლის ფსკერზე მოთავსებული იყო ფილტრის ქაღალდი (სურ. 19), დამუშავებული 1 მლ ნემატოდური ხსნარით, კონცენტრაცია - 1000 IJ/მლ წყალზე.

სურ.19. ეპნ-ით ინვაზირებული *H. cunea* -ს მატლები

საცდელი მატლების სიკვდილიანობა დადგენილია სათანადო ფორმულით (Abbot, 1925). *e-nema*-ს ლაბორატორიაში ჩატარებულ ცდებში გამოყენებული იყო *S. feltiae* კომერციული პრეპარატი Nemicel®. პეტრის თასებში განლაგებულ იასამნის (*Syringa vulgaris)* ფოთლებზე მოთავსებული იყო საცდელი მატლები. იასამნის ფოთლები განლაგდა პეტრის ჯამებზე. 30 ფოთლიდან თხუთმეტს მოესხურა ნემატოდების წყალხსნარი, თხუთმეტს წყალხსნარზე დამატებული ჰქონდა ქსანტანის ჟელე. მატლების სიკვდილიანობა დავითვალეთ ინფიცირებიდან 72 სთს გასვლის შემდეგ. მწერების სიკვდილიანობა *S. feltiae* წყალხსნარის გამოყენებისას 40%-ს არ აღემატებოდა, ხოლო ქსანტანის ჟელეს ნარევის შესხურებისას 100%-მდე მიაღწია (სურ. 20).



სურ.20. ეპნ-ის მოქმედების გახანგრძლივება ქსანტანის ჟელეს გამოყენებით

ექსპერიმენტი ჩატარდა ბუნებაში, ქ. ბათუმის ბოტანიკური ბაღის ტერიტორიაზე. ნემატოდური ხსნარებით ბუჩქებისა და ხე-მცენარეების დამუშავება ხდებოდა ნიადაგიდან 1-3 მ მანძილზე, დღის მეორე ნახევარში, როდესაც გარემოს ტემპერატურა 24°C არ აღემატებოდა. აღრიცხვები მწერის სიკვდილიანობაზე ტარდებოდა შესხურებიდან 24, 36 და 48 სთ-ის შემდეგ. საცდელი სუსპენზიების ბიოლოგიური ეფექტურობის დადგენა ხდებოდა სათანადო ფორმულის მიხედვით (Franz, 1968; Puntener, 1981)

სათბურის ანუ ორანჟერეის ფრთათეთრასთან (სურ.21) ბიოლოგიური ბრძოლისათვის ექსპერიმენტები ჩატარებულია მავნებლის სპეციალიზირებული პარაზიტოიდი მწერი - ენკარზიისა, *Encarsia formosa* Gahan. და ენტომოპათოგენური ნემატოდას, *S. feltiae*-ს ერთობლივი გამოყენების შესაძლებლობების დასადგენად. მავნებლის მატლების დაინვაზირება ტარდებოდა *S. feltiae*-ს სუსპენზიის შემდეგი კონცენტრაციებით – 500, 1000, 1500 ნემატოდა/მლ. მავნებლის მატლების სიკვდილიანობა განსაზღვრულია აბოტის ფორმულით.

სურ.21. სათბურის ფრთათეთრას მავნეობა

სამხრეთ ამერიკული პომიდვრის მენაღმე ჩრჩილი, *Tuta absoluta* (Povolny) ადგილზე დაკვირვებისა და ცდებისთვის, გადატანილ იქნა ბიოკონტროლის ლაბორატორიაში, ბიოლოგიური საშუალებების მოქმედების დასადგენად. *Tuta absoluta*-ს მიმართ (სურ. 22) გამოყენებული იყო *S. feltiae* -ს ადგილობრივი შტამების სუსპენზია. ეპნ–ის პროდუქტი გამოიცადა ლაბორატორიაში მავნებლის ბიოლოგიური ეფექტიანობის განსაზღვრისათვის.

სურ.22. ცდები *Tuta absoluta*-ს მიმართ

ადგილობრივი ეპნ-ის *S. feltiae* მოქმედება ბალიშა ცრუფარიანას, *Coccus hesperidum*, ვაზის ფქვილისებრი ფარიანას, *Neopulvinaria innumerabilis,* მიმართ გამოცდილია ნემატოდური სუსპენზია კონცენტრაციით 1500 IJs/მლ, სამჯერადი განმეორებით, ლაბორატორიულ პირობებში. კოქციდების სიკვდილიანობა აღირიცხებოდა 12, 48, 72 სთ-ის გასვლის შემდეგ.

ადგილობრივი ეპნ-ის ფორმულაცია, *Geo-nema* (*Steinernema feltiae),* დოზით - 2 × 10^5 /$მ^2$, დახურული გრუნტის პირობებში (600 $მ^2$) გამოცდილი იყო სოკო შამპინიონის (ქამა სოკო), *Agaricus bisporus* ნათესებში, კოღონების - *Lycoriella* და *Bradysia* spp. (Diptera: Sciaridae) ლარვების წინააღმდეგ (სურ. 23), საირიგიციო სისტემიდან მიწოდების გზით.

სურ.23. სოკოს კოღონები, ა) იმაგო და ბ) ლარვა (Google©)

ნემატოდური სუსპენზიის მიწოდება ხდებოდა 2× გამეორებით, 14 დღის ინტერვალით. მიღებული შედეგების საფუძველზე გერმანიიდან ინტროდუცირებული და დარეგისტრირებული იყო კომერციული ნემატოდური პრეპარატი NEMYCEL® 300 *Steinernema feltiae.*

ყურძნის ჭიის, *Lobesia botrana*-ს მიმართ ეპნ-ის მოქმედების შესწავლაზე ჩატარდა მარშრუტული გამოკვლევები აღმოსავლეთ საქართველოს მევენახეობის ძირითად რაიონებში (საგარეჯო, გურჯაანი, თელავი). შეგროვდა მავნებლით დასახლებული ყურძნის მარცვლები და გადმოტანილ იქნა ლაბორატორიაში ცდების ჩასატარებლად. მომზადდა პლასტმასის კონტეინერები, ფსკერზე ფილტრის ქაღალდით. საცდელი მარცვლები დამუშავდა ეპნ-ის, *S. feltiae* სუსპენზიით (2000 ერთეული /მლ). დაზიანებული მარცვლების ერთი ნაწილი ფრთხილად გაიკვეთა შუაზე და განლაგდა

ფილტრის ქაღალდზე. დარჩენილი მთლიანი მარცვლები, იმავე წესით, განლაგდა ფილტრის ქაღალდზე და ზემოდან დამუშავდა სუსპენზიის გაორმაგებული დოზით (4000 ერთეული/მლ). კონტეინერებს მოერგო დაჩვრეტილი სახურავები და მოთავსდა ინკუბატორში 72 სთ ფილტრის ქაღალდი დატენიანდა ონკანის წყლით, რის შემდეგ ფრთხილად გამოცალკევდა მწერის მატლები. საანალიზო მასალის გაკვეთა მოხდა საპრეპარაციო ნემსისა და პინცეტის საშუალებით, ანალიზი ჩატარდა სტერეო მიკროსკოპის გამოყენებით. ეპნ-ით ინვაზიის შედეგები მიღებულია მთელსა და დანაწევრებულ მარცვლებში, დადგენილია ინვაზირების მაჩვენებლები.

3.11. ბიოპესტიციდის კომერციული პოტენციალის შესწავლა - ბიოფორმულაცია და ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიები

Steinernema feltiae-ს ქართული შტამების ტექნოლოგიური პროდუქტი - ბიოფორმულაცია (ბიოპრეპარატი) შემუშავებულია აგრარული უნივერსიტეტის ყანჩაველის ბიოკონტროლის ლაბორატორიაში - სახელწოდებით *Geo-nema*, რასაც წინ უსწრებდა ექსპერიმენტალური პარტიის მომზადების ეტაპები.

საქართველოს ნიადაგებიდან მოხდა *S. feltiae*-ს ადგილობრივი შტამების იზოლირება. მაღალვირულენტური ეპნ კულტივირება ჩატარდა *in vivo/in vitro* მეთოდებით. ბიომასა დაგროვდა ლაბორატორიაში, საბოლოო პროდუქტის მისაღებად. შემუშავდა ბიოლოგიური აგენტის მასობრივი გამრავლების ოპტიმალური მეთოდოლოგია და საფუძვლად დაედო ნემატოდური ფორმულაციის ბიოტექნოლოგიას, *Geo-nema* ბიოფორმულაციის მისაღებად.

დადგენილია ეპნ-ის შტამების ეფექტურობა ლაბორატორიაში, როგორც საცდელი მწერების (*G. mellonella* -98 %), ისე მავნე მწერების მიმართ (*Tuta absoluta* – 78 %, *A. rapae* – 41 %);

ენტომოპარაზიტული ნემატოდას (ეპნ), *S. feltiae* ქართული შტამის ინფექციური საწყისის საფუძველზე მიღებულია ტექნოლოგიური პროდუქტი (იდეტიფიცირებულია არიზონას უნივერსიტეტში (აშშ) CRDF/GRDF/DIRA/USA#GMG-01/13 პროექტის ფინანსური მხარდაჭერით).

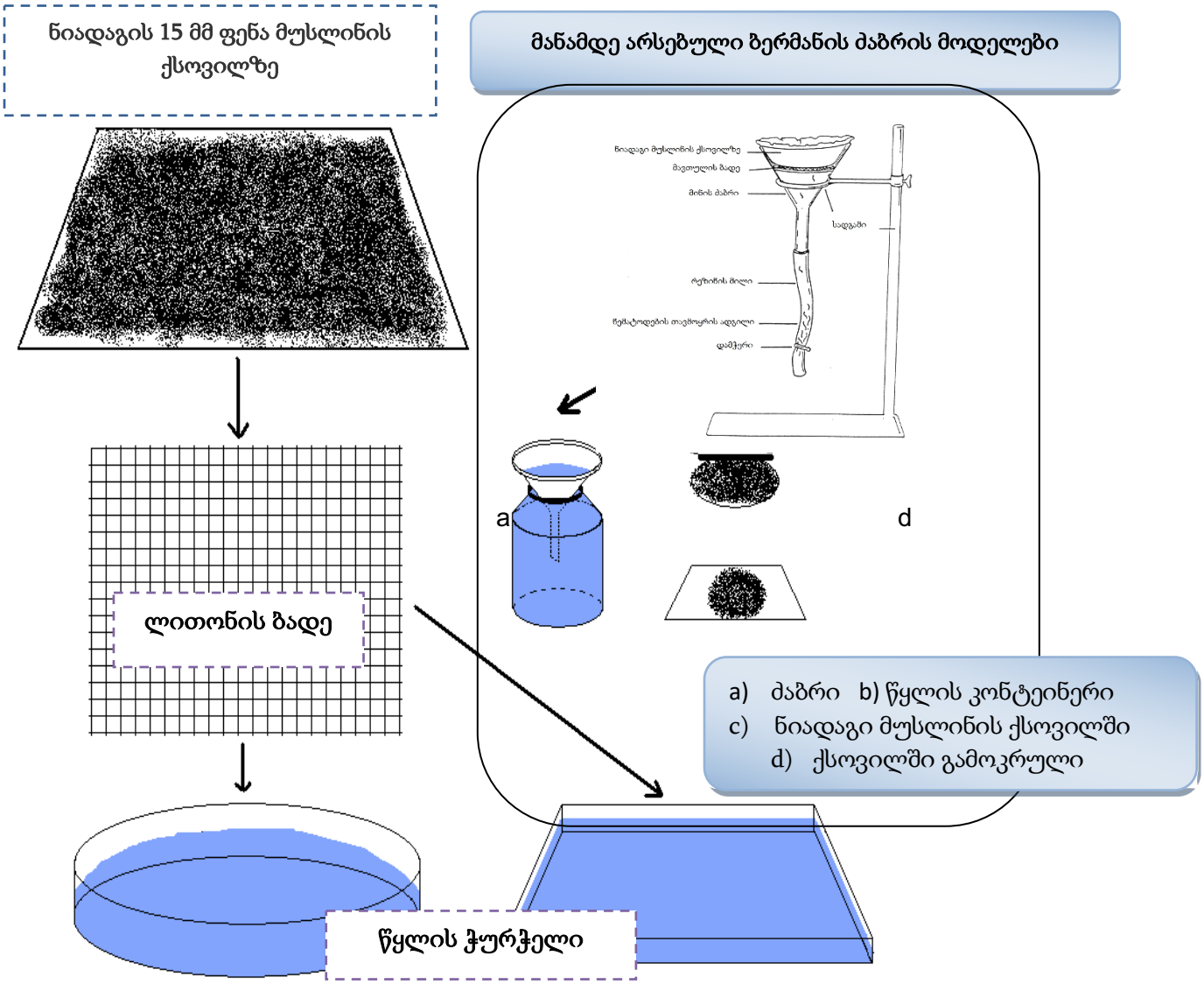
მოხდა მაღალვირულენტური შტამების ჯვარედინი ჰიბრიდიზაცია. მასობრივი გამრავლების შედეგად მიღებული ბიომასიდან დამზადდა მაღალკონცენტრირებული წყალხსნარები და მოესხურა პოლიესტერის ღრუბელს, რომელიც, ტენიანობის და ტემპერატურის შენარჩუნებისათვის, მოთავსდა თერმოიზოლირებულ კონტეინერში და განთავსდა მაცივარში 4 °C-ზე.

წარმოდგენილი ტექნოლოგიით დამზადებული ბიოლოგიური ინსექტიციდი საბაზრო ეკონომიკაში განიხილება, როგორც ადამიანისა და გარემოსათვის უსაფრთხო, კონკურენტუნარიანი საშუალება.

Geo-nema -ს კომერციული წარმოებისათვის შემუშავდა კონცეფცია:

- მთავარი პროდუქტი - მცენარეთა ბიოლოგიურად სუფთა დაცვის საშუალებები;
- მთავარი მომხმარებელი - ბიოფერმერი (მეწარმე) საქართველოში;
- გაყიდვების მიდგომა - B2B, პირდაპირი გაყიდვები;
- კონკურენტული უპირატესობა - კონსულტაცია, პროდუქტის ეფექტურობა.

ტექნოლოგიური სიახლე. შემუშავებულია ნიადაგიდან ნემატოდების იზოლირების მოდელი, რომელიც საკვლევი მასალიდან დროის ერთსა და იმავე პერიოდში ბევრად მეტი ინდივიდის მიღების საშუალებას იძლევა, ვიდრე ეს შესაძლებელი იყო მანამდე არსებული მეთოდებით (სურ.24).



სურ. 24. ნემატოდების პირდაპირ იზოლირების სქემა

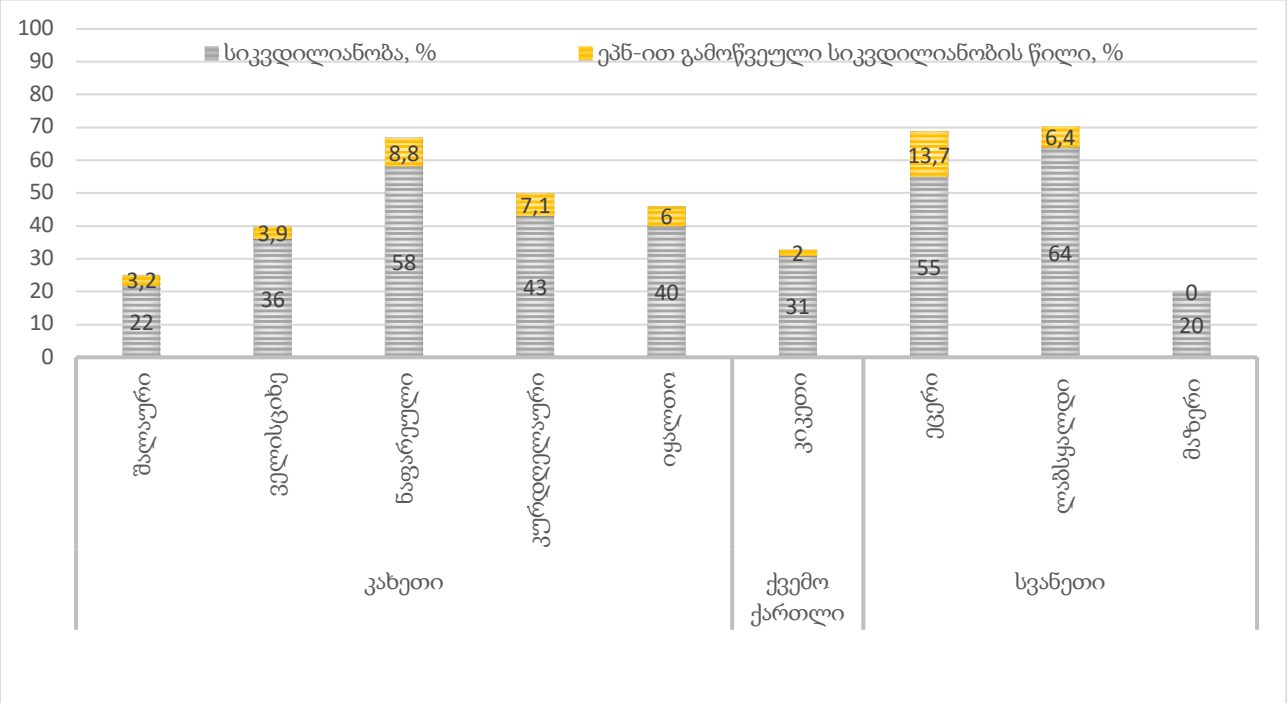
4. შედეგები

საქართველოს აგროცენოზებიდან მოძიებულია ეპნ *Steinernema* გვარიდან, რომელიც კულტივირებულია საცდელ მწერებზე, ბიოკონტროლის ლაბორატორიაში, რის შედეგად იდენტიფიცირებულია *S. feltiae*-ს ადგილობრივი, ქართული შტამი (აშშ, არიზონას უნივერსიტეტი) და რეპროდუცირებულია *in vivo* და *in vitro* მეთოდებით (ისრაელი, საქართველო). შესწავლილია - სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობა და პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების გზები, გამოყვანილია ეპნ-ის აქტიური და გამძლე შტამები, გენეტიკური სელექციისა და ბუნებრივი გადარჩევის გზით (ისრაელი), დადგენილია სასოფლო-სამეურნეო კულტურების უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ ეპნ-ის ქართული შტამის მოქმედება, შემუშავებულია ადგილობრივი ეპნ-ის გამოყენების საფუძვლები უმთავრესი მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიური კონტროლისათვის.

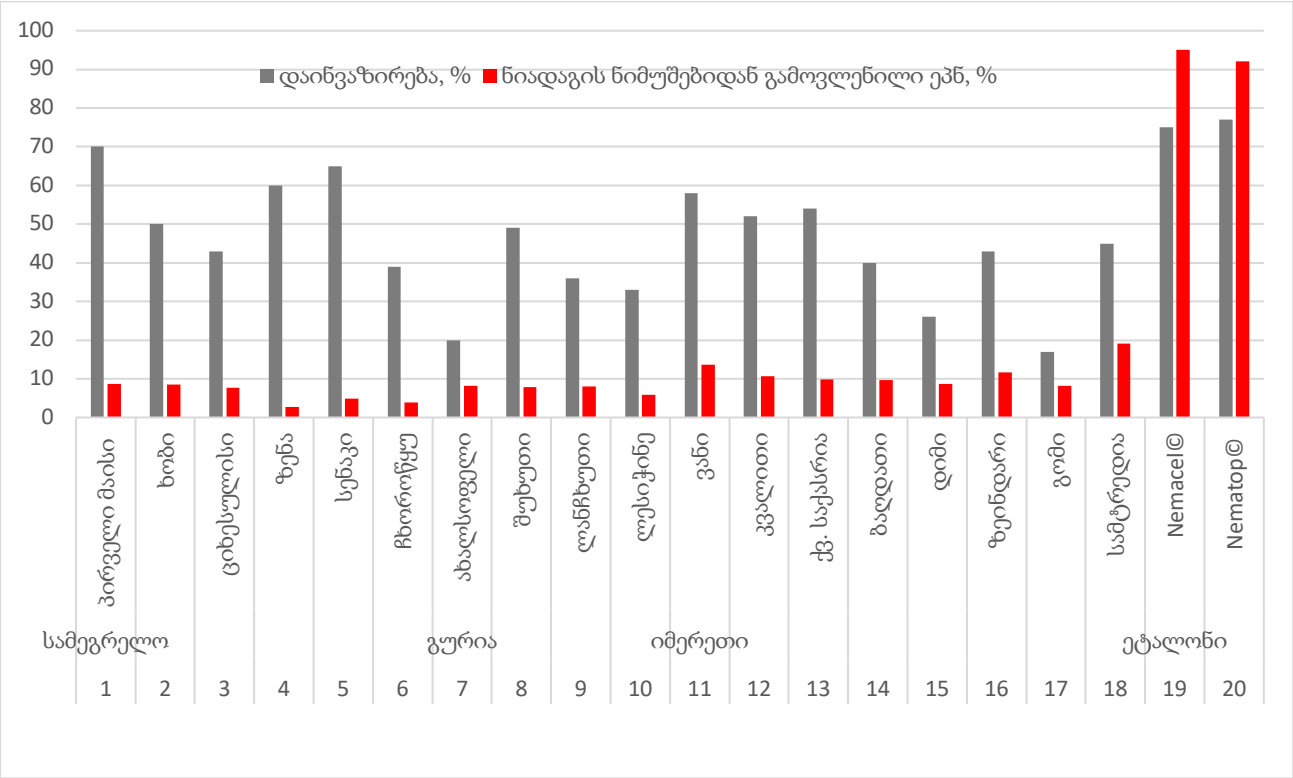
4.1. ეპნ-ის ძიება

საქართველოს აგროცენოზებიდან ეპნ-ის ადგილობრივი შტამების ძიებისათვის გამოკვლევები ჩატარდა სხვადასხვა რეგიონში. მარშრუტული და სტაციონალური გამოკვლევების შედეგად მოძიებულია ეპნ-ის ადგილობრივი შტამები Steinernematidae ოჯახიდან.

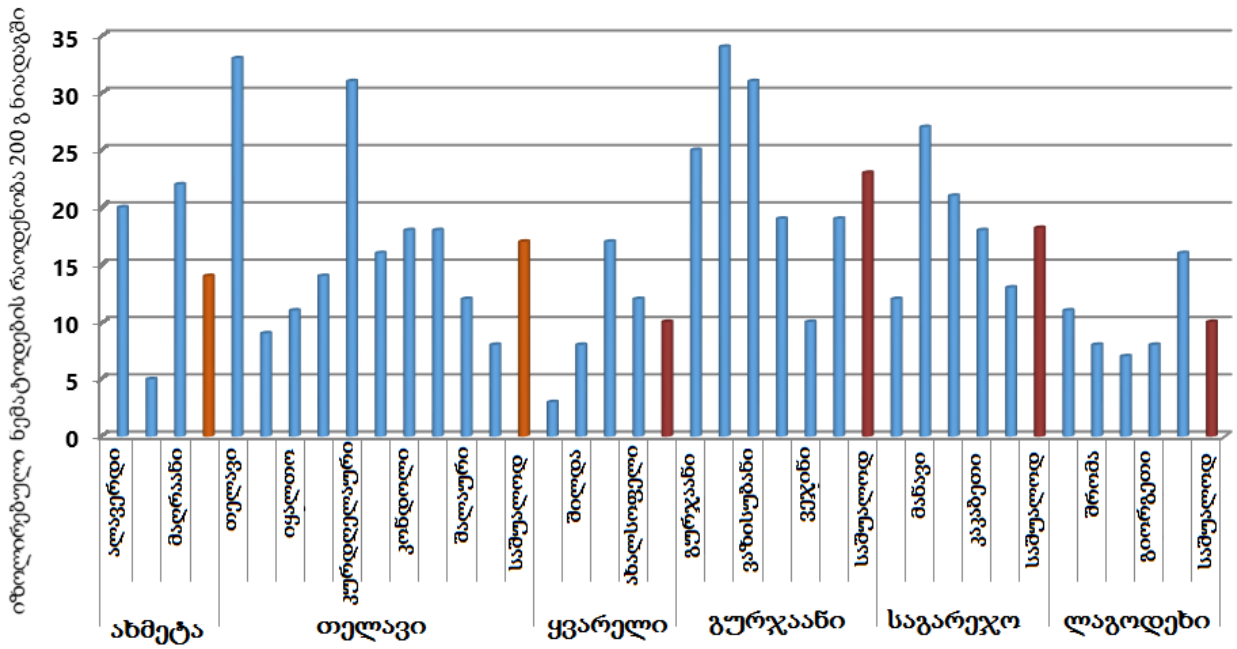
შედარებით მშრალი კლიმატისა და სასოფლო-სამეურნეო სავარგულების სიუხვის გამო, შერჩეულია კახეთის რეგიონი, სადაც გამოკვლევები ჩატარდა ნიადაგიდან ეპნ-ის გამოსავლიანობის მაჩვენებლისა და მავნე მწერების მიმართ მათი მოქმედების დასადგენად. ნემატოდების ძიების შედეგები წარმოდგენილია (სურ. 25, 26, 27, ცხ. 1).



სურ 25. იზოლირებული ეპნ საქართველოს სხვადასხვა ნიადაგიდან



სურ 26. ადგილობრივი ეპნ-ის ინვაზიურობის უნარის შედარება გერმანულ კომერციულ შტამთან



სურ. 27. კახეთის რეგიონიდან იზოლირებული ნემატოდები

ნიმუშების შეგროვების ადგილი	შეგროვილი ნიადაგის ტიპები	ნიმუშების რაოდენობა/ გ	გამოყოფილი პათოგენური ნემატოდები	დაინვაზირებული მწერები
თელავი 1	მურა ნაცრისფერი	2500	14	1
თელავი 2	შავმიწა - ნაცრისფერი	3700	21	-
კურდღელაური	ნაცრისფერი	2000	12	2
იყალთო	შავმიწა	3100	24	-
ნაფარეული	ტყის ყავისფერი - მლაშე	1900	4	-
ალავერდი	მურა ნაცრისფერი - მლაშე	3800	7	1
ვარდისუბანი	შავმიწა	2300	18	2

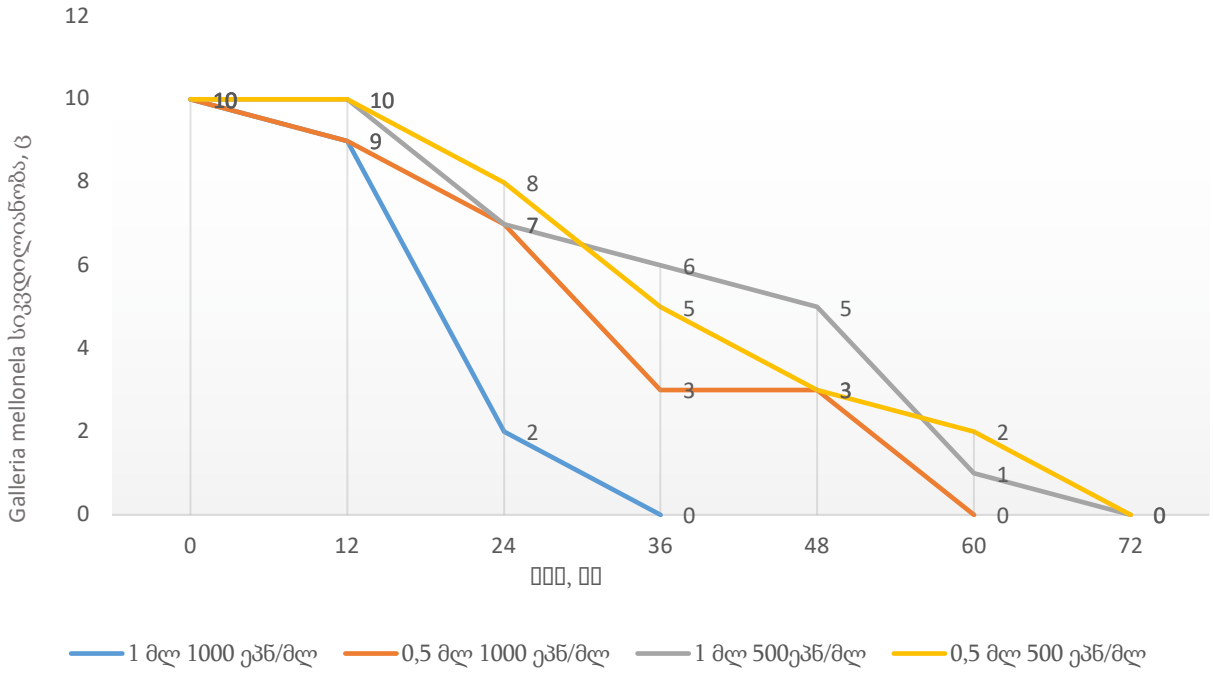
ცხრილი 1. ნემატოდების დინამიკა ალაზნის ველის ნიადაგებში

4.2. ეპნ-ის იზოლირება და კულტივაცია

ეპნ-ის ლაბორატორიული დამუშავება - ნიადაგიდან იზოლირება და კულტივაცია მიმდინარეობდა ხელოვნურად გამრავლებული მწერის, ცვილის დიდი ჩრჩილის,

Galleria mellonella-ს გამოყენებით. ექსპერიმენტებში ჩართული იყო *G. mellonella*-ს ბოლო ხნოვანების მატლები. ეპნ-ის იზოლირების პროცესი წარმოდგენილია (სურ. 28, 29).

სურ. 28. საცდელი ნიადაგიდან ეპნ-ის იზოლირებისა და კულტივაციის პროცესი



სურ. 29. ეპნ-ის სხვადასხვა კონცენტრაციით გამოწვეული ცვილის ჩრჩილის სიკვდილიანობა

4.3. ეპნ-ის იდენტიფიკაცია

საქართველოს აგროცენოზებიდან იზოლირებული ეპნ-ის შტამები, რომლებმაც ლაბორატორიასა და ბუნებაში საცდელ მწერებზე გამოავლინეს სწრაფი ინვაზიურობის უნარი, წარმოშობის ადგილის მიხედვით მიენიჭა პირობითი სახელი და დაიყო 4 ძირითად ჯგუფად: „მცხეთა“, „დასავლეთი“, „კახეთი“ და „კიკეთი“.

შერჩეული შტამების იდენტიფიცირება ჩატარდა (აშშ, არიზონას უნივერსიტეტი) მორფოლოგიური და გენეტიკური მეთოდებით. დადგინდა, რომ ყველა მათგანი მიეკუთვნებოდა *Steinernema feltia*-ს ადგილობრივ შტამებს.

4.4. იდენტიფიცირებული შტამების რეპროდუქცია

ლაბორატორიაში ეპნ-ის ბიომასა გროვდებოდა *in-vivo* და *in-vitro* მეთოდებით. შედეგები წარმოდგენილია (ცხრილი 2).

ცხრილი 2. ეპნ-ის *In-vitro* მეთოდით გამრავლების შედეგები

ცდის ვარიანტი	პეტრის თასების რა-ობა	ღრუბლით ამოვსებული კოლბების რა-ობა	აგარის თასებზე ეპნ-ის საწყისი რა-ობა		აგარის თასებზე მიღებული ეპნ-ის რა-ობა	ეპნ-ის საბოლოო პროდუქტი/ IJs	ეფექტურობა, %
I	10	20	1	150	130	11000	×60.7
			2	120	110	5000	
			3	130	130	240	
			4	150	140	2900	
			5	140	140	16000	
			6	160	120	13500	
			7	130	120	50	
			8	110	110	20000	
			9	120	110	1450	
			10	140	140	6700	
			ჯამი	**1350**	**1250**	**75840**	
II	5	10	1	130	130	27000	×91
			2	160	150	10000	
			3	100	100	17000	
			4	140	120	560	
			5	140	140	3900	
			ჯამი	**670**	**640**	**58460**	

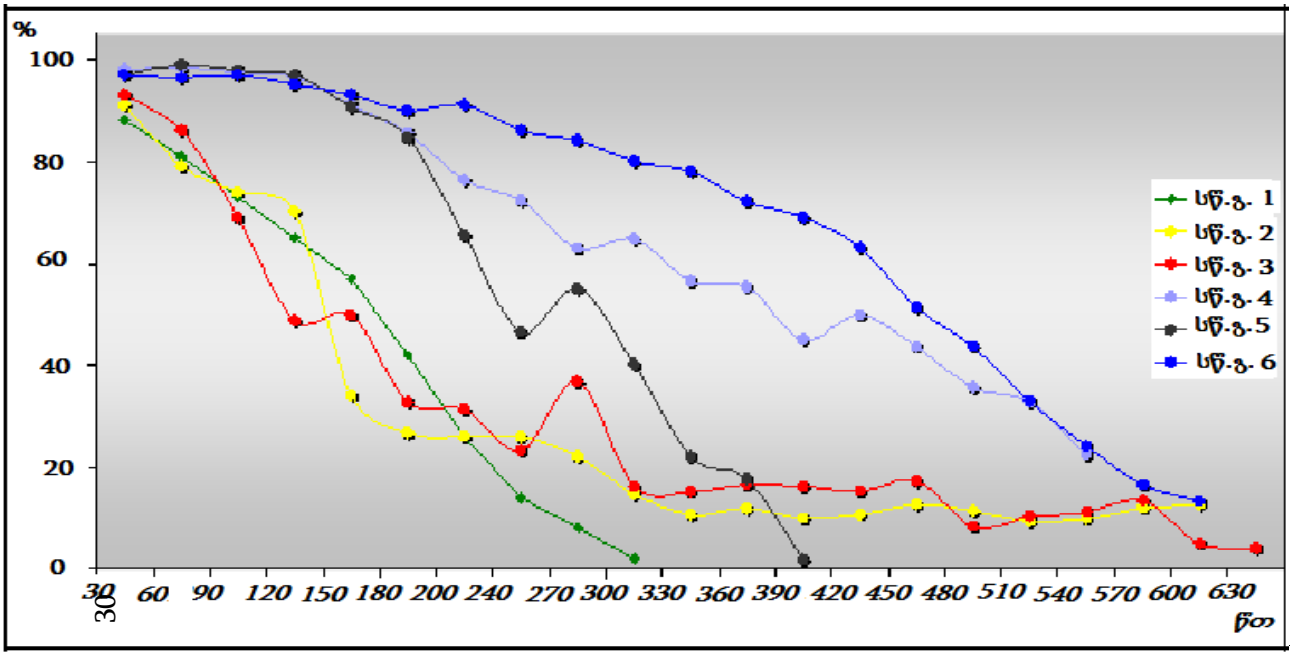
როგორც ცხრილიდან ჩანს, *In vitro* მეთოდით გამრავლებისას გამოყენებული ორი მენიუდან, შედარებით მაღალი ეფექტურობით გამოირჩეოდა ცდის მეორე ვარიანტი, საიდანაც ეპნ-ის ინდივიდების 91%-ზე მეტი მიღებულია. ამასთან ცდის პირველ ვარიანტში გამოყენებული მენიუ აღინიშნებოდა შედარებით დაბალი თვითღირებულებით, რაც, საბოლოოდ ზრდიდა პირველი ვარიანტის ეკონომიკურ ღირებულებას.

4.5. სტრეს ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის შესწავლა

ეპნ, როგორც ბიოლოგიური აგენტები, ღია გრუნტში გამოყენებისას განიცდიან გარემო ფაქტორების ზემოქმედებას, როგორიც არის ნიადაგის ზედაპირზე ტენის სწრაფი აორთქლება და ნიადაგის სიღრმეში თანდათან მათი გამოშრობა, რაც მნიშვნელოვნად ამცირებს ეპნ-ის ეფექტურობას.

მკაცრი გარემო პირობების მიმართ ეპნ-ის მდგრადობის გასაძლიერებლად და პატრონ მწერის სწრაფი ძებნის უნარიანობისათვის, ჩატარდა ერთობლივი გამოკვლევები (საქართველო, ისრაელი). ექსპერიმენტები მოიცავდა *S. feltiae*-ს გენეტიკურ სელექციას, მშრალი კლიმატის მიმართ გამძლეობას და სწრაფი ინვაზიურობის უნარის ამაღლებას.

ეპნ-ის სიცოცხლისუნარიანობის ცვლილება IJ-ბის განმეორებითი ექსპოზიციის შემდეგ, გამძლეობის სწრაფი ზრდის მაჩვენებელი შეინიშნებოდა პირველადი სელექციის პროცესში. სამი ოთხი შესარჩევი ციკლის ფარგლებში ზომიერ პირობებში (100 წთ ექსპოზიცია), IJ სიცოცხლისუნარიანობა ხუთჯერ გაიზარდა - 5 ± 1.3% - 25 ± 2,7%-მდე . შედეგად, შერჩევის რეჟიმი გაძლიერდა 140 წთ ექსპოზიციით. ასეთ პირობებში, ნემატოდის სწრაფი გამოშრობისადმი ტოლერანტობა მე-10 შესარჩევი ციკლის შემდეგ, კიდევ უფრო გაიზარდა და მიაღწია 80-90%. მომდევნო ხუთი სელექციური ციკლის შემდეგ კი, მისი სიცოცხლისუნარიანობა გაიზარდა 10%-ით. შედეგები წარმოდგენილია (სურ. 30).



სურ. 30. სწრაფი გამოშრობის მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობის მაჩვენებლები

Regression Analysis

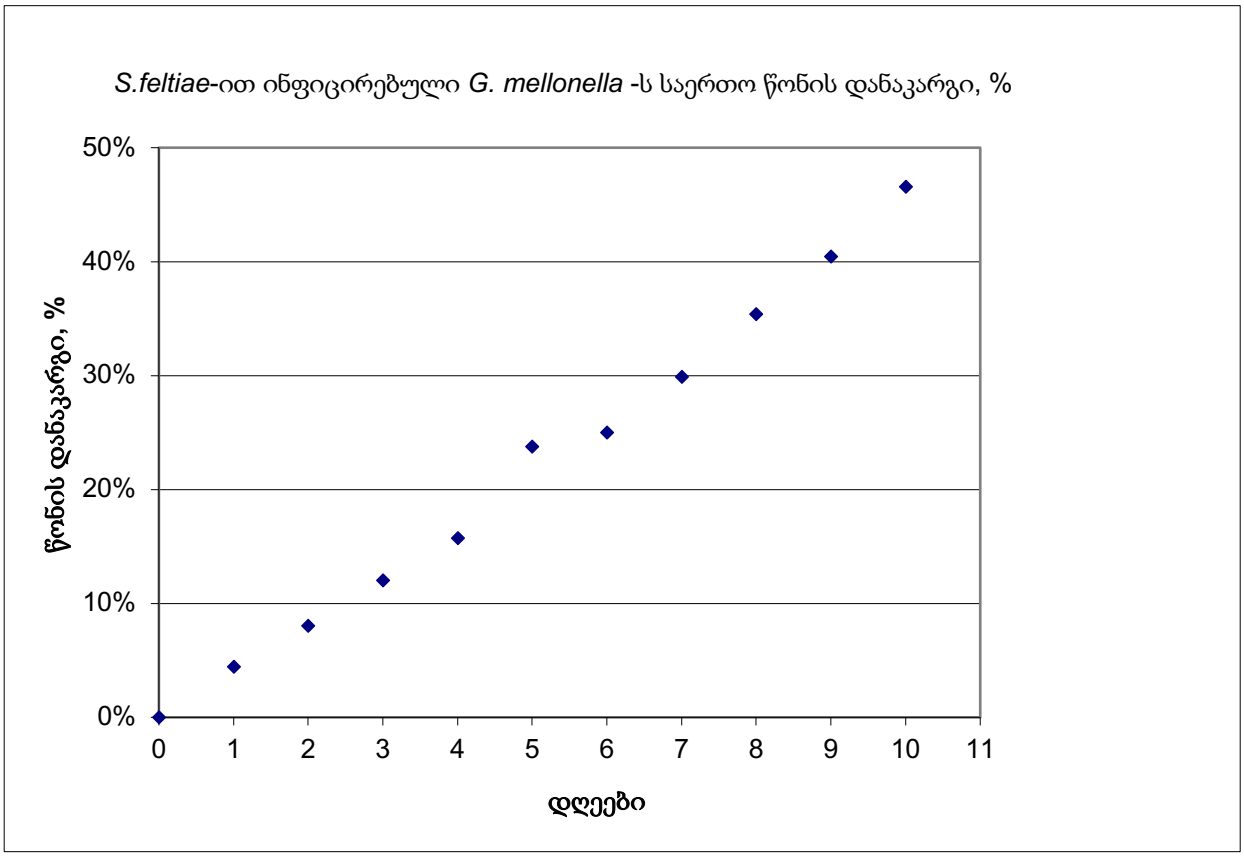
			Calculations	
		b2, b1, b0 intercepts	0.2504	0.1875
Regression Statistics		*b2, b1, b0* Standard Error	0.0891	0.0105
Multiple R	0.5418	R Square, Standard Error	0.2936	0.0093
R Square	0.2936	*F*, Residual *df*	7.8965	19
Adjusted R Square	0.2564	Regression *SS*, Residual *SS*	0.0007	0.00165
Standard Error	0.0093	Confidence level	95%	
Observations	21	*t* Critical Value	2.0930	
		Half Width *b0*	0.0220	
		Half Width *b1*	0.1865	
		Half Width *b2*	0.1865	

ANOVA

	df	*SS*	*MS*	*F*	*Significance F*
Regression	1	0.0007	0.0007	7.8965	0.0112
Residual	19	0.0017	0.0001		
Total	20	0.0023			

	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	0.1875	0.0105	17.8459	0.0000	0.1655	0.2095	0.1655	0.2095
Ending Mass	0.2504	0.0891	2.8101	0.0112	0.0639	0.4369	0.0639	0.4369
	0.2504	0.0891	2.8101	0.0112	0.0639	0.4369	0.0639	0.4369

ექსპერიმენტები ჩატარებულია ეპნ-ის ტოლერანტობაზე ხანგრძლივი გამოშრობის დროს. შედეგები წარმოდგენილია სტატისტიკურად:

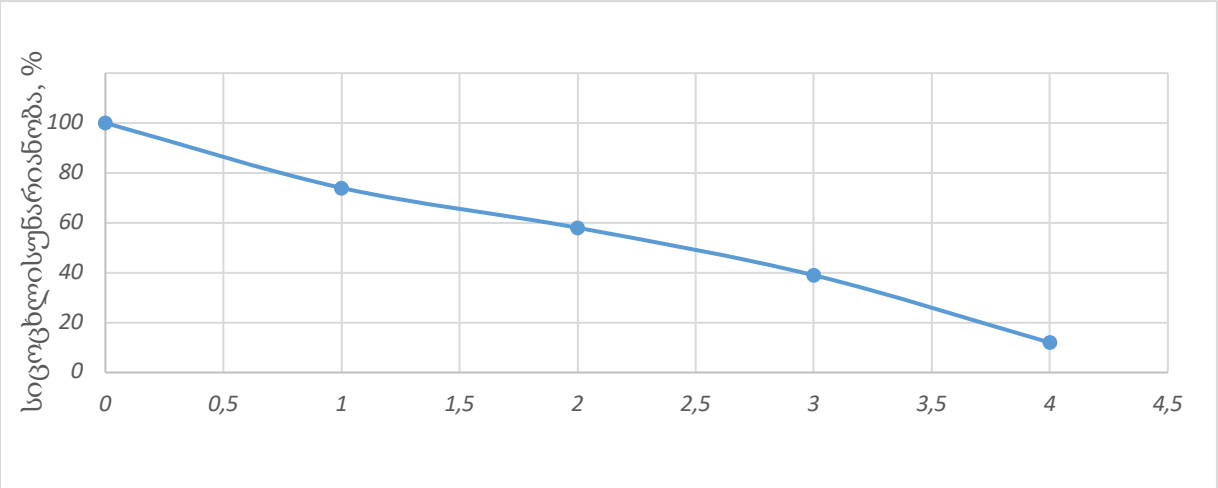


სურ. 31. ეპნ-ის ხანგრძლივი გამოშრობის შედეგები

4.6.ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების შესწავლა

ეპნ-ის პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესებაზე ჩატარდა ექსპერიმენტები (ისრაელი). დაკვირვებები მიმდინარეობდა IJ-ის რიცხოვნობის

ეტაპობრივ ზრდაზე, ქვიშის სვეტებზე, სათანადო მეთოდით. ექსპერიმენტების პროცესში ეპნ-ის რიცხოვნობა ეტაპობრივად იზრდებოდა სვეტის ქვედა დონეზე, მწერებთან ახლოს. ცხრა შესარჩევი ციკლის შემდეგ, IJ-ის პროპორცია ქვედა ფენაში გაიზარდა 10%-ით. შემდგომ ცდებში გაიზარდა ეპნ-ის დაღმავალი სვლა და მიაღწია პოპულაციის 75% (± 3.7). 25 შერჩევითი ციკლის შემდეგ კი ნემატოდების პროპორცია შუა ფენაში შემცირდა 2.3-ჯერ, ამასთან, ზედა ფენაში პროპორციულად დაფიქსირდა ეპნ-ის პოპულაციის 3.3-ჯერ შემცირება (სურ. 32).

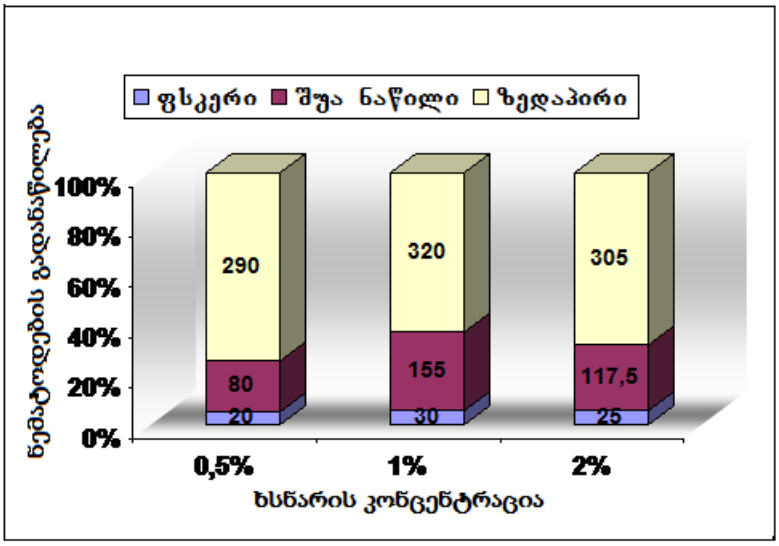


სურ. 32. *S. feltiae-ს* სიცოცხლისუნარიანობა გამოშრობისას

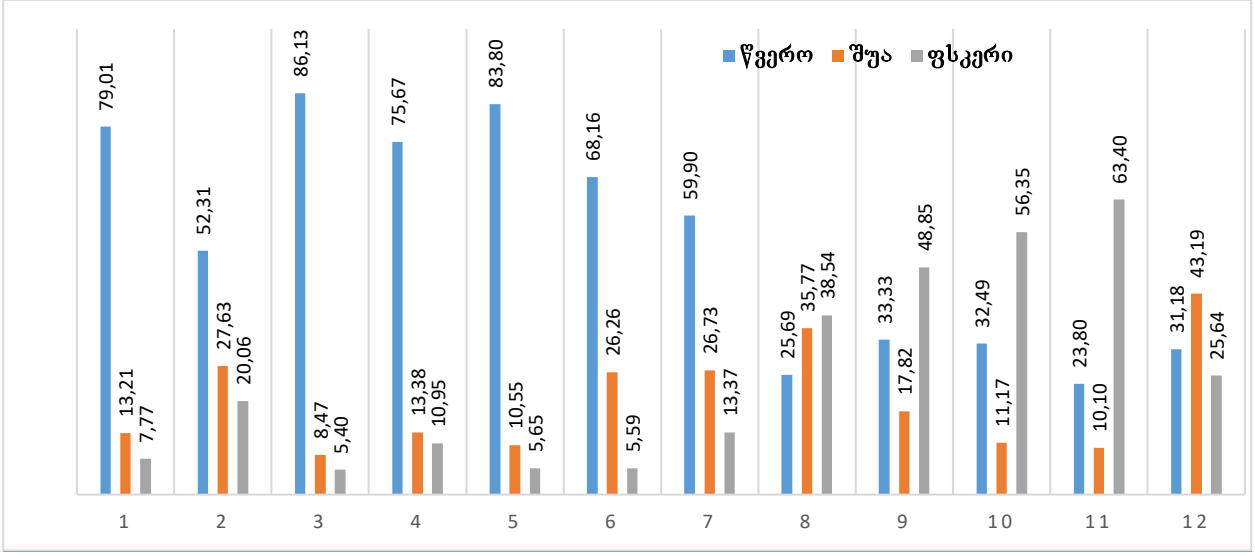
4.6.1. *ეპნ-ის ვარგისიანობის განსაზღვრა*

სხვადასხვა ექსპერიმენტული ცდებით დადგინდა, რომ შერჩეული ნემატოდების გენეტიკური ხაზიდან არ დაკარგა ინფიცირების, ან სტრესული პირობების გადატანის უნარი (სურ. 33, 34). ამასთან, ეპნ-ის პოპულაციებში გაუმჯობესდა მასპინძელი მწერის მოძებნის უნარი და ინვაზიურობა. შემდგომ ცდებში აღინიშნ სელექციური შტამების მნიშვნელოვნად მაღალი ინვაზიურობა ($p = 0.05$) (*T. molitor* LD_{50}).

ეპნ-ის სელექციურმა პოპულაციამ, რომელიც მიღებული იყო ნელი გამოშრობით, გვიჩვენა თერმული სტრესის მიმართ გაუმჯობესებული ტოლერანტობა.



სურ. 33. ქვიშის კოლბებში ეპნ-ის გადაადგილება



სურ. 34 სელექციური პოპულაციის გაუმჯობესებული ტოლერანტობა 12 თაობაში

გამოკვლევებით დადგენილია, რომ დაუცველ ზედაპირებზე (ნიადაგი ან ფოთლები), Steinernematid-ების სიცოცხლისუნარიანობა არ აღემატება რამოდენიმე საათს, რაც დამოკიდებულია სახეობაზე, ტემპერატურასა და ფარდობით ტენიანობაზე (Glazer, 1992, 2002). სხეულიდან წყლის სწრაფი მოცილება რადიკალურად ამცირებს მათ სიცოცხლისუნარიანობას, მნიშვნელოვნად მცირდება მათი, როგორც ბიოლოგიური აგენტების ეფექტურობა (Georgis *et al.*, 2006; Shapiro-Ilan *et al.*, 2006). აქედან გამომდინარე,

გაუმჯობესებული ტოლერანტობის პირობებში, ეს ჩვეულებრივ გამოიწვევს სწრაფ გამოშრობას, შეიძლება გაიზარდოს ნემატოდის გამძლეობა და შესაბამისად, მათი, როგორც ბიოკონტროლის აგენტების ეფექტურობა.

ნემატოდების ეფექტურობა ასევე დამოკიდებულია მათ პერსისტენტობაზე ნიადაგში დიდი ხნის განმავლობაში (Shapiro-Ilan *et al.,* 2006; Susurluk, Ehlers, 2008). მშრალ ნიადაგში ეპნ-ს შეუძლიათ იარსებონ 2-3 კვირის განმავლობაში (Kaya 1990; Kung, Gaugler, 1990). ისევე, როგორც სხვადასხვა ცხოველთა და მცენარეთა პარაზიტული ნემატოდების, ეპნ-ს შეუძლია გაუძლოს გამოშრობის პირობების ზემოქმედებას ხანგრძლივი დროის განმავლობაში (Cooper, Gundy 1971; Glazer, 2002). ამ ნემატოდებს აქვთ უნარი მიაღწიონ ანჰიდრობიოზის უმოქმედო მდგომარეობას, რომელიც ჩვეულებრივ მიიღწევა შემდგომ პერიოდში, თანდათანობით წყლის დაკარგვით (Crowe *et al.,* 1992). სწრაფი გაშრობისგან განსხვავებით დაბალი ტემპერატურული რეჟიმის დროს ნემატოდები განიცდიან ფიზიოლოგიურ ადაპტაციას.

ოპტიმალური მიდგომა, რაც უზრუნველყოფს ეპნ-ის ეფექტურობას, არის მათი უნარის გაუმჯობესება სამიზნე მასპინძელთან მიღწევასა და თავდასხმაში. ჩვენ მოვახდინეთ დემონსტრირება, რომ შერჩევის რეჟიმის დროს, რომელშიც ჩართული იყო ქვიშის სვეტები, ქვედა ფენაში ნაპოვნი ნემატოდების პროპორცია 2.3-ჯერ გაიზარდა.

მომდევნო ცდებში გამოყენებულია უფრო მკაცრი შერჩევის რეჟიმი, სადაც ეპნ მოუხდა 21 სმ ქვიშის სვეტის გავლა, ვიდრე მიაღწევდა სამიზნე მწერებს.

ეპნ-ის პატრონის ძებნის სტრატეგია განსაზღვრულია სამ კატეგორიად: „კრეისერული“, „ჩასაფრებული“ და „შუალედური“ (Lewis, 2002). „კრეისერები“ მოძრაობისას მცირე პაუზების დროს ახდენენ საკვები რესურსების სკანირებას. „ჩასაფრებული“ ნემატოდები ასკანირებენ ხანგრძლივი პაუზის დროს, რომელიც ირღვევა რეპოზიციონალური სიგნალების გადაადგილებით, შედარებით მოკლე დროში (Lewis *et al*., 1992). *S. feltiae* ცნობილია, როგორც შუალედური მძებნელი (Lewis, 2002). კრეისერული კომპონენტების გაზრდისას პატრონ-მძებნელის ქცევაში, ისე როგორც აქ იყო ნაჩვენები, ჩვენ შეგვიძლია მივეხმაროთ ნემატოდებს სამიზნე მწერებთან

მიღწევაში, ამით შემცირდება დრო, რომელშიც ნემატოდები გარემოს არახელსაყრელ პირობებში არიან ექსპოზირებული.

ნემატოდების ვარგისიანობის ცდებმა გვიჩვენეს, რომ განსაზღვრული თვისებებისათვის შერჩევა ირიბად აძლიერებს სელექციური პოპულაციების უნარს. პატრონის ძიების სელექციური პოპულაციის გაზრდილი ინვაზიურობა, რომელიც იზომება LD_{50} მნიშვნელობით, შეიძლება აიხსნას ნემატოდის უნარის გაზრდით, რომ მიაღწიოს სამიზნე მწერს და მოახდინოს დაინვაზირება ქვიშის სვეტში. დაბალი გამოშრობის ტოლერანტობის პოპულაციის გაუმჯობესებული თერმული ტოლერანტობა შეიძლება განისაზღვროს ზოგიერთი ფუნდამენტური ტოლერანტობის მექანიზმების მოქმედებით (Zitman-Gal *et al.,* 2004) .

დასასრულს, ჩატარებული ცდები შეიძლება ჩაითვალოს განსაზღვრულ მიღწევად, რადგან გაუმჯობესდა, როგორც *S. feltiae* გამოშრობის მიმართ გამძლეობა, ისე მისი მასპინძლის ძიების უნარები. შეიქმნა საფუძველი შერჩეული ეპნ-ის, როგორც ეფექტური ბიოლოგიური კონტროლის აგენტის გამოყენებისათვის, ნაკლებად ხელსაყრელი პირობების დროს. აღნიშნული პროცესი ჯერ კიდევ ჩამოყალიბების სტადიაშია. აუცილებელია შემდგომი გაუმჯობესება და შეჯვარება სელექციურ ხაზებს შორის. როგორც საველე პირობებში ჩატარებული კვლევებით დასტურდება, მიღებული ეპნ-ის შტამები შეიძლება გამოყენებულ იქნას კომერციალიზაციისთვის. .

4.7. ადგილობრივი ეპნ-ის მოქმედების შესწავლა მავნე მწერების მიმართ

სელექციის გზით მიღებული ეპნ-ის შტამების მოქმედების შესწავლა ჩატარდა, როგორც ღია, ისე დახურული გრუნტის პირობებში. სამიზნე მწერებს წარმოადგენდა, როგორც ნიადაგში მცხოვრები, ისე მავნეობით გამორჩეული მიწისზედა უმთავრესი მწერები.

ეპნ გამოიცადა სხვადასხვა დროს: სათბურის თრიფსის - *Heliothrips haemorrhoidalis,* სათბურის ანუ ორანჟერეის ფრთათეთრას - *Trialeurodes vaporariorum,* ყურძნის ჭიას - *Lobesia botrana*, კოლორადოს ხოჭოს - *Leptinotarsa decemlineata,*

ამერიკული თეთრი პეპელას - *Hyphantria cunea,* კომბოსტოს თეთრულას - *Pieris rapae,* სამხრეთ ამერიკული მენაღმე ჩრჩილის - *Tuta absoluta,* ბაღჩის ბუგრის - *Aphis gossypii,* ფარიანებისა და ცრუფარიანების - Coccidae და კოღონების - Sciaridae მიმართ.

4.7.1. ეპნ-ის გამოყენება მავნე მწერების მიმართ ღია გრუნტში

მიწისზედა მავნებლების მიმართ ეპნ-ის გამოყენების შესწავლისათვის ღია გრუნტში ექსპერიმენტები ჩატარებულია ამერიკული თეთრი პეპელას, ყურძნის ჭიას, სამხრეთ ამერიკული მენაღმე ჩრჩილის მაგალითზე.

კვლევის მიზანი შეადგენდა შედარებითი ბიოლოგიური ეფექტურობის დადგენა ნემატოდური სუსპენზიის ცალკე და ნემატოდურ სუსპენზიისა და მცენარეული წებოს - ქსანტანის ნარევით. წინასწარ მოხდა *S. feltiae*-ს ბიომასის დაგროვება, რამოდენიმე თვის განმავლობაში, *In vivo* მეთოდით.

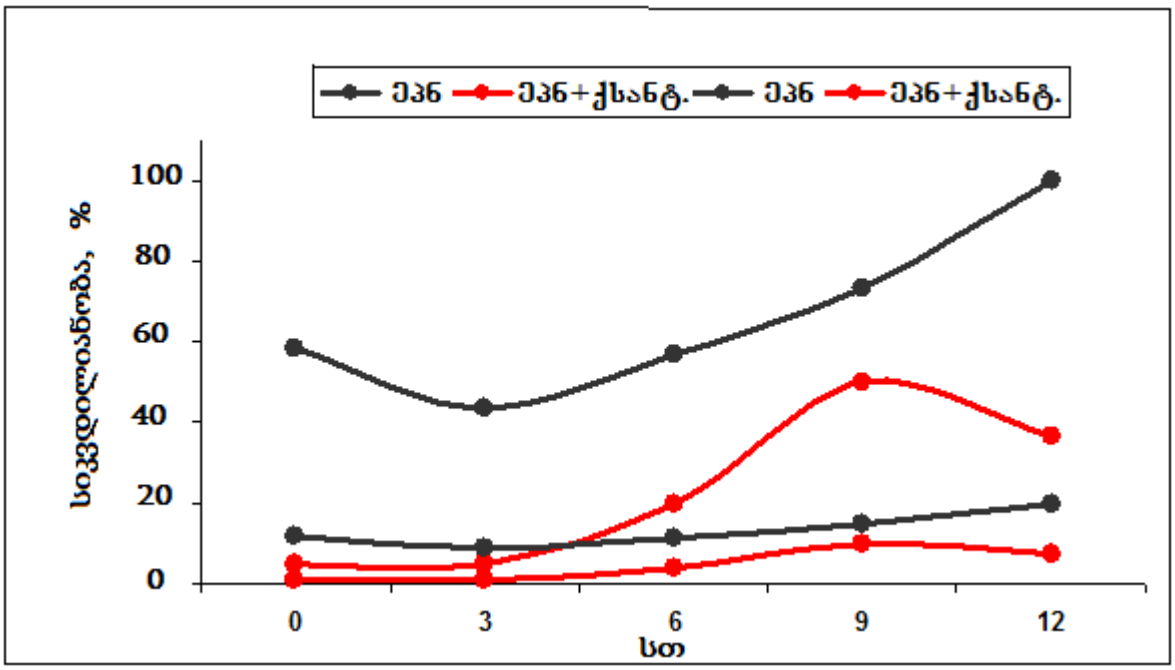
ექსპერიმენტები ჩატარდა *H. cunea* -ს გავრცელების კერებში, დასავლეთ საქართველოს შავი ზღვის რეგიონში, სადაც შეინიშნებოდა მავნებლის აფუთქარება. მონიტორინგის შედეგად განისაზღვრა მავნებლის რიცხოვნობა (n), მოხდა მავნებლის მ ბუდეების აღრიცხვა, საშუალო განვითარების ზღვრული მონაცემით (t_0) 18-27±2^{0}C ტემპერატურის პირობებში, ათპ-ს ჭუპრების განსაზღვრის კოეფიციენტი (r^2), რომელიც გამოთვლილია სათანადო მეთოდებით (Nordin, O'Canna 1985), მონაცემები წარმოდგენილია (ცხრილი 3).

ათპ-ს პოპულაციების დამუშავება ჩატარდა ეპნ-ის სუსპენზიით, კონცენტრცია 5 X 10 IJ/მ². მავნებლის სიკვდილიანობა საშუალოდ 41%-ს აღემატებოდა. ნემატოდების სიკვდილიანობამ კი - 24 სთ-ის შემდეგ 84%-ს მიაღწია. გამოირკვა, რომ ბუნებრივ პირობებში გამოყენებული ეპნ-ის წყალხსნარი, რაც კომერციული თვალსაზრისით არც თუ ისე დამაკმაყოფილებელია. სტრესული გარემო ფაქტორები სწრაფად იწვევდნენ შესხურებული ხსნარის კონდენსირებას და ნემატოდების მაღალ სიკვდილიანობას, სანამ ისინი შეიჭრებოდნენ მასპინძლის ორგანიზმში.

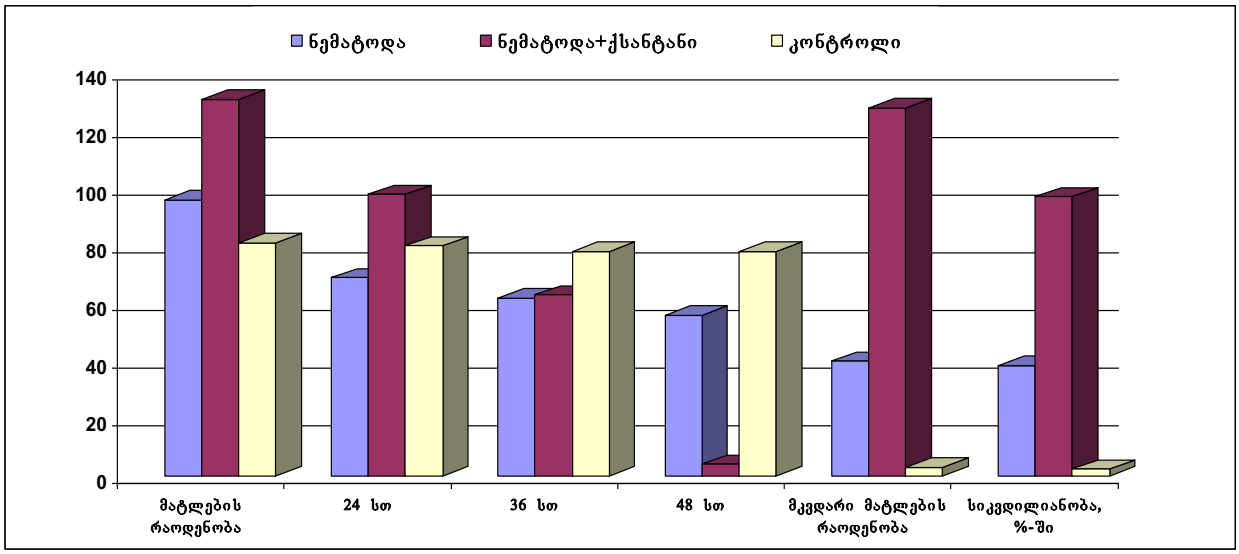
განვითარების ფაზა	**n**	**t_0**	**r^2**
ჭუპრი დიაპაუზაში	52	9.6	0.980
კვერცხი	68	13.6	0.951
I – II ასაკის მატლი	743	10.9	0.962
III ასაკის მატლი – დაჭუპრებამდე	431	10.7	0.760
აქტიური ჭუპრი	315	10.7	0.986
იმაგო	342	10.9	0.785

ცხრილი 3. ათპ-ს რიცხოვნობის დინამიკა ბუნებაში

e-nema-ს საწარმოო ლაბორატორიაში ჩატარებული ექსპერიმენტი განიხილება, როგორც ნემატოდური სუსპენზიის და 3% ქსანტანის ნარევის გამოყენების პირველადი შედეგი. ქსანტანის მცენარეული წებო იწვევს ეპნ-ის ხსნარში ტენიანობის შენარჩუნებას იასამნის ფოთლებზე, სითხის შეკავებას მავნებლის სხეულზე. შესაბამისად იზრდება ნემატოდების გადარჩენის კოეფიციენტი და მისი ბიოლოგიური ეფექტურობა (სურ. 35, 36).



სურ. 35.ეპნ-ის სიკვდილიანობა შესხურებიდან 12 საათის განმავლობაში - I ვარიანტი

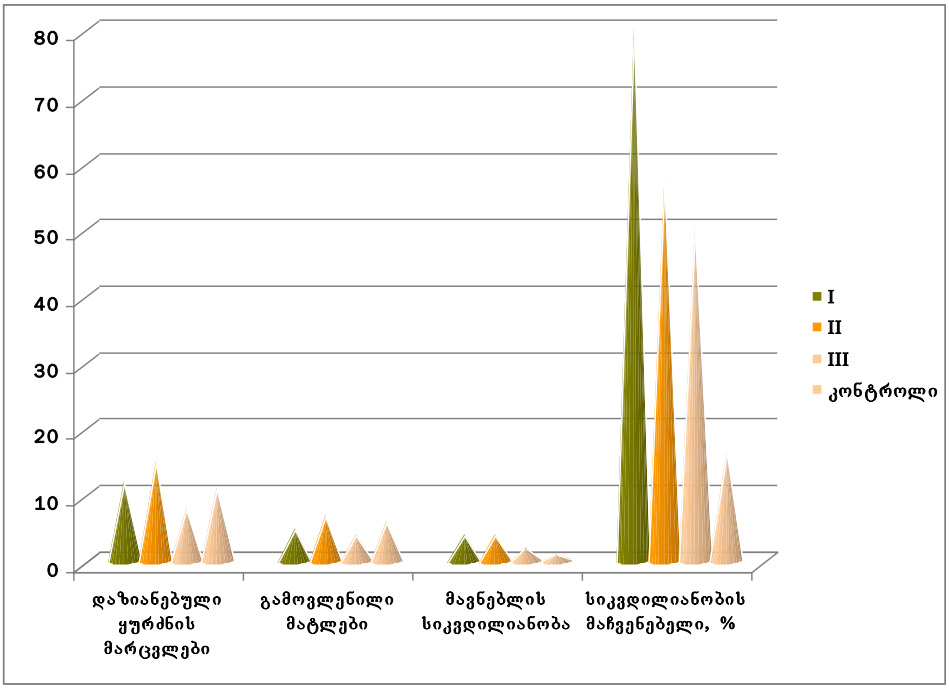


სურ. 36.ეპნ-ის სიკვდილიანობა და მოქმედება - II ვარიანტი

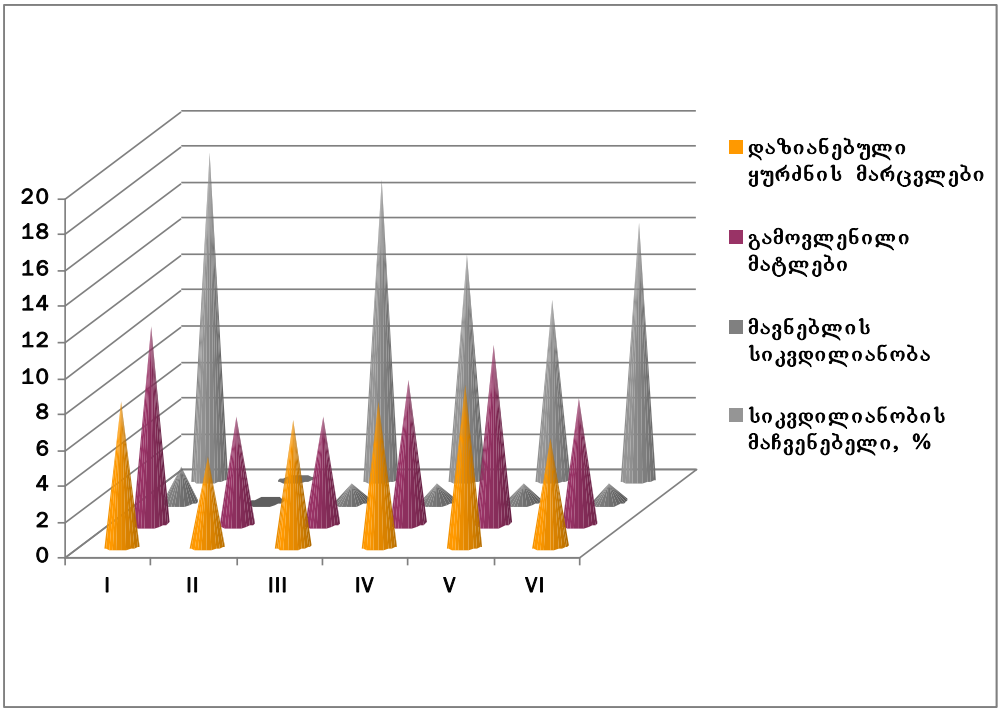
ჩატარდა ლაბორატორიული ცდები ყურძნის ჭიის მიმართ ეპნ-ის გამოყენებაზე (სურ.37).

სურ.37. ყურძნის ჭიის მატლების ეპნ-ით ინვაზია

ცდებში გამოვლინდა ობის სოკო, რომელმაც გარკვეულწილად შეაფერხა პატრონ-პარაზიტის ურთიერთდამოკიდებულების განვითარება. შედეგები მოცემულია გრაფიკულად (სურ .38, 39).



სურ.38 ეპნ-ის მოქმედებით გამოწვეული ყურძნის ჭიის მეორე თაობის მატლების სიკვდილიანობა

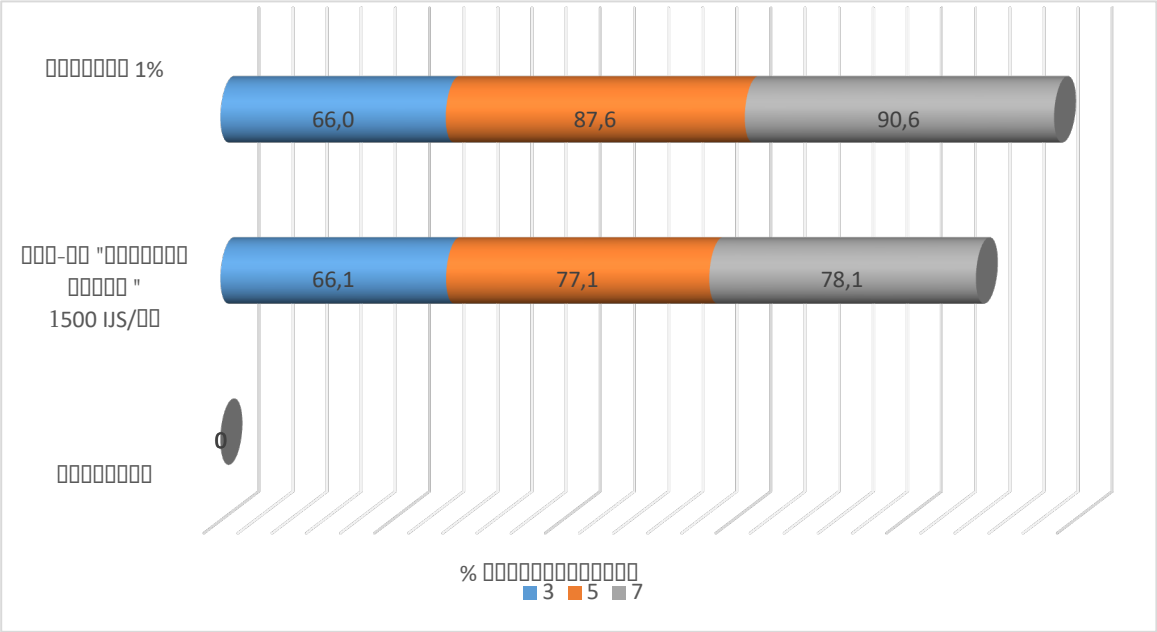


სურ. 39. ეპნ-ის მოქმედებით ყურძნის ჭიის მე-3 თაობის მატლების სიკვდილიანობის მაჩვენებელი

4.7.2. ეპნ-ის გამოყენება მავნე მწერების მიმართ დახურულ გრუნტში

ეპნ-ის წყალხსნარის სხვადასხვა კონცენტრაცია გამოიყენება სათბურებში. მაღალი შედეგები მიიღება, როდესაც სათბურში ნემატოდების სუსპენზია გამოიყენება ნოტიო ნიადაგზე, საღამოს საათებში ან დილით ადრე, მზის ამოსვლამდე (18-24°C).

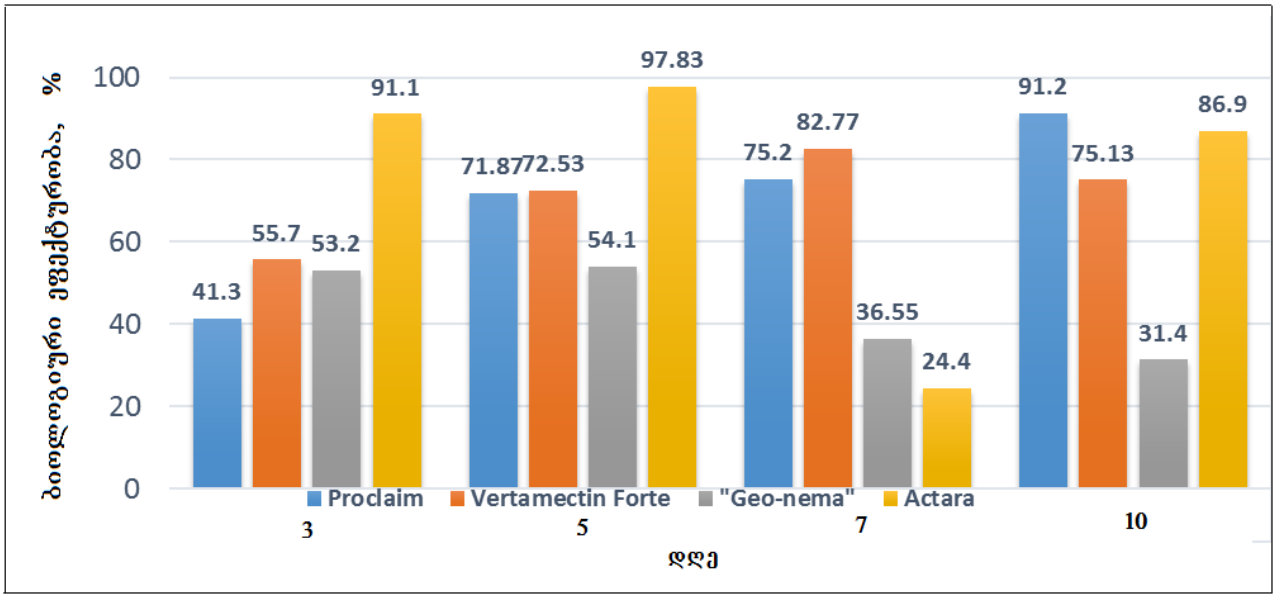
ცდებში განისაზღვრა ენტომოპათოგენური ნემატოდას, *S. feltiae* და მიკოპესტიციდის *BotaniGard* ES (აშშ) მიმღებიანობა ბოსტნეული კულტურების ძირითადი მავნებლის - სათბურის ფრთათეთრას მიმართ, როგორც ცალკე, ისე კომბინაციაში. შერეული ინფექცია იწვევს მავნე მწერის სიკვდილიანობის ზრდას. ამ დროს უმნიშვნელოა ფრთათეთრას პარაზიტოიდის, ენკარზიას მიმღებიანობა ნემატოდური სუსპენზიის მიმართ. დაბალი კონცენტრაციის 500IJს/მლ შემთხვევაში, მწერის სიკვდილიანობა 22% შეესაბამება, გაზრდილი კონცენტრაციის 1500-2000/ მლ დროს კი - 95-100% აღწევს (სურ. 40).



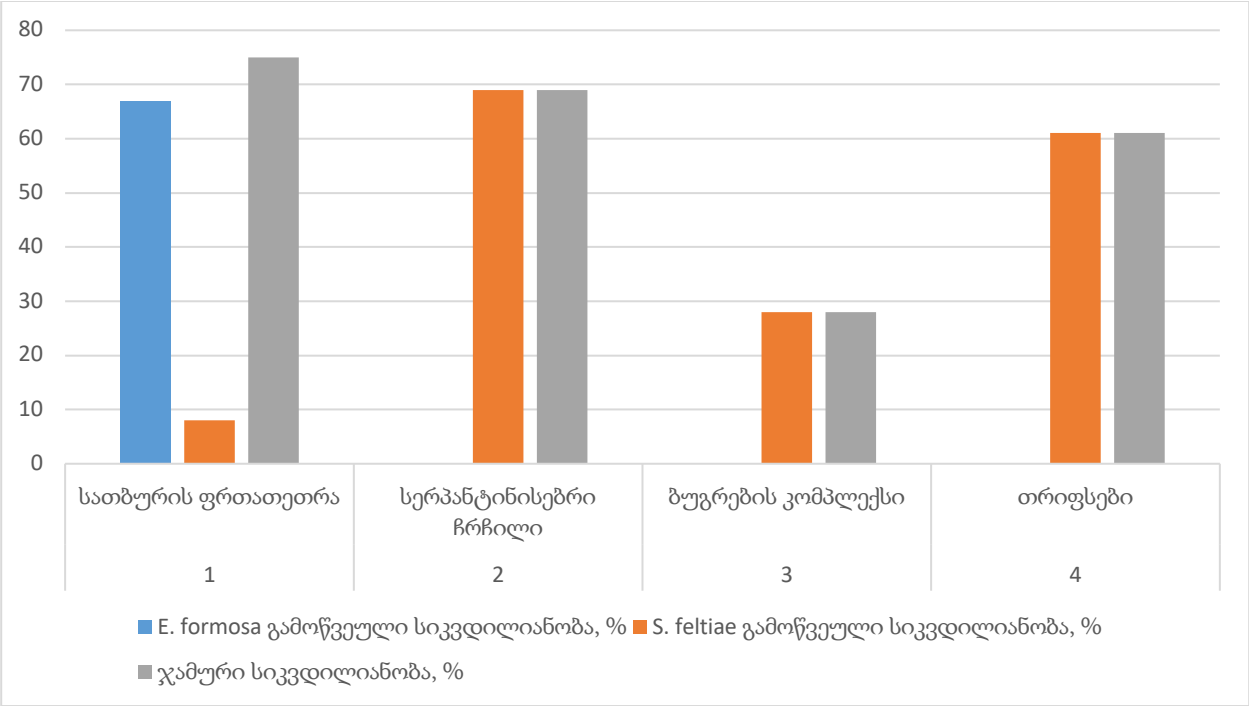
სურ. 40. სათბურის ფრთათეთრას მიმართ ეპნ-ის კომბინაციის გამოცდა

ჩატარებულია ცდები სამხრეთამერიკული მენაღმე ჩრჩილის მიმართ ეპნ-ის ეფექტურობის დასადგენად პომიდვრის სათბურში, სადაც მავნებლის მიერ მცენარეების დაზიანება 50-80% უტოლდებოდა (სოფ. მისაქციელი). საცდელი საშუალებებით სათბურის დამუშავებიდან 5 დღის შემდეგ, მიღებულია ბიოლოგიური ეფექტურობის

მაჩვენებლები: პროკლეიმი - 71.8-91.2%; ვერტამექტინ ფორტე WG - 72.5-82.7%; *Geo-nema* - 53.2–54.1%; აქტარა (ეტალონი) - 91.1-97.8% (სურ. 41,42).



სურ.41. *Tuta absoluta*-ს მიმართ გამოცდილი პრეპარატების შედარებითი ეფექტურობა



სურ. 42. სათბურის მავნებლების კომპლექსის მიმართ *S. feltiae*-ს ბიოლოგიური ეფექტურობა

4.8. ბიოპესტიციდის კომერციული პოტენციალის შესწავლა - ბიოფორმულაცია და ნემატოდური ბიოპესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიების შემუშავება

ჩატარებული კვლევების საფუძველზე განხორციელდა ადგილობრივი და საერთაშორისო პროექტები, რამაც კვლევის გაფართოების შესაძლებლობა მოგვცა,. დადგენილია ეპნ-ის მოქმედების მექანიზმი საქართველოს აგროცენოზებში გავრცელებული უმთავრესი მავნებლების მიმართ და გამოყოფილია ეპნ-ის ადგილობრივი პათოგენური შტამები.

მიღებული შედეგების საფუძველზე შეიქმნა ეპნ-ის ქართული შტამების ბიოფორმულაცია, შემუშავდა ნემატოდური ბიოპესტიციდი.

ბიოფორმულაცია *Geo-nema*–ს საბოლოო პროდუქტის საწყისი შტამები გაგზავნილია გერმანიის ნემატოდური ბიოპესტიციდების მწარმოებელ კომპანიაში შტამების დეპონირებისათვის, ნემატოდური ბიოფორმულაციის სარეგისტრაციოდ შეიქმნა მასალის უსაფრთხოების მონაცემთა ფურცელი (MSDS ფორმა) (დანართი 1).

Geo-nema, როგორც ეკოლოგიურად უსაფრთხო ბიოპესტიციდის სამომავლო პროდუქტი და მისი უპირატესობები, წარდგენილია ინოვაციური ტექნოლოგიების გამოფენაზე (თბილისი, საქართველო) (დანართი 2).

ზოგადად დისერტაციის შედეგები აპრობირებულია სხვადასხვა ადგილობრივ და საერთაშორისო ფორუმზე:

- IOBC/WPRS ევროპის მე-11 შეხვედრა, საფრანგეთი (**2007**);
- მე-40 სიმპოზიუმი ენტომოპათოგენურ ნემატოლოგიაში, აშშ (**2008**);
- IOBC/WPRS ევროპის მე-12 შეხვედრა, ესპანეთი (**2009**);
- IOBC/EPS კონფერენცია „ინვაზიური ორგანიზმების ბიოლოგიური კონტროლი“ , სერბეთი (**2009**);
- საერთაშორისო კონფერენცია და გამოფენა „ბათუმი-გაზაფხული“, საქართველო (**2010**);
- SIP 43-ე ყოველწლიური შეხვედრა, თურქეთი (**2010**);

- საერთაშორისო კონფერენცია „საქართველოს მაღალმთიანი ნიადაგების მრავალფეროვნება“, საქართველო (**2010**);
- SIP 45-ე საერთაშორისო ყოველწლიური შეხვედრა, არგენტინა (**2012);**
- საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენცია, „ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა“ , საქართველო (**2012**);
- FAO-ს სემინარი „მავნებლების ინტეგრირებული მართვის მეთოდების განვითარება ამერიკული თეთრი პეპელას კონტროლისათვის საქართველოში“, (**2012**);
- საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენცია „მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვა და თანამედროვე მიღწევები“ თბილისი, საქართველო (**2012**);
- საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენცია „ინოვაციური ტექნოლოგიები და თანამედროვე მასალები“, ქუთაისი, საქართველო (**2013**);
- საერთაშორისო სამეცნიერო-პრაქტიკული კონფერენცია „ინოვაციური ტექნოლოგიები აგრარული სექტორის მდგრადი და უსაფრთხო განვითარებისათვის“, თბილისი, საქართველო (**2013**);
- IOBC/WPRS ევროპის მე-14 შეხვედრა „მწერების პათოგენები და ენტომოპარაზიტული ნემატოდები“, ხორვატია, (**2013) – (**დანართი 3);
- მე-4 საერთაშორისო სიმპოზიუმი - ენტომოპათოგენები და მიკრობიოლოგიური კონტროლი, თურქეთი (**2013**);
- IOBC/EPRS მცენარეთა დაცვა აგრობიზნესის ეკოლოგიური მდგრადობისათვის, ყაზახეთი (**2014**);
- უხერხემლოთა პათოლოგიების საზოგადოების ყოველწლიური შეხვედრა, მაინცი, გერმანია, (**2014**) – (დანართი 4);
- IOBC/WPRS მცენარეთა დაცვის მე-7 კონგრესი, სერბეთი (**2014**);
- ბიოპესტიციდების მე-7 საერთაშორისო კონფერენცია, ანტალია, თურქეთი (**2014**) –(დანართი 5);
- IOBC/WPRS მე-15 შეხვედრა „ ბიოკონტროლის ახალი გამოწვევები“ რიგა, ლატვია (**2015) - (**დანართი 6);

- მეცნიერებისა და ტექნოლოგიის ინტეგრაცია მდგრადი განვითარებისათვის,მე-3 საერთაშორისო კონფერენცია, ტაილანდი (**2015**);
- მე-3 საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენცია „დიალოგები მეცნიერებაზე“ ერევანი, სომხეთი (**2015) – (**დანართი 7);
- SIP 48-ე უხერხემლოთა პათოლოგიების და მიკრობიოლოგიური კონტროლის ყოველწლიური შეხვედრა, კანადა (**2015**);
- ენტომოპათოგენებისა და მიკრობიოლოგიური კონტროლის მე-5 საერთაშორისო კონგრესი, თურქეთი (**2015**) – (დანართი 8);
- EPPO-ს შეხვედრა „ბიოლოგიური კონტროლის მეთოდები“, უნგრეთი (**2015**).
- საერთაშორისო სამეცნიერო კონფერენცია „ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქტების წარმოების თანამედროვე ტექნოლოგიები სოფლის მეურნეობის მდგრადი განვითარებისათვის“ თბილისი, საქართველო (**2016**);
- IOBC/WPRS მე-16 შეხვედრა „ უხერხემლო მავნებლების მიკრობიოლოგიური და ნემატოდური კონტროლი“, თბილისი, საქართველო (**2017**).

საბოლოო პროდუქტის პოპულარიზაციისა და ხელშეწყობისათვის ჩატარებულია შეხვედრები ბიოპესტიციდის პოტენციურ მომხმარებლებთან და ინვესტორებთან. გაცნობილია სათანადო რეკომენდაციები *Geo-nema*-ს გამოყენებისათვის მცენარეთა დაცვაში. დამზადებულია სარეკლამო ვიდეორგოლი და ფლაერები ბიოფორმულაციის პოპულარიზაციისათვის.

5. შედეგების ინტერპრეტაცია

საქართველოში მდგრადი სოფლის მეურნეობის განვითარებისათვის განსაკუთრებული ადგილი უკავია მცენარეთა მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებულ მართვას (IPM), რომლის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი კომპონენტია მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვა. დღეისათვის ბიოლოგიური კონტროლი, როგორც ადამიანისა და გარემოსათვის უსაფრთხო მიმართულება - მავნე ორგანიზმების მართვის ახალი ტექნოლოგია, მნიშვნელოვან ადგილს იკავებს სურსათის უვნებლობის სტრატეგიაში.

ბიოკონტროლის აგენტების, როგორც მავნე ორგანიზმების რიცხოვნობის მარეგულირებელი, ცოცხალი ორგანიზმების წარმოებასა და გამოყენებაში, მნიშვნელოვანი როლი ენიჭება ადგილობრივი საშუალებების ძიებას. ნაშრომში წარმოდგენილია საქართველოს აგროცენოზში გამოვლენილი ეპნ-ის ადგილობრივი შტამი, წოდებული *Steinernema feltiae*-ს იდენტიფიცირებული „ქართული შტამი“ (აშშ), მისი ფორმულაცია - *Geo-nema.* ამით გამდიდრებულია მავნე მწერებთან ბიოლოგიური ბრძოლისათვის უსაფრთხო საშუალებების არსენალი.

ჩატარებული კვლევები წარმოადგენს მე-20 საუკუნის 60-იანი წლებიდან საქართველოს მეცნიერებათა აკადემიის ზოოლოგიის ინსტიტუტის და 2002 წლიდან ლ. ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის სამეცნიერო-კვლევითი ინსტიტუტის თანამშრომელთა მიერ საქართველოში მწერების პათოგენური ნემატოდების ძიების, შესწავლისა და ეპნ-ის ინტროდუცირებული შტამების ეფექტურობის ამაღლებისათვის განხორციელებული გამოკვლევების გაგრძელებას.

მავნე მწერების წინააღმდეგ ენტომოპათოგენური ნემატოდების, როგორც ბიოლოგიური კონტროლის აგენტების გამოყენება ერთ-ერთი ეფექტური და უსაფრთხო მიდგომაა IPM-ის სისტემაში. დღეისათვის მსოფლიოს მრავალ ქვეყანაში მიმდინარეობს ნემატოდური პრეპარატების წარმოება და ფართოდ გამოყენება მავნე მწერების მიმართ.

განხორციელებულია მთავარი მიზანი - მოძიებულია ადგილობრივი ეპნ, რომელიც წარმოადგენს კომერციული სახეობის ალტერნატივას. ექსპერიმენტების

საფუძველზე დადგენილია ადგილობრივი *S. feltiae*-ს ეფექტურობა მავნე მწერების კონტროლისათვის. შესწავლილია სხვა პესტიციდებთან ერთად ადგილობრივი შტამების კომბინირებული მოქმედება.

კვლევების ფარგლებში მოძიებული *S. feltiae*-ს შტამების საფუძველზე შექმნილია ბიოფორმულაცია და რეგისტრირებულია ბიოპესტიციდი - *Geo-nema,* (სარეგისტრაციო მოწმობის N 2110), რომლის საბოლოო ეფექტურობა დადგენილია შამპინიონის სათბურებში კოღონების მატლების წინააღმდეგ (94 %), რაც საშუალებას გვაძლევს, აღნიშნული თემა განიხილებოდეს, როგორც წარმატებული და თანამედროვე მიდგომა, სოფლის მეურნეობის მიმართ გლობალური მოთხოვნებისა და გამოწვევების ფონზე.

უნდა აღინიშნოს, რომ ჩვენ მიერ ჩატარებული კვლევები არ ითვალისწინებდა ტემპერატურული პირობების გავლენის შესწავლას ეპნ-ის რეპროდუქციაზე, ეპნ-ის ჯვარედინი ჰიბრიდიზაციის შესწავლას და მავნე მწერების გარდა სხვა ორგანიზმებზე ეპნ-ის მოქმედების დადგენას.

სადისერტაციო კვლევებში არ არის შეტანილი ეპნ-ის მოძიებული შტამების შენახვის გასახანგრძლივებელი ცდები და ეპნ-ის გარემოში გამოყენების სხვადასხვა მეთოდი.

ეპნ-ის ძიებისათვის ვერ გამოვიკვლიეთ საქართველოს ყველა აგროცენოზი და ნიადაგი და შესაბამისად, სრულად ვერ დავადგინეთ საქართველოს ნიადაგების თვისობრივი გავლენა ეპნ-ის ცხოველმყოფელობაზე.

ექსპერიმენტული ცდების მსვლელობისას პერიოდულად ადგილი ჰქონდა საცდელი მწერების დაინფიცირებას ნიადაგიდან პათოგენური სოკოებისა და ბაქტერიების მეშვეობით, რას აძნელებდა ეპნ-ის იზოლირებას. ეპნ-ის ახალი თაობის მიღება ზოგ შემთხვევაში გაძნელდა ინვაზირებული მატლების ჭარბტენიან გარემოში მოთავსებით. წყალხსნარის სახით შენახული შტამები განიცდიდა სხვა პათოგენური ბაქტერიების ზემოქმედებას.

ზემოთ ჩამოთვლილი შემთხვევები გარკვეულწილად აფერხებდა ექსპერიმენტების წარმატებას, თუმცა, დიდი ზეგავლენა არ მოუხდენია სადისერტაციო თემით გათვალისწინებული საკითხების შესრულებაში.

6. დასკვნა და რეკომენდაციები

საქართველოს აგროცენოზების ნიადაგების გამოკვლევების შედეგად გამოვლენილია ეპნ-ის ადგილობრივი შტამები *Steinernema*-ს გვარიდან. ნემატოდები კულტივირებულია საცდელ მწერებზე ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტის, ბიოკონტროლის ლაბორატორიაში, სადაც დადგინდა მათი მაღალვირულენტურობა - პატრონ მწერის სწრაფად მოძიების უნარი (>24 სთ) და დაინვაზირების მაღალი კოეფიციენტი (98< %).

კულტივირებული *Steinernema feltiae*-ს შტამები იდენტიფიცირებულია (არიზონას უნივერსიტეტი, აშშ), ბიომასა მიღებულია მათი *in vivo* და *in vitro* რეპროდუქციით (ისრაელი, საქართველო). გამოირკვა, რომ ეპნ, გამრავლებული *in vivo* მეთოდით, დიდხანს ინარჩუნებს ვირულენტობასა და არახელსაყრელი პირობების მიმართ მდგრადობას. ეპნ-ის თაობები მიღებული *in vitro* გზით, ხასიათდება გარემო პირობების მიმართ ცვალებადობით. მიუხედავად ამისა, მასობრივი გამრავლებისას მაღალი გამოსავლიანობისათვის, რეკომენდირებულია ეპნ-ის *in vitro* რეპროდუქცია.

შესწავლილია - სტრეს-ფაქტორების მიმართ ეპნ-ის ტოლერანტობა და პათოგენურობის უნარის გენეტიკურად გაუმჯობესების გზები; გამოყვანილია ეპნ-ის აქტიური და გამძლე შტამები, გენეტიკური სელექციისა და ბუნებრივი გადარჩევის გზით (ისრაელი). ეპნ-ის სწრაფი გამოშრობისადმი ტოლერანტობა მე-10 შესარჩევი ციკლის შემდეგ იზრდება და აღწევს 80-90%. მომდევნო ხუთი სელექციური ციკლის შემდეგ მისი სიცოცხლისუნარიანობა მაღლდება 10%-ით.

კვლევების ფარგლებში მოძიებული *S. feltiae*-ს შტამების საფუძველზე შექმნილია ბიოფორმულაცია და რეგისტრირებულია ბიოპესტიციდი - *Geo-nema*, (სარეგისტრაციო მოწმობის N. 2110), რომლის საბოლოო ეფექტურობა დადგენილია შამპინიონის სათბურებში კოღონების მატლების წინააღმდეგ (94 %).

დადგენილია სასოფლო-სამეურნეო კულტურების უმთავრესი მავნე მწერების მიმართ ეპნ-ის ქართული შტამების მოქმედება, შემუშავებულია ადგილობრივი ეპნ-ის გამოყენების საფუძვლები უმთავრესი მავნე მწერების ბიოლოგიური კონტროლისათვის.

ეპნ განიხილება, როგორც ადამიანისა და გარემოსათვის უსაფრთხო საშუალება. თავის მხრივ, ნემატოდური კონტროლს მნიშვნელოვანი ადგილი მიეკუთვნება მავნე ორგანიზმების ინტეგრირებული მართვის (IPM) სისტემაში. განსაზღვრულ აგროცენოზში (ვაზი, ხეხილის ბაღი, სოკოს სათბური და სხვ.) გამოვლენილი ეპნ განიხილება, როგორც პერსპექტული ბიოლოგიური აგენტი მავნებლების რიცხოვნობის ცვალებადობაში.

ჩატარებული კვლევების შედეგად დადგენილია, რომ საქართველოს ნიადაგები მდიდარია სასარგებლო ნემატოფაუნით. ადგილობრივი შტამები ხასიათდება მაღალვირულენტური და პატრონ მწერების სწრაფი მოძიების უნარით. რეკომენდირებულია კვლევის გაგრძელება ნემატოდების ახალი შტამების ძიებისათვის, საფუძველი უნდა ჩაეყაროს ბიოპრეპარატების ადგილობრივ წარმოებას.

7. ბიბლიოგრაფია

გორგაძე ო. 1991. გვარ *Steinernema*-ს ენტომოპათოგენები და მათი გამოყენება მცენარეების მავნებელ ქერცლფრთიანების წინააღმდეგ. ავტ.დის.ბიოლ.მეც.კანდ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 34 გვ.

კაკულია გ. 1965. ბორჯომ-ბაკურიანის ხეობაში გავრცელებული წიწვიანი ჯიშების ხე-მცენარეების ქერქიჭამიების ნემატოდების ეკოლოგიურ-ფაუნისტური დახასიათება. ᲝᲡᲣ, თბილისი, 167 გვ.

კახაძე მ., სხირტლაძე რ., მათიაშვილი მ., რიჟამაძე ი. 2011. ენტომოპარაზიტული ნემატოდა ყურძნიის ჭიის პოპულაციაში. საერთაშორისო პერიოდული სამეცნიერო ჟურნალი „ინტელექტი", თბილისი, 3 (41), გვ. 9-11.

ლორთქიფანიძე მ. 2006. ენტომოპათოგენური ნემატოდები და მათი გამოყენება ბიოკონტროლისათვის საქართველოს პირობებში. ავტ. დის. ბიოლ. მეც. კანდ. ხარისხის მოსაპოვებლად, თბილისი, 31 გვ.

მიქაია ნ. 2009. ზოგიერთი ულვაშფირფიტოვანი ხოჭოს ნემატოფაუნა საქართველოში. გამ. „საქართველოს მაცნე“, თბილისი, 179 გვ.

მიქაია ნ., სხირტლაძე რ., რიჟამაძე ი. 2007. სათბურის ფრთათეთრას მიმართ ენტომოპათოგენური ნემატოდას და პარაზიტიოდი ენკარზიას ერთობლივი მოქმედების შესწავლა. საქ. სოფ. მეურ. მეცნ. აკად. მოამბე, თბილისი, 21, გვ. 111-114.

საბაშვილი მ. 1965. საქართველოს სსრ ნიადაგური დარაიონების სქემა. გამომც. „მეცნიერება“, თბილისი, 399 გვ.

“საქართველოს გეოლოგიური რუკა“, რედაქტორი - ე. გამყრელიძე. ავტორი –გ.გუჯაბიძე, თბილისი, 2003. წ.,მასშტაბი 1:500 000

„საქართველოს ნიადაგების რუკა „ რედაქტორი – თ.ურუშაძე – 1999. წ.,მასშტაბი 1:500 000

სხირტლაძე რ., რიჟამაძე ი., **ჩუბინიშვილი მ.** 2013. დეკორატიული კულტურების დაცვა სათბურის ფრთათეთრასაგან. ბათუმის ბოტანიკური ბაღის დაარსებიდან 100 წლისთავისადმი მიძღვნილი საიუბილეო საერთ. სამ. –პრაქტ. კონფ. მასალები, ნაწ. II, ბათუმი, გვ. 227–231.

სხირტლაძე რ., რიჟამაძე ი., **ჩუბინიშვილი მ.** 2013. სათბურის ფრთათეთრა,*Trialeurodes vaporariorum*და პარაზიტოიდი ენკარზია, *Enkarzia formosa* საქართველოში. კრ. - "ინოვაციური ტექნოლოგიები აგრარული სექტორის მდგრადი და უსაფრთხო განვითარებისათვის". საერთ. სამ.-პრაქ. კონფ., საქ. სოფ. მეურ. მეც. აკად., თბილისი, საქართველო, გვ. 201-203.

ყურაშვილი ბ., კაკულია გ., დევდარიანი ც. 1980. ქერქიჭამიების პარაზიტული ნემატოდები საქართველოში. გამ. „მეცნიერება“, თბილისი, 169 გვ.

ჩუბინიშვილი მ. 2009. ნიადაგში ბინადარი მავნებლების მიმართ ენრომოპათოგენური ნემატოდების ეფექტურობის დადგენა ქვიშის კოლბების გამოყენებით. ლ. ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტი, მცენარეთა დაცვის პრობლემები, სამეცნიერო შრომათა კრებული, თბილისი, XXXIX, გვ.253–259.

ჩუბინიშვილი მ., მალანია ი., ჩხუბიანიშვილი ც. 2010. ენტომოპარაზიტული ნემატოდის– *Steinernema feltiae* გამოყენება ამერიკული თეთრი პეპელას – *Hyphantria cunea* Drury მიმართ. საერთ. სამ. ჟურნ. „ინტელექტი“, თბილისი, 1(36), გვ. 78-80.

ჩუბინიშვილი მ., ჩხუბიანიშვილი ც., მალანია ი., ნინუა ლ. 2011. ენტომოპარაზიტული ნემატოდების ძიება აღმოსავლეთ საქართველოს ვენახებში. საერთ. სამ. ჟურნ. „ინტელექტი“, თბილისი, 3(41), გვ.12–14.

ჩუბინიშვილიმ., ჩხუბიანიშვილი ც., მალანია ი., კახაძე მ., სხირტლაძე რ., რიჟამაძე ი., მათიაშვილი მ., ნინუა ლ. 2012. გარემოსათვის უსაფრთხო საშუალებების ძიება მავნებლებისაგან ვენახის დაცვისათვის. აკ.წერეთლის სახ. უნი-ტი, საერთ. სამ.-პრაქ. კონფ., „ინოვაციური ტექნოლოგიები და გარემოს დაცვა“, შრომების კრებული, ქუთაისი, გვ. 210–212.

ჩუბინიშვილი მ., ჩხუბიანიშვილი ც., სხირტლაძე რ., მალანია ი., კახაძე მ., რიჟამაძე ი. 2013. ეკოლოგიურად უსაფრთხო საშუალებების ძიება სათბურის მავნებლების მიმართ დახურული გრუნტის პირობებში. აკ. წერეთლის სახ. უნი-ტის 80 წლის იუბილესადმი მიძღვნილი საერთ. სამ.-პრაქ. კონფ. შრომების კრებული „ინოვაციური ტექნოლოგიები და თანამედროვე მასალები“, ქუთაისი, საქართველო, გვ. 255–256.

ჩუბინიშვილი მ., ჩხუბინიშვილი ც., კახაძე მ., მალანია ი., რიჟამაძე ი. 2013. მავნე მწერებისაგან მცენარეთა ბიოლოგიური დაცვისათვის ენტომოპარაზიტული ნემატოდების ძიების ინოვაციური ტექნოლოგია. კრებული - "ინოვაციური ტექნოლოგიები აგრარული სექტორის

მდგრადი და უსაფრთხო განვითარებისათვის". საერთ. სამ.-პრაქ. კონფ., საქ. სოფ. მეურ. მეც. აკად., თბილისი, საქართველო, გვ. 218-221.

ჩხუბიანიშვილი ც., მიქაია ნ., კახაძე მ. 2006. ენტომოპარაზიტული ნემატოდას და მიკოპესტიციდის ერთობლივი მოქმედების ეფექტურობა სათბურის ფრთათეთრას მიმართ. საქ.სოფ. მეურ. მეცნ. აკად. მოამბე, თბილისი,16, გვ. 78-81.

ჩხუბიანიშვილი ც., მალანია ი., კახაძე მ., მიქაია ნ. 2007. მიკრობიოლოგიური საშუალებებისა და ენტომოპათოგენური ნემატოდას ერთობლივი მოქმედების შესწავლა ამერიკული თეთრი პეპელას მიმართ. „მეცნიერება და ტექნოლოგიები“, საქ. მეც. ეროვ. აკად. ყოველთვიური სამ.-რეფერ. ჟურნ., თბილისი, N 1-3, გვ. 81-85.

ჩხუბიანიშვილი ც., მალანია ი., კახაძე მ., მათიაშვილი მ., ლეონიძე ნ., **ჩუბინიშვილი მ.** 2011. ამერიკულ თეთრ პეპელასთან ბიოლოგიური ბრძოლა. აიპ საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი, ლ. ყანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტი, თბილისი, 12 გვ.

ჯავახიშვილი შ. 1978. "საქართველოს კლიმატოგრაფია", თბილისი, 34 გვ.

Веремчук Г.В. 1963. Некоторые результаты выращивания нематод *Neoaplectan*a sp. на питательных средах. Геьминиты человека, животных и растений и борьба с ними. К 85-летию К.И.Скрябина, АН СССР, ст. 198-209.

Веремчук Г.В. 1964. К систематическому положению сем. *Steinernema tidae* Chitwoodet Chit wood. Матер. науч.конф. Всесоюзного об-ва гельминтологов АН СССР, 1, ст. 55-67.

Какулия Г. А. 1989. Паразты насекомых и биологический метод борьбы. Изд. „Мецниереба“, АН Грузии, Тбилиси, 210 с. .

Кирьянова Г.С., Пучкова Л.В. 1955. Новый паразит свекловичного долгоносика – *Neoaplectana bothynoderi* Kirianova et Putchkova sp.nov.(*Nematodes*). Труды. Зоол. Ин-та АН СССР, т. XVII, ст. 53-62.

Положенцев П.А. 1950. Вопросы энтомологической гельминтологии в работах русских исследователей . Труды гельминтологической лаборатории АН СССР, т. Ш, ст. 221-231.

Скрябин К. И. 1946. Стройтельство Советской гельминтологий. Изд. АН СССР, 212 с.

Филипьев И. Н. 1934. Нематоды полезные и вредители в сельском хозяйстве. М-Л, 440 с.

Чхубианишвили Ц., Маланиа И., Кахадзе М., Схиртладзе Р., Микаиа Н., Рижамадзе И., 2011. Малая тутовая огновка *Glyphodes pyloalis*Walker - новый вредитель, встречающийся в городах Грузии. Интегрированная защита растений: стратегия и тактика, Мат. межд. научно-практ. конф. посвященной 40–летию со дня огранизаци РУП «Институт защиты растений» Минск, Беларусь, ст.142-145.

Abbot W.S. 1925. Method of computing the effectevenness of an insecticide. J. Econ. Entomology, pp. 265-276.

Alston D. G., Rangel D. E., Lacey L. A., Golez H. G., Kim J. J., Roberts D.W. 2005. Evaluation of novel fungus and nematode isolates for control of *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae) larvae. Biol. Control, 35, pp. 163–171.

Anbesse S., Sumaya N.H., Dörfler A.V., Strauch O., Ehlers R.-U., 2013. Selective breeding for desiccation tolerance in liquid culture provides genetically stable inbred lines of the entomopathogenic nematode Heterorhabditis bacteriophora. Appl. Microbiol. Biotechnol., 97, pp. 731–739.

Arthurs S. P., Lacey L. A. 2004. Field evaluation of commercial formulations of the codling moth granulovirus (CpGV): Persistence of activity and success of seasonal applications against natural infestations in the Pacific Northwest. Biol. Control, 31, pp. 388-397**.**

Atwa A.A., Esmat M. Hegazi, Wedad E. Khafagi, Gehan M. Abd El-Aziz. 2013.Interaction of the Koinobiont parasitoid *Microplitis rufiventris* of the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*, with two entomopathogenic Rhabditids, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae.* J. of Insect Science,13, (84), pp. 1-14.

Bedding R.A. 1981. Large scale production, storage and transport of the insect-parasitic nematodes *Neoaplectana* spp. and *Heterorhaabditis* spp. In: Annals of Applied Biology, 104, pp. 117-120.

Bedding R.A., Stanfield M.A., Cromton G. 1991. Apparatus and method for rearing nematodes, fungi, tissue cultures and the like, and for harvesting nematodes. Internacional Patent Pablication WO 91/15569

Burnell A. 2002. Genetics and genetic improvement. In: R. Gaugler (Ed.), Entomopathogenic Nematology*,* Oxon, UK: CAB Publishing, pp. 241–263.

Brusselman E., Beck B., Pollet S., Temmerman F., Spanoghe P., Moens M., Nuyttens D. 2012. Effect of the spray application technique on the deposition of entomopathogenic nematodes in vegetables. Pest Manage. Sci. 68, pp.444–453.

Byrd D. W., Barker K. R., Ferris H., Nusbaum C.J., Griffin W.E., Small R.H., Stone C. A. 1976. Two semiautomatic elutratiors for extracting nematodes and certain fungi from soil. J. of Nematol., 8, pp.206-212.

Campbell J. F., Lewis E. E., Stock S. P., Nadler S., Kaya H. K. 2003. Evolution of host search strategies in entomopathogenic nematodes (*Nematoda; Shteinernemae*). J. of Nematol., , 35, pp. 142-145.

Capinera J. L., Pelissier D., Menout G.S., Epsky N.D.1988. Control of slack cutworm, *Agrostis ipsilon (*Lepdoptera: Noctuidae) with entomogenous nematodes (Nematoda: Steinernematidae, heterorhabditidae). J. of Invert. Pathology, 52, pp. 427-435.

Chambers F.M., Beilman D.W., Yu Z. Methods for determining peat humification and for quantifying peat bulk density, organic matter and carbon content for palaeostudies of climate and peatland carbon dynamics. Mires and Peat, Volume 7 (2010/11), Article 07, pp. 1–10.

Chkhubianishvili Ts., Glazer I., Mikaia N., Kakhadze M. 2008. Prospects of insect parasite nematodes research development in Georgia. Georg. Nat. Acad. Sci., Bull., Tbilisi, v. II, no.1, pp. 98-101.

Chkhubianishvili C., Malania I., Kakhadze M. 2007. Susceptibility of entomopathogenic nematodes to the fall webworm *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae). Bull.Georg.Nat. Acad. Sci. Tbilisi, vol.175, 2, pp.112-114.

Chkhubianishvili C., MalaniaI., Kakhadze M., Mikaia N. 2008. Biological control of the fall webworm, *Hyphantriacunea* (Lepidoptera: Arctiidae*)* using a complex of entomopathogenic agents in Georgia. 41th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology and 9th Int.Conf. on *Bacillus thuringiensis*, University of Warwick, Coventry UK, p.93.

Chkhubianishvili Ts., **Chubinishvili M.,** Davitashvili M. 2010. Soil as an inhabitation of biological agents for pestcontrol. Int. Conf., High Mountain Soil Biodiversity, Tbilisi, pp. 2-3.

Chkhubianishvili Ts., Malania I., Kakhadze M., **Chubinishvili M.,** Gninenko Y. 2013. Viruses and pheromone traps to control of the fall webworm. In: Recent Developments in Research and Application of Viruses in Forest Health Protection. Beijing, Chine, pp. 131-137.

Chkhubianishvili Ts., Kakhadze M., Malania I., **Chubinishvili M.,** Skhirtladze R., Rizhmadze I. 2014. The local entomopathogenic nematodes searching at different agrocenosis of Georgia. "Plant protection for ecological sustainability of agrobiocenoses", Inf. Bull., N 46, IOBC/EPRS, Almaty, Kazakhstan, pp. 31-33.

Chkhubianishvili Ts., Kakhadze M., Malania I., **Chubinishvili M.,** Skhirtladze R., Rizhmadze I. 2015. Basis for development biotechnology of plant protection means in Georgia. Int. Jour. of Agricultural Technology, Vol. 11(2) Champasek, Thailand, pp. 275-286.

Chubinishvili M., Salame L., Chkhubianishvili C., Glazer I. 2007. Genetic improvement of beneficial traits mixed population of *Steinernema feltiae* for enhancement of persistence and efficacy. IOBC/WPTS "Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes", France, p. 36.

Chubinishvili M., Chkhubianishvili Ts., Kakhadze M., Malania I., Skhirtladze R., Rizhamadze I. 2014. Elaboration of new biopesticide *Geo-nema* on local entomopathogenic nematode basis in Georgia. Int. Conf. on Biopesticides 7, "Biopesticides: Shaping Human Health and Global Agriculture", ICOB 7, Antalya/Turkey, p.154.

Chubinishvili M., Chkubianishvili Ts., Kakhadze M., Malania I., Skhirttladze R., Rizhamadze I. 2015. Development of novel bioformulations for sustainable protection of strategic crops in Georgia. 5th Entomopathogens and Microbial Control Congress. Programme and Abstract book, Ankara, Turkey, p.73.

Chubinishvili M., Chkubianishvili Ts., Kakhadze M., Malania I., Skhirttladze R., Rizhamadze I. 2015. A new way for number regulation of South American tomato moth, *Tuta absoluta* in Georgia. Cong. on

Invertebrate Pathology and Microbial Control and the 48 the Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, Programme and Abstracts, Vancouver, Canada, p.94.

Chubinishvili M., Skhirttladze R., Kakhadze M., Chkubianishvili Ts., Malania I., Rizhamadze I. 2015. Development of vegetable crops complex protection from *Tutaabsoluta* in greenhouse conditions. New Challenges for Biological Control, 15th Meeting of the IOBC-WPRS Working Group "Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pests", Programme and Abstract book, Riga, Latvia, p.53.

Chubinishvili M. 2015. The study of bioformulation *Geo-nema* susceptibility to greenhouse pests. 3rd Int. Sci. Conf. on "Dialogues on Science", Book of Abstracts, Erevan, Armenia, p.93.

Chubinishvili M., Kakhadze M., Chkhubianishvili C., Malania I., Skhirtladze R., Rizhamadze I., Butirin M. 2017. Entomopathogenic nematodes to control *Sciarid* flies in mushroom-cropping systems of Georgia. "Microbial and Nematode Control of Invertebrate Pest", IOBC/WPRS Bull., Vol., 129, Tbilisi, Georgia, pp.104 -105.

Cossentine J. E., Jenswn L. B., Moyls L. 2002. Fruit bins washed with *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) to control *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). J. Biocontrol Science and Technology, 12(2): pp. 251-258.

Coweles K.N., Goodrich-Blair H. 2005. Expresion and activity of a *Xenorhabdus nematophila* haecmolysin required for full virulence towards *Manduca sextra* insects. Cell Microbial 7, pp. 209-219.

Crowe J.H., Madin K. C.1975. Anhidrobiosis in nematodes: evaporative water loss and survival. J. Exp. Biol., 193, pp. 323-334.

Curran J. 1992. Influence of application method and pest population size on the field efficacy of entomopathogenic nematodes. In: Journal of Nematology, 24, pp. 631-636.

Dolinski, C. and L. A. Lacey. 2007. Microbial control of arthropod pests of tropical tree fruit. Neotropic. Entomol., 36, pp.161-179.

Ebssa L., Koppenhöfer A.M. 2011. Efficacy and persistence of entomopathogenic nematodes for black cutworm control in turfgrass. Biocontrol Sci. Technol., 21, pp.779-796.

Ehlers R. U. 2001. Mass production of entomopathogenic neamtodes for plant protection. In: Applied Microbiology and Biotechnology, 56, pp. 623-633.

Franz J.M. 1968. ZurBerchung des Wirkunsradeseiner Microbiologischen Bekamofung von Schadinskten. Azn.Schadlingkunde, 41, 5, pp. 65-71.

Fuchs G. 1937. Neueparasitische und Halbparasitische Nematoden bei Borkenkäfer und Einigeandere Nematoden. Zool. Jahrb, 70, pp .291-380.

Gaugler R., McGuire T., Campbell J. 1989. Genetic variability among strains of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. J. of Nematology, 21, pp. 247–253.

Gaugler *et al.,* 1989b

Gaugler R., Kaya H. K. 1990. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press, Boca Raton, Florida, 365 p.

Gaugler R., Georgis R. 1991. Culture method and effecacy of entomopathogenic nematodes (*Rhabdita: Steinernematodae* and *Heterorhabditidae*). Biological Control, 1, pp. 269-274.

Georgis R., Koppenhöfer A. M., Lacey L. A., Be´lair G., Duncan L. W., Grewal P. S., Samish M., Tan L., Torr P., van Tol R. W. H. M. 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. Biological Control, 38, pp.103–123.

Glaser R.W. 1932. Studies of *Neoaplectana glaseri*, a nematode parasite of the Japanese beetle (*Popilla japonica).* New Jersey Dept. Agr, Bur. Plant Ind. Girc., 211, 34 p.

Glaser R.W., Mc'Coy E. E., Girth H. B. 1940. The biology and economic importance of nematode parasitic in insects. J. Parasitology, v. 26, pp. 479- 495.

Glazer I., Lewis E. E. 1998. Bioassays for entomopathogenic nematodes. In: A. Navon (Ed.), Bioassays for entomopathogens and nematodes. Wallingford, UK: CABI Publishing. pp. 274–293.

Glazer I., Lewis E.E. 2000. Bioassays for entomopathogenic nematodes. In: Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes. CABI International Publishing, pp. 229-247.

Glazer I. 2002. Survival biology. In: Gaugler R. (ed) Entomopathogenic Nematology. CABI International, Wallingford, UK. pp. 169-187.

Goodrich-Blair H., Clarke D. J. 2007. Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: Two roads to the same destination. Molecular Microbiology, 64, pp.260–268.

Grewel P. S., Richardson P. N. 1993. Effers of application rates of *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae) on biological control of the mushroom fly *Lycoriella auripita* (Diptera: Sciaridae). Biocontrol Science and Technology, 3, pp. 29-40.

Grewel P.S., Georgis R. 1998. Entomopatogenic nematodes. In: Hall F.R., Menn J. (eds) Methods in Biotechnology, Biopesticides: Use and Delivery. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey, pp. 271-299.

Grewal P. S. 2002. Formulation and application technology. In: R. Gaugler (Ed), Entomopathogenic Nematology, Oxon, UK, CABI Publishing, pp. 265–287.

Grewel P.S., McLaughlan J., M., Moore C. A., Hewitt J. E. 2005. Characterisation of the large family of putative glycosyltransferases associated with dystroglycanopathies. Clycobiology, 15, pp. 912-923.

Grewel P.S., Ehlers R.-U., Shapiro-Ilan D. I. (eds) 2005 a. Nematodes as Biological Control Agents. CABI Pablishing, Wallingford, 505 p.

Grewel P.S., Koppenhöfer A.M., Choo H. Y. 2005 b. Lawn turf-grass and pasture applications. In: P.S. Grewel, R-U Ehlers, D.I. Sapiro-Illan (eds). Nematodes as Biological Control Agents, CABI Publishing, Wallingfor, pp.115-146.

Grewel P.S., Ehlers R-U, Sapiro-Illan D.I. 2005 c. Critical Issies and Research Needs for Expanding the Use of Nematodes in Biocontrol. Nematodes as Biological Control Agents, CABI Publishing, Wallingfor, pp. 479-489.

Grewel P.S.,2007

Grunder J.M. (Ed.)2005. Quality Control of Entomopathogenic Nematodes. Cost Action 819. 134 p.

Haukeland S., Lola-Luz T. 2010. Field applications of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Hetererhabditidae) against immature stages of the black vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) on strawberry crops in Irel. Agricultural and Forest Entomology, 25, pp. 133 -143.

Hiltpold I., Hibbard B.E., French, B.W., Turlings T.C.J. 2012. Capsules containing entomopathogenic nematodes as a Trojan horse approach to control the western corn rootworm. Plant Soil, 358, pp. 11–25.

Ilan T., Kim-Shapiro D.B., Bock C.H., Shapiro-Ilan D.I. 2013. The impact of magnetic fields, electric fields and current on the directional movement of *Steinernema carpocapsae*. Int. J. Parasitol., 43, pp.781–784.

Jagdale G.B., Casey M. L., Grewal P.S., Lindquist R.K. 2004. Effects of application rate and timing, potting medium, and host plant on efficacy of *Steinernema feltiae* fungus gnat, *Bradysia corpohila*, in floriculture. Biologigal Control, 29, pp. 296-305.

Jagdale G.B., Grewel P.S. 2007. Storage temperature influences desiccation and ultra violet radiation tolerance of entomopathogenic nematodes. J. of Thermal Biology, 32, pp. 20-274.

Jackson G.J. 1962. The parasitic nematode *Neoaplectana glaseri* in axzenic culture. II initial rezults with defined media. Exp. Parasitol., 25, pp.4-8.

Johnson W., Pearson J.F. 2002. A release composition and method of preparation. Patent No, WO0215703.

Kakhadze M., Mikaia N., Skhirtladze R., Chkhubianishvili Ts. 2010. Efficiency of susceptibility entomopatogenic nematode towards mulberry moth. 43th Annual Meeting of Society for Invertebrate Pathology, Program and Abstracts, Trabzon, Turkey, p.63.

Kakhadze M., Chkhubianishvili Ts., **Chubinishvili M.,** Malania I., Skhirtladze R., Rizhamadze I., Matiasvili M., Ninua L. 2012. Perspectives of entomoparasitic nematode, *Steinernema feltiae* using to control main pest insects of vineyards in Georgia. SIP, 45th Ann. Meet. Int. Cong. Invert. Pathol. and Microbial Control, Buenos Aires, Argentina, p.115.

Kakhadze M., Malania I., Skhirtladze R., Rizhamadze I., **Chubinishvili M.** 2012. Protection of ornamental plants from *Coccids* with new biological means. Int. Sci. Conf. Biological Plant Protection, Problems and Contemporary Achievements, Agricultural University of Georgia, Tbilisi, p. 19.

Kakhadze M., Chkhubianishvili Ts., Malania I., **Chubinishvili M.,** Skhirtladze R., Rizhamadze I., Nazarashvili N. 2015. Perspectives of biological control to the South American tomato moth, *Tuta*

absoluta in Georgia IOBC/EPS, Conf. "Biological Control of Invasive Organisms", Abstracts, Zlatibor, Serbia, pp.161-164.

Kakhadze M., Chkhubianishvili Ts., **Chubinishvili M.,** Skhirtladze R., Malania I., 2016. Rizhamadze I. A new mean for biological control of cabbage white butterfly in Georgia. Klaipeda State University of Applied Sciences, Formation ofUrban Green Areas, Sci.Articles, 1(13), pp.182-185.

Kakouli-Duarte T., Labuschange L., Hague N.G. 1997. Biological controlof the black vine Weevil, *Otiorhynhus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabdita). Ann. of Appl. Biology, 131, pp. 11-27.

Kaya H.K., Joss J.L., Falcon L.A., Berlowilz A. 1984. Superssion of the colding moth (Lepidoptera: Olethreutidae) with the entomogenous nematode, *Steinernema feltiae* (Rhabditida; Steinernematidae). Jour. of Econ. Entomology, 77, pp. 1240-1244.

Kaya H.K., Gaugler R. 1993. Entomopathogenic nematodes. Ann. Review of Entomology, 38, pp. 181-206.

Kaya H., Stock P. 1997. Techniques in insect nematology. In: Lasey L. [Ed.] Manual of Techniques in Insect Pathology, Academic PressLtd, N.Y, pp.303-305.

Kaya H.K. & Vega F.E. 2012. Scope and basic principles of insect pathology. In. F.E. Vega & H. Kaya(Eds.) Insect Pathjology, San Diego: Academic press. pp.1-12.

Klein M. G. 1990. Efficacy against soil-inhabiting insect pests. In: Gaugler R. and Kaya H.K. (eds), Entomopathogenic Nematodesin Biological Control. CRC. Press. Boca Ration, Florida, pp. 195-214.

Kung S. P., Gaugler R., Kaya H. K. 1991. Effevts of soil temperature, moisture and relative humidity on entomopathogenic nematode persistence. J. of Invert. Pathol., 57, pp. 242-249.

Koppenhöfer A. M., Kaya H.K. 1998. Sinergism of imidacloprid and an entomopathogenic nematode: a novel approach to white grub (*Coleoptera: Scarabaedae*) control in turf-grass. J. of Econ. Entomol., 91, pp. 618-623.

Koppenhöfer A. M., Brown I. M., Gaugler R., Grewal P. S., Kaya H. K., Klein M. G. 2000. Sinergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: greenhouse and field evaluation. Biological Control, 19, pp. 245-251.

Koppenhöfer A.M., Fuzy E.M. 2007. Soil moisture effects on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. Appl. Soil Ecol. 35, pp. 128-139.

Koppenhöfer A.M., Fuzy E.M. 2008. Effects of chlorantraniliprole on *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) efficacy against and reproduction in white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). Biol. Control, 45, pp. 93-102.

Lambshead P., John D., Boucher G. 2003. Marine nematode deep-sea biodiversity: Hyperdiverse or hype? J. Biogeography, 30, pp. 475-485.

Lacey L. A., Unruh T.R. 1998. Entomopathogenic nematodes for control of coding moth: effect of nematode species, dosage, temperature and humidity under laboratory and similated field conditions. Biological Control, 13, pp. 190-197.

Lacey L. A., Chauvin R. L. 1999. Entomopathogenic nematodes for control of coding moth in fruit bins. J. of Econ. Entomology, 92, pp. 104-109.

Lacey L. A., Neven H. L. Headrick R., Fritts Jr. 2005. Factors affecting entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) for the control of overwintering codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in fruit bins. J. Econ. Entomol., 98, pp. 1863-1869.

Lacey L. A., Arthurs T.R. Unruh H., Headrick R., Fritts Jr. 2006a. Entomopathogenic nematodes for control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple and pear orchards: effect of nematode species and seasonal temperatures, adjuvants, application equipment and post-application irrigation. Biol. Control, 37, pp. 214–223.

Lacey L. A., Granatstein S. P. Arthurs H., Headrick R., Fritts Jr. 2006b. Use of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae) in conjunction with mulches for control of overwintering codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). J. Entomol. Sci., 41, pp. 107-119.

Lacey L. A**.,** Unruh T. R., Simkins H., Thomsen-Archer K. 2007. Gut bacteria associated with the Pacific coast wireworm, *Limonius canus,* inferred from 16s rDNA sequences and their implications for control. Phytoparasitica, 35, pp. 479-489.

Lacey L. A., Shapiro-Ilan D. I. 2008. Microbial control of insect pests in temperate orchard systems: Potential for Incorporation into IPM. Ann. Rev. Entomol., 53, pp. 121-144.

Lacey L.A., Shapiro-Ilan D.I., Glenn G.M. 2010. Postapplication of anti-desiccant agents improves efficacy of entomopathogenic nematodes in formulated host cadavers or aqueous suspension against diapausing codling moth larvae (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol Science and Technology, 20, pp. 909–921**.**

Lacey L.A., Georgis R. 2010. Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. J. of Nematology, 44, pp.218–225.

Lacey L.A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D.I., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M.S. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. J. of Invert. Pathology, 132, pp.1–41.

Lewis E. E. Clark 2012

Leather S.R. 2005. Insect sampling in forest ecosistems. In: Ecological Methods and Concepts. Oxford, UK, Blacwell Publishing, 320 p.

McCoy C.W., Stuart R.J., Duncan L.W., Nguyen K. 2002. Field afficacy of two commercial preparations of entomopathogenic nematodes against larvae of *Diaprepes abbreviates* (Coleoptera: Curculionidae) in alfisol type soil. Florida Entomologist, 85, pp. 537-544.

Mikaia M., SkhirtladzeR., Rizhamadze I. 2012. Effect of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* on fern scale (*Pinaspis aspidistrae* Sign.). Bull. Georg. Nat. Acad. Sci., Tbilisi, vol. 6, no.1, pp.129-132.

Moshayov A., Koltai H., Glazer, I., 2013. Molecular characterisation of the recovery process in the entomopathogenic nematode Heterorhabditis bacteriophora. Int. J. Parasitol., 43, pp. 843–852.

Nordin, G.L. O'Canna, D. 1985. Developmental threshold temperatures and thermal constants for two types of fall webworm, Hyphantria cunea (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae), occurring in central Kentucky. J. of the Kansas Entomological Society (USA). ISSN: 0022-8567 Vol: 58, Issue: 4, pp. 626-630.

Pedigo L.P., BuntinG.D. 1994. Handbook of Sampling Methods for Arthropods in Agriculture. Boca Raton, FL, CRC Press, 794 p.

Peters A. 2003. Pesticides and entomopathogenoc nematodes – current status and future work. IOBC/WPRS Bull., 26, pp. 107-110.

Polavarapu S., Koppenhöfer A.M., Barry J.D., Holdcraft R.J., Fuzy E.M. 2007. Entomopathogenic nematodes and neonicotinoids for remedial control of oriental beetle, *Anomala orientalis* (Coleoptera: Scarabaeidae) in highbush blueberry. Crop Protection, 26, pp. 1266-1271.

Polaszek A., Van **Tol** J. 2005. A universal register for animal names. Nature, pp. 437- 477.

PuntenerW. 1981. Manual for field trials in plant protection. 2nd edition, Agricultural Division, Ciba-Geigy, Basle, Switzerland, 205 p.

Riga K. L., Lacey A., Guerra N., Headrick H.L. 2006. Control of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta*, using entomopathogenic nematodes in laboratory and bin assays. J. Nematology, 38, pp.168-171.

Salame I., Glazer I., **Cubinishvili M.,** Chkhubianishvili Ts. 2010. Genetic improvement of the desiccation to lerance and hostseekingability of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. Tel-Aviv, Phytoparazitica, vol.38, N 1, pp. 359-368.

Scheepmaker J. W.A., Geels F. P., van Griensven L.G., Smits P.H. 1998a. Susceptibility of larvae of the mashroom fly, *Megaselia halterata* to the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* in bioassays. Biocontrol, 43(2), pp. 201-214.

Scheepmaker J.W.A., Geels F. P., Smits P.H., van Griensven L.G. 1998b. Influence of *Steinernema feltiae* and diflubenzuron on yield and economics of the cultivated mashroom cuiture. Biocontrol Science and Technology 8, pp. 269-275.

Scott LPortman, Sindhu M. Krishnankutty, Gadi V.P. Reddy.2016. Entomopathogenic Nematodes Combined with Adjuvants Presents a New Potential Biological Control Method for Managing the Wheat Stem Sawfly, *Cephus cinctus* (Hymenoptera: Cephidae), PLoS ONE 11(12): e 0169022., pp. 10-137.

Shapiro-Ilan D.I., Gouge D.H., Koppenhöfer A.M. 2002. Factors affecting commercial success. In: Gaugler R., (Ed), Entomopathogenic Nematology, CABI, Wallingford, pp. 333-335.

Shapiro-Ilan D.I. Gaugler R., 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. Jour. Industrial Microbiology and Biotechnology, 28, pp. 137-146.

Shapiro-Ilan D.I., Mizell R.F., Cotrell T. E., Horton D.I. 2004. Measuring field efficacy of *Steinernema feltiae* and Steinernema *riobrave* for suppression of plum curculio, *Conotrachelus nenuphar* larvae. Biological Control, 30, pp. 496-503.

Shapiro-Ilan D.I., Fuxa J.R., Lacey L.A., Onstad D. W., Kaya H.K. 2005. Definitions of pathogenicity and virulence in invertebrate pathology. J. Invert. Pathol., 88, pp.1-7.

Shapiro-Ilan, D.I., Gaugler R., Adams B. 2008. Stability issues: maintenance of beneficial traits in entomopathogenic nematodes [Abstract]. 5th Inter. Cong. of Nematology, Brisbane, Australia. p. 167.

Shapiro-Ilan, D.I., Cottrell T.E., Mizzell R.F., Horton D.L., Behle R.W., Dunlap C.A. 2010. Efficacy of *Steinernema carpocapsae* for control of the lesser peachtree borer, *Synanthedon pictipes*: Improved above ground suppression with a novel gell application. Biological Control, 54, pp. 23-28.

Shapiro-Ilan, D.I., Campbell J.F., Lewis E.E., Kim-Shapiro D.B. 2012. Directional movement of entomopathogenic nematodes in response to electrical fields: Effects of species, magnitude of voltage, and infective juvenile age. J. of Invert.Pathol., 109, pp. 34-40.

Shapiro-Ilan D.I., Campbell J.F., Lewis E.E., Kim-Shapiro D.B., 2012a. Directional movement of entomopathogenic nematodes in response to electrical field: effects of species, magnitude of voltage, and infective juvenile age. J. Invert. Pathol., 109, pp.34–40.

Shapiro-Ilan D.I., Bruck D.J., Lacey L.A., 2012b. Principles of epizootiology and microbial control. In: Vega F.E., Kaya H.K. (Eds.), Insect Pathology, second ed. Academic Press, San Diego, pp. 29–72.

Shapiro-Ilan D.I., Brown, I. 2013. Earthworms as phoretic hosts for Steinernema carpocapsae and Beauveria bassiana: implications for enhanced biological control. Biol. Control, 66, pp.41–48.

Shapiro-Ilan D.I., Han, R., Qiu X., 2014a. Production of entomopathogenic nematodes. In: Morales-Ramos, J.A., Rojas, M.G., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.), Mass Production of Beneficial Organisms: Invertebrates and Entomopathogens. Academic Press, Amsterdam, pp. 321–356.

Shapiro-Ilan D.I., Lewis E.E., Schliekelman P., 2014b. Aggregative group behavior in insect parasitic nematode dispersal. Int. J. Parasitol., 44, pp.49–54.

Siegel J., Lacey L.A., Fritts R. Jr., Higbee B.S., Noble P.2004. Use of *steinernematid* nematodes for postharvest control of navel orange worm (Lepidoptera: Pyralidae, *Amyelois transitella*) in fallen pistachios. Biological Control, 30, pp. 410-417.

Sporleder M., Lacey, L.A. 2013. Biopesticides. In: Giordanengo P., Vincent C., Alyokhin A. (Eds.), Insect Pests of Potato: Global Perspectives on Biology and Management. Academic Press, Amsterdam, pp. 463–497.

Stock S.P., Hunt D.J. 2005. Morphology and Sistematics of Nematodes Used in Biocontrol. Nematode as biological control agents. CABI International, Wallingford, UK, pp. 3-43.

Stock S.P., Goodrich-Blair H. 2012. Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. Manual of Techniques in Invertebrate pathology, second edition, pp. 373- 426.

Stoll N. R. 1953. Axenic cultivation of the parasitic nematode *Neoplectana glaseri* in a fluid medium contining rat liwer extract. J. parasit., 39, pp.422-444.

Stuart S. N., Hoffmann M., Chanson J. S., Cox N. A., Berridge, R. J., Ramani P., Young B. E. (Eds.) 2008. Threatened Amphibians of the World. Lynx Edicions, Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerland, and Conservation International, Arlington, Virginia, USA. 758 p.

Sundh I., Wilcks A., Goettel M.S. 2012a. Microbes and the law – safety assessment and regulation of beneficial microorganisms. In: Sundh, I., Wilcks, A., Goettel, M.S. (Eds.), Beneficial Microorganisms in Agriculture, Food and the Environment. CABI International, Wallingford, UK, pp. 1–11.

Sundh I., Wilcks, A., Goettel, M.S. (Eds.). 2012b. Beneficial Microorganisms in Agriculture, Food and the Environment. Safety Assessment and Regulation. CABI International, Wallingford, UK, 343 pp.

Sundh I., Goettel M.S. 2013. Regulating biocontrol agents: a historical perspective and a critical examination comparing microbial and microbial agents. Biol. Control 58, pp.575–593.

Tomalak M., Piggott S., JabdaleG.B. 2005. Glass-house applications. In: Grewe, P.S., Ehlers R.-U. and Shapiro-Ilan, D. I. (eds.) Nematode as biological control agents. CABI International, Wallingford, UK, pp.147-166.

Unruh T. R., Lacey L. A. 2001. Control of codling moth, *Cidia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) with *Steinernema carpocapsae*: effects of supplemental wetting and pupation site on infection rate. Biological Control, 20, pp. 48-56.

Van C. Zyl & Malan A.P. 2013. The Role of Entomopathogenic nematodes as biological control agents of insect Pests, with Emphasis on the History of Their Mass Culturing and *in vivo* Production. African entomology.Entomological Society of Southern Africa, pp.235-249.

Van Tol R.W., Raupp M. J. 2005. Nursery and Tree Application. Nematode as biological control agents. CABI International, Wallingford, UK, pp. 167-190.

Vega F.E. & Kaya H.K. 2012. Insect Pathology Second Edition, San Diego, Academic press., 508 pp.

Wachek E. 1955. Die Entoparasitischen Tylenchiden. Veb Gas tav Fischer Verlag.119p.

Welch H.R. 1958. A revievof resent work on nematodes to their utilisation as a biological agens. Inter. Congr. Entomol., v.4. pp. 863-868.

White G. F, 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from caltures. Science, 66, pp.302-303.

Williams E.C. Walters K.F. 2000. Folliar application of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against leafminers of vegetables. Biocontrol Science and Technology, 10. pp. 61-70.

Yee W. L., Lacey L. A. 2003. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera:Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. Biol.Control, 27, pp. 349-356.

დანართი 1. *Geo-nema*-ს უსაფრთხოების მონაცემთა ფურცელი

Safety data sheet "*Geo-nema*"

Created: 04.03.2015
Reviewed:
Valid from: 04.03.2015
Version: 1 **Replacing Version**:
NLE Agricultural University of Georgia, Kanchaveli Institute of Plant Protection, Biological Control Department, 240 David Agmashenebeli alley, 0159 Tbilisi, Georgia

---

1. Identification of the substance/mixture and of the institution

Product identifier
Substance*: Steinernema feltiae*
Trade name: Geo-nema

Hazardous Material Information System III

Health	**1**
Fire Hazard	**0**
Physical Hazard	**0**
Personal Protection	**X**

Other means of identification:
Living organisms, entomopathogenic nematode

Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against
Biological plant protection agent, insecticide

Details of supplier of the safety data sheet:
Institution: NLE Agricultural University of Georgia, Kanchaveli Institute of Plant Protection, Biological Control Department
Street name: 240 David Agmashenebeli alley, Kakha Bendukidze University Campus at Digomi
Postal code/town name: 0159 Tbilisi, Georgia

Contact for technical information
Msc. Mariam Chubinishvili - Senior Research Fellow at Biological Control Dept.
Phone/ Fax/ E-Mail: +995 551 36-31-38/ +995 322 62-52-14/ m.chubinishvili@agruni.edu.ge

---

2. Hazards Identification

Components	CAS no.	Content	Occupational Exposure Limits OSHA PEL	ACGIH TLV
Steinernema feltiae	NA	10%	NA	NA
Inert carrier	NA	90%	NA	NA

Primary routes of entry: eyes, oral

Exposure limit for dust (not formed during normal use): 0.06 µg/in^3

No reportable quantities of toxic ingredients according to Section 313 SARA Title III and 40 CFR 372

No hazardous substances according to OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200.

Not classified according EEC Directives

Potential Acute Health Effects

Eyes: Irritation, itching, redness

Skin: Mild skin irritation

Inhalation: Respiratory system irritation (The formulation is free of dust. No inhalation expected.)

Ingestion: No effects

Safety data sheet "*Geo-nema*"

Created: 04.03.2015
Reviewed:
Valid from: 04.03.2015
Version: 1 **Replacing Version:**

NLE Agricultural University of Georgia, Kanchaveli Institute of Plant Protection, Biological Control Department, 240 David Agmashenebeli alley, 0159 Tbilisi, Georgia

3. Composition/information on ingredients

Substances

Active ingredient:

Name: *Steinernema feltiae* (living organism, entomopathogenic nematode)
CAS-Nr.: Not available for living organisms

Inert carriers:
Contains no admixtures with labeling obligation. The formulation is confidential.

Mixtures
Not a mixture of active ingredients

4. First aid measures

Following inhalation
Only in case of massive inhalation: Move the affected person outside the danger zone. Contact a doctor.

Following skin contact
Clean with water and soap.

Following eye contact
Flush eye for 10 minutes with water. In case of persistent eye irritation contact a doctor.

Following ingestion
Flush mouth with water several times and spit it out. Drink two cups of water afterwards. No further aid measures are necessary.

5. Fire - fighting measures

Flammability
Flame resistant, not explosive

Extinguishing media
All fire extinguishing media are appropriate.

6. Accidental release measure

Personal precautions, protective equipment and emergency procedures
None

Environmental precautions
None

Methods and material for containment and cleaning up
Wear dusk mask, eye protection, gloves. Clean contaminated area mechanical and/or with water.

7. Handling and storage

Precautions for safe handling

Protective measures:
Don't eat or drink when handling the product

Advice on general occupational hygiene:
Wash hands after handling the product

Advice on safe handling:
Wear dusk mask, eye protection, gloves

Fire preventions:
None

Aerosol and dust generation preventions:
None

Environmental precautions:
None

Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Technical measures and storage conditions:
Store in the dark at 4-10°C. Don't freeze. Don't expose to sunlight

Hints on storage assembly:
Opened bags should be used up. Storage class: 13

8. Exposure controls/personal protection

Control parameters
None

Personal protective equipment
Eyes / face

Protective glasses
Skin protection
G l o v e s

Respiratory protection
Dusk mask

9. Physical and chemical properties

9.1 Information on basic physical and chemical properties

Physical state: Sponge
Colour: Ochre
Odor: Wet clay

pH: 7-8 (100 g/L) water, 20°C)
Oxidizing compounds: None
Freezing point: 0 °C
Boiling point: 100 °C

Solubility n-octanol/water: NA
Explosive compounds: None
Vapour pressure: NA

10. Chemical stability and reactivity

Not applicable, contains living organisms

11. Toxicological information

Acute toxicity
Not toxic or pathogenic to mice (oral, subcutaneous, intraperitoneal)

Skin corrosion/irritation
None

Serious eye damage/irritation
None

Irritation to respiratory tract
Unknown

Carcinogenicity/mutagencity
Not applicable

12. Ecological information

Toxicity for non-target organisms
Not toxic or pathogenic against birds, reptiles, amphibians, fish, bees or earthworms. Side-effects are limited to soil born insects.

Persistence and degradability
Not applicable

Bioaccumulative potential
Not applicable

Mobility in the soil
Not applicable
Other adverse effect
Unknown

13. Disposal consideration

EPA Waste Number: Non-hazardous waste

Product /Packaging disposal
Vacuum or manual, general trash / packaging waste

14. Transport information

D.O.T. Classification: Not regulated
INO/IMDG: Not regulated
IATA: Not regulated

15. Regulatory Information

US Federal Regulations

Product information

The product in not considered hazardous

SARA 311/312

Acute: No
Chronic: No
Fire: No
Pressure: No
Reactive: No

SARA 313
No reportable quantities of toxic substances according requirements of Section 313 of SARA III and 40 CFR 372

TSCA listing
Exempted

დანართი 2. *Geo-nema* ბიოფორმულაციის წინასახის-საჩვენებელი მოდელის დიზაინის შექმნა და მისი გაცნობა საზოგადოებისა და ინვესტორებისათვის

სარეკლამო პროდუქციის წარდგენილია ინოვაციური ტექნოლოგიების გამოფენაზე (თბილისი,საქართველო,2014)

GEORGIAN INNOVANTIONS AND INVENTIONS FOR BUSINESS

#21 "Geo-nema"

Description

At present, the pest control in Georgia is primarily done by chemical insecticides with minor exceptions of biological means. These biological means of plant protection is not produced in Caucasus and chemical insecticides mainly (99-100%) in regional market have been imported where only 1% comes on other bioformulations. The presented nematode insecticides will take important place with a wide spectrum of action to closed and open ground farms. Biological insecticide - on the base on entomoparasitic nematode, *Steinernema feltiae* – "Georgian strain" to control of agricultural crops and ornamental plants pest insects.

This will be the first attempt to prepare the local, high effective entomoparasitic nematode bio-insecticide experimental parties, which will be the basis for future production of biological products on a large scale in Georgia.

Innovative aspects and competitive advantages

Competitive advantage of nematode insecticide experimental parties over competitors is three fold:

- Nematode insecticide will be desired integrated pest management (IPM), as the compatible alternative to broad-spectrum unselective chemical insecticides that can be environmentally disruptive and typically are less preferred by consumers.
- Entomoparasitic nematodes are considered as the non-toxic and environmentally safe for obtaining of the ecologically pure produce. Production of the ecological pure products is very important social problem.

The local production of nematode insecticide – Geo-nema will be in Tbilisi and most of the customers could get the product on place. The shipment will be done in 1-2 business days in a relatively cheap price. (Unlike foreign competitors, our prices are low).

Areas of application

Plant Protection – Control pest insects by biological means at different agroconesis - open ground farms and greenhouses

Stage of development

Research stage, testing, lab prototype

Patent

Contact information:

Mariam Chubinishvili
Kanchaveli Institute of Plant Protection
Agricultural University of Georgia
Tel.: +995 555 363138
m.chubinishvili@agruni.edu.ge
www.agruni.edu.ge

GEORGIA'S INNOVATION AND TECHNOLOGY AGENCY

GEORGIAN INNOVANTIONS AND INVENTIONS FOR BUSINESS

#21 "Geo-nema"

აღწერა

დღეისათვის საქართველოში მცენეულობასთან ბრძოლა ძირითადად ძიდინრეფობს ქიმიური ინსექტიციდებით ბიოლოგიური საშუალებების მცირე გამოსაკლისით. ამ ბიოლოგიური საშუალებების წარმოება არ ხდება კავკასიაში და რეგიონალური ბაზრის 99-100 % ინსპირირებულ ქიმიურ ინსექტიციდებს უკავია, სადაც მხოლოდ 1 % მოდის სხვა ბიოფორმულაციებზე. წარმოდგენილი ნემატოდური ინსექტიციდ თავისი მოქმედების დარით სასტატო მნიშვნელოვან ადგილს დაიკავებს დახურულ და ღია გრუნტის მეურნეობებში.

ბიოლოგიური ინსექტიციდი _ ენტომოპარაზიტული ნემატოდას, *Steinernema feltiae*-ს ქართული შტამის საფუძველზე, სასოფლო-სამეურნეო და დეკორატიული მცენარეების მავნე მწერებთან ბრძოლისთვის. ეს არის პირველი მეცადინეობა, მომავალში ადგილობრივი, მაღალ-ეფექტური ბიო-ინსექტიციდის ექსპერიმენტალური პარტია ენტომოპარაზიტული ნემატოდების საწყისზე, რომელიც იქნება ბიოლოგიური პროდუქტის სამომავლო წარმოების საფუძველი საქართველოში.

ინოვაციური მხარეები და კონკურენტული უპირატესობები

ნემატოდური ბიო- პესტიციდის ექსპერიმენტალური პარტიის უპირატესობები:

- ნემატოდური ინსექტიციდი ჩაერთვება მავნებლების ინტეგრირებულ მართვაში (IPM), როგორც ფართო სპექტრის არასელექტიური ქიმიური ინსექტიციდების შესაბამისი ალტერნატივა, რომლებიც მომხმარებლებისთვის ნაკლებად მისაღებია და გარემოსთვისაც მავნე.
- ენტომოპარაზიტული ნემატოდები განიხილება, როგორც არა-ტოქსიკური და გარემოსათვის უსაფრთხო საშუალებები ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქციის მისაღებად, ეკოლოგიურად სუფთა პროდუქტი _ მნიშვნელოვანი სოციალური პრობლემა.

ნემატოდური ინსექტიციდი _ Geo-nema ადგილობრივად იწარმოება (თბილისი) და მომხმარებელთა უმრავლესობას ექნება მისი ადგილზე შეძენის შესაძლებლობა. ადგილზე მიწოდება მოხდება 1-2 სამუშაო დღეში მომხმარებლისათვის მისაღებ-დაბალ ფასად (უცხოელი კონკურენტებისაგან განსხვავებით ჩვენი ფასები დაბალია).

გამოყენების სფეროები

მცენარეთა დაცვა _ მავნე მწერებთან ბიოლოგიური საშუალებით ბრძოლა

ტექნოლოგიის განვითარების სტადია

კვლევის სტადია, ტესტირების სტადია, ლაბორატორიული ნიმუში

საკონტაქტო ინფორმაცია:

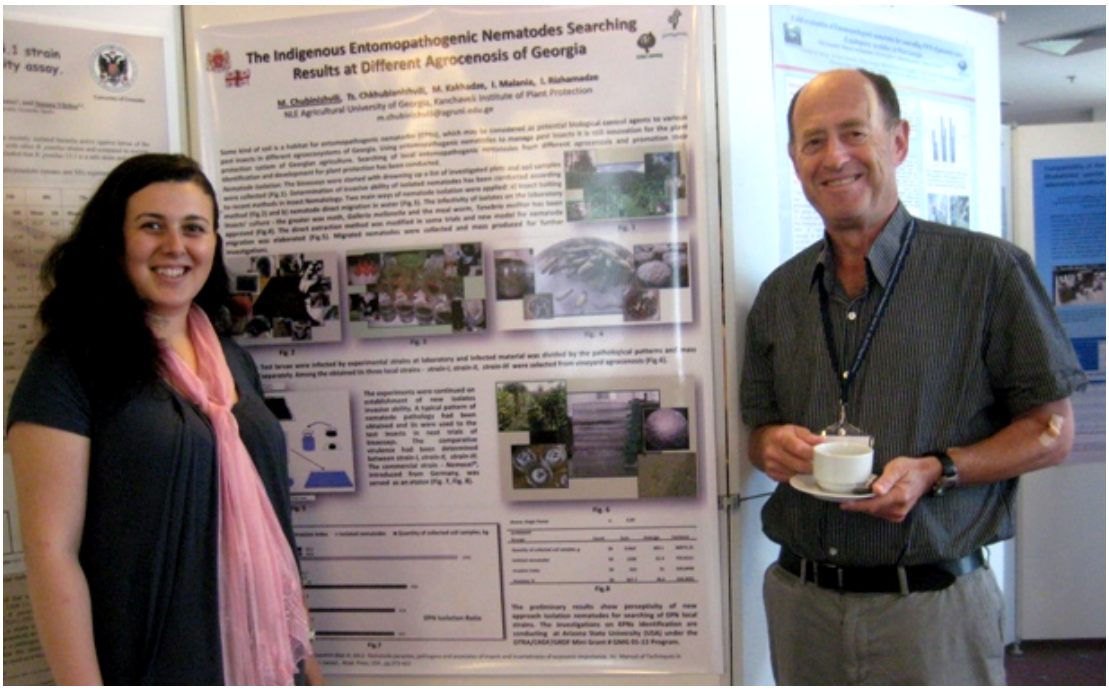
მარიამ ჩუბინიშვილი
კანჩაველის მცენარეთა დაცვის ინსტიტუტი
საქართველოს აგრარული უნივერსიტეტი
ტელ.: +995 555 363138
m.chubinishvili@agruni.edu.ge
www.agruni.edu.ge

GEORGIA'S INNOVATION AND TECHNOLOGY AGENCY

რეკომენდაციები მარკეტინგული საქმიანობებისათვის

დანართი 3.

სასტენდო მოხსენება „ადგილობრივი ენტომოპათოგენური ნემატოდების ძიების შედეგები საქართველოს სხვადასხვა აგროცენოზებში“ (ქ. ზაგრები, ხორვატია, 2013).



დანართი 4.

***Geo-nema*-ს გამოყენების პერსპექტივები მავნე მწერების წინააღმდეგ მცენარეთა დაცვაში“ (მაინცი, გერმანია, 2014)**

დანართი 5.

სასტენდო მოხსენება: „ახალი ბიოპესტიციდი *Geo-nema*- ს შემუშავება ადგილობრივი ენტომოპათოგენური ნემატოდების ბაზაზე საქართველოში“ (ანტალია, თურქეთი, 2014)

დანართი 6.
ზეპირი მოხსენება: „Tuta absoluta-გან ბოსტნეული კულტურების კომპლექსური დაცვა დახურულ გრუნტში“ (რიგა, ლატვია, 2015)

დანართი 7.
ბიოფორმულაცია *Geo-nema*-ს მიმღებიანობის შესწავლა სათბურის მავნებლებისათვის (ერევანი, სომხეთი, 2015)

დანართი 8.
საქართველოში სტრატეგიული კულტურების მდგრადი დაცვისათვის ახალი ბიოფორმულაციების განვითარება (ანკარა, თურქეთი, 2015)

დანართი 9

ნემატოდური ბიოპესტიციდის, *Geo-nema*-ს სარეგისტრაციო მოწმობა

საქართველო GEORGIA

სურსათის ეროვნული სააგენტო
National Food Agency

სარეგისტრაციო მოწმობა
REGISTRATION CERTIFICATE

№ 2110

ეძლევა რეგისტრანტს — შპს. მცენარეთა ბიოლოგიური კონტროლი საქართველოში, საქართველო

მასზედ, რომ პესტიციდი — ბიოლოგიური ინსექტიციდი, ჯეო-ნემა ნსღ

დანიშნულება,სავაჭრო სახელწოდება, პრეპარატული ფორმა
Steinernema feltiae 25 მლნ. (IJ/L) მაინფიცირებელი იუვენილი /ლ

მოქმედი ნივთიერება
შპს. მცენარეთა ბიოლოგიური კონტროლი საქართველოში, საქართველო

მწარმოებელი
რეგისტრირებულია საქართველოში არსებული პესტიციდების რეგისტრაციის წესის თანახმად

კარტოფილი, ტკბილი წიწაკა, ბადრიჯანი, პამიდორი, კიტრი, შამპინიონი; მწვანილი (დახურული გრუნტი), ყვავილოვანი დეკორატიული კულტურები, გაზონები 20x10^5 IJs/მ^2, კომბოსტო 15 x10^5 IJs/მ^2, სიმინდი, ხორბალი, ქერი, შვრია 30 x10^5 IJs/მ^2, ხეხილი 50 x10^5 IJs/მ^2

კულტურა

is issued to the petitioner — **Plant Biological Control In Georgia LTD, Georgia**

that the pesticide — **Bio insecticide, Geo-nema NSS**

Function, trade name, preparation form
Steinernema feltiae 25mln. (IJ/L) the infecting yuvenit/L

Active ingredient
Plant Biological Control In Georgia LTD, Georgia

producer

Is registered in Georgia according to the rules, established for Registration of Pesticides

Potato, swit pepper, egg-plant, tomato, cucumber, sampinion, parsley (indoor), ornamental crops, grass plot 20x10^5 IJs/m^2, cabbage 15 x10^5 IJs/m^2, maize, wheat, barley, oats 30 x10^5 IJs/m^2, fruit trees 50 x10^5 IJs/m^2

crop

რეგისტრაციის თარიღი
Registration Date 21.12.2015
№ 1168

რეგისტრაციის ვადა – 5 წელი
Registration period – 5 year

სურსათის ეროვნული სააგენტო
უფროსი

ხელმოწერა

National Food Agency

Signature