С Е Л С К О С Т О П А Н С К А А К А Д Е М И Я

ИНСТИТУТ ПО ПОЧВОЗНАНИЕ, АГРОТЕХНОЛОГИИ И ЗАЩИТА НА РАСТЕНИЯТА "НИКОЛА ПУШКАРОВ"

ДИМИТЪР ИВАНОВ ВЕЛЧЕВ

Възможности за приложение на биологични средства за мониторинг и контрол при насекомни неприятели по царевицата

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен „доктор“
в професионално направление: 6.2 Растителна защита
по научна специалност: „Растителна защита (ентомология)“

Научни ръководители: проф. д-р Оля Евтимова Караджова
доц. д-р Теодора Бориславова Тошова

Рецензенти: научна степен, звание, Име, Презиме, Фамилия
научна степен, звание, Име, Презиме, Фамилия

София, 2026г.

Дисертацията е написана на 148 страници и съдържа 10 таблици и 64 фигури. Използвани са 274 литературни източника, от които 30 броя на кирилица и 244 броя на латиница. Използваната номерация на таблиците и фигурите в автореферата не съответства на номерацията в дисертацията.

Защитата на дисертационната работа ще се проведе на ..... от ..... ч. ..... на открито заседание на Научно Жури, Заповед РД ..... 2026 г. на Председателя на Селскостопанската Академия.

Научно жури:

Вътрешни членове:

1. доц. д-р Женя Иванова Илиева, ИПАЗР „Никола Пушкаров“, ССА, гр. София)
2. доц. д-р Василина Димчева Манева (Институт по земеделие, гр.Карнобат, ССА)

Външни членове:

1. чл. кор. дсн Георги Цветков Георгиев (Институт за гората, БАН, гр. София)
4. доц. д-р Катя Георгиева Тренчева, Лесотехнически университет, гр. София)
5. доц. д-р Дима Матеева Маркова (Аграрен университет, гр. Пловдив)

Резервни членове:

1. доц. д-р Мария Иванова Стоянова, ИПАЗР „Никола Пушкаров“, ССА, гр. София – вътрешен член
2. доц. д-р Албена Георгиева Гьонова (Софийски университет „Св. Климент Охридски, Биологически факултет, гр. София) – външен член

Списък на съкращенията и обозначенията

БАБХ – Българска агенция по безопасност на храните

ДИ – доверителни интервали

ЕМ – етерично масло или етерични масла (в зависимост от контекста на изречението)

ИУВ – Интегрирано управление на вредителите

ИЦ – Институт по царевицата

нонанал – 9Al

ПИВ – праг на икономическа вредност

(±)-линалол – линалол

(*E*)-2-хексен-1-ол – E2-6OH

(*Z*)-3-хексен-1-ол – Z2-6OH

(*Z*)-3-хексенил бутират – Z3-6Bu

LC_{50} – концентрация, необходима да предизвикат смъртност на 50% от опитните индивиди

LC_{90} – концентрация, необходима да предизвикат смъртност на 90% от опитните индивиди

LT_{50} – средно летално време

PE – полиетилен, полиетиленов, полиетиленови

SE – стандартната грешка

УВОД

Историята на съвременната царевица *Zea mays* Linnaeus, 1753 (Poaceae) започва преди около 7000 - 10000 години от тревата теосинт (*Euchlaena mexicana*, *sensu lato*), разпространена на територията на съвременно Мексико (Goodman and Galinat, 1988). Тя е една от най-важните земеделски култури в световен мащаб, с широко приложение в хранителната, фуражната и индустриалната сфера (Shiferaw et al., 2011., Ranum et al., 2014).

У нас царевицата е втората по значение земеделска култура след пшеницата. В България според данни в Аграрните доклади на Министерство на земеделието и храните през последните години площите, реколтирани с царевица заемат около 500 000 хектара, което е между 9% и 13% от общата използвана земеделска площ на територията на страната. Страната има силни традиции в производството на царевица и много собствени сортове се създават в Института по царевицата (ИЦ) (Селскостопанска академия), гр. Кнежа, който е разположен в един от най-благоприятните за отглеждане на тази култура агроекологични райони у нас.

Основните икономически важни насекомни вредители по *Z. mays* в България са сив царевичен хоботник *Tanymecus dilaticollis* Gyllenhal, 1834 (Coleoptera: Curculionidae), телени и лъжетелени червеи (Coleoptera: Elateridae, Tenebrionidae), царевичния пробивач *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796), памуковата нощенка *Helicoverpa armigera* (Hübner, 1808) (Lepidoptera: Noctuidae), листните въшки (Hemiptera: Aphididae)(основно видовете *Aphis fabae* subsp. *evonymi* Fabricius, 1775, *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) и *Sipha maydis* Passerini, 1860), обикновена житна пиявица *Oulema melanopus* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera: Chrysomelidae) и *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771) (Grylloidea) (Томов и Йорданов, 1988; БАБХ, 2017). От края на миналия век и началото на настоящия век следните инвазивни видове насекоми се наблюдават като неприятели по царевицата у нас – западния царевичен коренов червей *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte, 1858 (Coleoptera: Chrysomelidae), *Reptalus panzer* (Löw, 1883) и поветицовата цикада *Hyalesthes obsoletus* Signoret 1865, (Auchenorrhyncha: Cixiidae) (последните два вида са вектори на фитоплазма столбур) (Ivanova, 2002a; Genov et al., 2014). Инвазивният азиатски вид кафява мраморна дървеница

Halyomorpha halys (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae), който е полифаг и напада и царевица, е съобщен в България през 2016 г. (Simov, 2016). Неотдавна в нашата страна при независими изследвания с помощта на феромонни и хранителни примамки и светлинни ловилки е регистрирана есенната армейска нощенка *Spodoptera frugiperda* (JE Smith, 1797) (Lepidoptera, Noctuidae), икономически важен неприятел по много култури, включително и царевица (Szanyi et al., 2025).

Настоящото изследване се фокусира върху три вида важни селскостопански неприятели по царевицата в България, принадлежащи към разред Coleoptera - *T. dilaticollis*, *D. v. virgifera* и *O. melanopus* (Фиг. 1).



Фиг. 1. *T. dilaticollis* – ляво; *D. v. virgifera* – средата *и O. melanopus* – дясно.

1. ЛИТЕРАТУРЕН ПРЕГЛЕД

Съвременната политика на Европейския съюз в областта на растителната защита е насочена към ограничаване на риска от употребата на продукти за растителна защита (ПРЗ) и насърчаване на устойчиви земеделски практики. Основите на тази политика са заложени в Регламент (ЕО) № 1107/2009, Директива 2009/128/ЕО и последващите европейски регламенти, които въвеждат единна нормативна рамка за безопасна и устойчива употреба на ПРЗ. В изпълнение на целите на Европейския зелен пакт и стратегията „От фермата до трапезата“ Европейската комисия поставя акцент върху намаляването на употребата и риска от химичните пестициди с 50 % до 2030 г., като насърчава внедряването на екологично съобразни методи за растителна защита.

В литературния обзор е представена съвременната концепция за Интегрирано управление на вредителите (ИУВ), която изисква прецизно научноизследователско наблюдение на вредителите и вземане на решения въз основа на праговете на икономическа вредност. Обърнато е внимание ролята на семиохимичните агенти и биоинсектицидите, както и продукти от растителен произход като етеричните масла.

За всеки от целевите видове насекоми са представени данни за разпространението, биологията, ПИВ, мерки за борба, данни за химическа комуникация и естествени врагове.

2. ЦЕЛ И ЗАДАЧИ

Целта на настоящото изследване е да се установят атрактанти за сивия царевичен хоботник и да се получат данни за феромонната комуникация при този вид, да се проучи възможността за практическо приложение на органични вещества с привличаща активност при *Tanymecus dilaticollis* и *Diabrotica virgifera virgifera*; да се оцени ефективността на биопрепарати/биопродукти срещу *T. dilaticollis, D. v. virgifera* и *Oulema melanopus*.

За постигането на тази цел са поставени следните задачи:

- изпитване на биологичната активност на вещества, кандидати за атрактанти, установени от колеги при електрофизиологични изследвания или при химични анализи на смеси от летливи органични вещества спрямо възрастни на *T. dilaticollis*;
- уточняване на детайли на примамката (състав и тип диспенсер) и ловилката за *T. dilaticollis*;
- проследяване на сезонната активност на възрастните на сивия царевичен хоботник и на западния царевичен коренов червей чрез ловилки с химичен или визуален стимул;
- изпитване на биологични продукти (ентомопатогенни гъби, ентомопатогенни нематоди и етерично масло) за растителна защита при *T. dilaticollis, D. v. virgifera* и *O. melanopus*.

Въз основа на поставената цел и задачите на изследването са формулирани следните изследователски хипотези:

Хипотеза 1. Част от летливите органични съединения, идентифицирани чрез електрофизиологични изследвания, проявяват атрактивно действие спрямо възрастните индивиди на *Tanymecus dilaticollis* от двата пола.

Хипотеза 2. Ефективността на мониторинга на активността на презимувалите възрастни на сивия царевичен хоботник може да бъде повишена чрез оптимизиране на състава на примамката, типа диспенсер и в комбинация с подходящ тип ловилката.

Хипотеза 3. Ловилките с химичен или визуален стимул осигуряват надеждна информация за сезонната активност и относителната численост на *Tanymecus dilaticollis* и *Diabrotica virgifera virgifera*.

Хипотеза 4. Съществува вътревидова химическа комуникация при възрастните индивиди на *Tanymecus dilaticollis.*

Хипотеза 5. Ентомопатогенните гъби, ентомопатогенните нематоди и натурални етерични масла притежават потенциал за намаляване на числеността на *Tanymecus dilaticollis*, *Diabrotica virgifera virgifera* и *Oulema melanopus*.

3. МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

3.1. *Tanymecus dilaticollis*

3.1.1. Вещества при опити с помощта на ловилки

За полеви опити са използвани синтетични вещества, закупени от Sigma – Aldrich® или предоставени от учени от Rothamsted Research (Великобритания). Чистотата на веществата е над 95%. Тези вещества са алифатните съединения (*E*)-2-хексен-1-ол (E2-6OH), (*Z*)-3-хексен-1-ол (Z3-6OH), (*Z*)-3-хексенил бутират, (Z3-6Bu), нонанал (9Al), ароматното вещество (±)-линалол (линалол) и терпена кариофилен.

3.1.2. Примамки

За диспенсери са използвани: 1) зъболекарски памучни тампони (Celluron®, Paul Hartmann AG, Heidenheim, Germany), обвити в полиетиленови торбички, изработени от 0.02 mm линейно полиетиленово фолио, и монтирани предварително на пластмасови държатели (8 × 1 cm) (PE памучни диспенсери); 2) полиетиленови контейнери с капачета с обем 2.5 ml (Just Plastic Ltd, Великобритания) (Just Plastics PE контейнери, 2.5) и 3) полиетиленови капсули с капачета с обем 1 ml (Kartell, Австрия) (Kartell PE капсули, 1).

Веществата са приложени върху диспенсерите самостоятелно или в смеси в количества от 100 µl с помощта на автоматична пипета със сменяем накрайник. Изключение е опита с различни съотношения на две съединения.

3.1.3. Ловилки

Основно са използвани ловилки тип TAL (CSALOMON®, Унгария). Примамките се прикрепват под прозрачния покрив. Събирателният контейнер е вкопаван в земята на дълбочина, равна на височината на контейнера. На дъното на ловилката като убиващ агент е поставян правоъгълен лист (16 × 10 cm) от прозрачно PVC фолио, покрит обилно с воднонеразтворимо лепило за насекоми (Tanglefoot®, САЩ).

3.1.4. Експерименти с ловилки

Опитите са проведени в 3-4 повторения в групи, всяка съдържаща всички варианти на изпитваните примамки/ловилки. При всички опити за контрола са използвани ловилки без примамки. Разстоянието между ловилките в групите е над 7 m и между групите 30-40 m. Ловилките са проверявани за улови на интервали от 1-3 дни. Данните от регулярните отчитания с улови на сив царевичен хоботник при полевите опити с помощта на TAL лепливи ловилки с примамки от синтетични растителни вещества през 2009 г., 2011 и 2013 г. са използвани за проследяване на сезонната активност на презимувалите възрастни на неприятеля. Детайли за експериментите са представени към „4. Резултати и обсъждане“.

За определяне на видовете са използвани ключовете в Ангелов (1978, 1980).

3.1.5. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис спрямо *Tanymecus dilaticollis* в полеви условия

В периода 03.05. - 04.06.2021 г. е изпитана ефективността на биоинсектицида Натуралис (CBC (Europe) S.r.l., Italy) в полски условия спрямо възрастни индивиди на сивия царевичен хоботник. Изпитваните варианти на третирания на опитните площи с царевица са 3 броя в по 3 повторения: 1) Натуралис в доза 200 ml/da; 2) Натуралис в доза100 ml/da и 3) контрола - третиране с чешмяна вода. Опитът е заложен по метода на латинския квадрат, като опитната парцелка е 42 m^2, а разстоянието между блоковете е три метра. Общата площ на опита е 630 m^2. Използван е хибрид Кн-442.

3.1.6. Ефект на ЕМ от бял риган върху възрастни индивиди на *Tanymecus dilaticollis* в лабораторни условия

Проведени са два паралелни лабораторни опити през периода 25.04 – 04.05.2022 г. за изпитване на действието на етеричното масло (ЕМ) от бял риган *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart (или гръцки риган) върху възрастни на сивия царевичен хоботник. При първия опит в затворени Петриеви блюда 1 ml от разтворите са приложени върху дискове от филтърна хартия на дъното на стерилни петриеви блюда и след това са въвеждани насекомите - по 20 броя в блюдо. При втория експеримент ЕМ в количество 2 µL от изпитваните концентрации е накапвано върху 20 броя насекоми и опитните индивиди са поставяни в стерилни пластмасови контейнери за наблюдения върху смъртността. Всяко насекомо е третирано поотделно между пронотума и коремчето само с по една от концентрациите с помощта на автоматична пипета със сменяем накрайник. Експериментите са проведени в по 3 повторения с отчитания на броя на живите и загиналите индивиди на интервали от 24 ч.

3.1.7. Ефект на ЕМ от бял риган върху царевица в лабораторни условия

Изпитани са следните концентрации на водни разтвори на ЕМ от бял риган с емулгатор Tween (0.01%): 0.1 µl/ml, 1 µl/ml, 10 µl/ml и 100 µl/ml. Като контроли са използвани дестилирана вода и дестилирана вода с 0.01% емулгатор Tween 80. За сравнение е включен и системен инсектицид Моспилан 20 СП Nippon Soda Co., Ltd (Токио, Япония) (с активно вещество ацетамиприд) в доза 10 g/da, която е препоръчителна за борба със сив царевичен хоботник. Всеки вариант е изпитан в три повторения.

Растенията са третирани във фенофаза 2–3 лист (BBCH 12-13) чрез напръскване с 4 ml работен разтвор на съответните концентрации, с помощта на пластмасови спрей флакони с обем 12 ml (Shopiens). Наблюденията за състоянието на растенията са извършвани ежедневно в продължение на 10 дни. При опитите с млади царевични растения фитотоксичността е оценявана по скала (Machado et al., 2024), както следва:

- 0 – няма поражения
- 1 – леки симптоми
- 2 – умерени симптоми
- 3 – тежки симптоми

- 4 – много тежки симптоми

3.1.8. Ефект на ЕМ от бял риган върху царевица в полеви условия

Царевичните растения са третирани със следните концентрации на ЕМ от бял риган 0.1 µl/ml, 1 µl/ml, 10 µl/ml и 100 µl/ml, както и с Моспилан 20 СП в доза 10 g/da. За контроли са използвани дестилирана вода и дестилирана вода с 0.01% емулгатор Tween. Схемата на полския опит е рандомизиран блоков опит. Опитът е проведен в 3 повторения. Наблюдения са извършвани ежедневно в продължение на 10 дни. Теглото на растенията (стъбло и листа) е измерено в свежо състояние две седмици след края на наблюденията.

3.1.9. Ефект на продукти с ентомопатогенни нематоди в полето

Изпитани са следните търговски продукти: 1) Nemastar® (5 милиона *S. carpocapsae* в прахообразна форма) и 2) Nematop Käfer-Stopp trap® (т. нар. капан - дървена дъска с жлебове от горната страна, запълнени с гел, съдържащ 2.5 милиона *S. carpocapsae*).

Прахообразната формулация Nemastar® е оценена при полски условия в полета с различни практики за третиране на семената – химично (Гаучо 600 ФС) и биологично (комбинация от Натуралис и микробиални торове). В полетата с различни практики на третиране на семената, полевите (открити парцели с царевица с площ 25 m^2) и полуполевите експерименти (в кафези - дървени рамки, обвити с мрежи против насекоми; 0.5 m^3; 4 царевичните растения в кафез) са проведени 2 третирания с по две повторения с Nemastar® и едно повторение с чешмяна вода без нематоден продукт (контрола). Разстоянието между парцелите в блок е 15–20 m, а между кафезите – 10–15 m. Броят на допълнително внесените хоботници при първо третиране (28 април 2022 г.) с нематодния продукт е: открити площи: 0 бр., а в кафезите: 15 броя/ кафез. При второто третиране (19 май 2022 г.) броят на добавените хоботници е 70 броя във всеки открит парцел и по 30 броя на кафез. Преди второто третиране са приложени 20 L вода на открит парцел и 1.5 L вода в кафез, за да се увеличи влажността и да се подпомогне придвижването на ентомопатогенните нематоди в почвата.

Два капана Nematop® Käfer-Stopp са поставени върху почвата в полето с биологично третиране на семената и един капан е поставен върху почвата в царевица със семена,

третирани с Гаучо 600 ФС на 28 април 2022 г. Капаните са напоявани с вода отгоре в продължение на три последователни дни след поставянето им на полето.

Мъртвите насекоми, събрани от всички опити, са съхранявани в хладилник 1-5 дни до дисецирането им. Изготвени са временни микроскопски препарати, които са обследвани под светлинни микроскопи за наличието на нематоди.

3.2. *Diabrotica virgifera virgifera*

3.2.1. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* с помощта на цветни лепливи ловилки без примамки

През периода 5 юни – 23 септември 2014 г. в 6 повторения са изпитани следните цветове лепливи ловилки (10 x 16 cm) от PVC фолио на унгарската фирма CSALOMON®: бял, син, червен, оранжев, жълт и флуоресциращо жълт. Безцветни ловилки са използвани като контрола. Отчитания на уловите са извършвани 1-2 пъти седмично, като уловите са събирани и са поставяни нови лепливи ловилки.

3.2.2. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* с помощта на KLP+ ловилки с феромонни и растителни примамки

За изследванията през 2015 г. (17 юни – 30 септември) и 2016 г. (12 юли – 28 септември) са използвани KLP+ ловилки с две семиохимични примамки (феромонна и растителна), произведени от Csalomon®. Във всяка ловилка е поставена инсектицидна лентичка Vaportape® (Hercon Environmental Inc., Emigsville, PA, USA) - убиващ агент за уловените бръмбари. Ловилките с примамки са в 4 повторения, а контролни ловилки (без примамки) са разположени в блоковете с второто и четвърто повторение на вариантите с примамки. Примамките са подменяни със свежи на интервали от 4 седмици.

3.2.3. Влияние на нюанса на жълтия цвят на ловилката в комбинация с феромонна и растителна примамки

През 2017 г. (21 юли - 2 октомври; смяна на примамките: 18 август) и 2018 г. (15 юли до 30 септември; смяна на примамките: 15 август) е сравнена атрактивността на жълта и

флуоресциращо жълта KLP+ суха ловилка с инсектицид, като те са снабдени с по две примамки – феромонна и растителна, предоставени от Csalomon®. Вариантите са изпитани в по две повторения през периодите на изследването.

3.2.4. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* в царевични култури с различно третиране на семената (биологично и химично)

През периода 29.06-12.09.2022 г. е проведен мониторинг на сезонната активност на възрастните на неприятеля с помощта на KLP ловилки, снабдени с по две примамки – феромонна и растителна в царевични култури с различен тип третиране на семената – биологично (2 повторения) и химично (1 повторение).

3.2.5. Опитни насекоми за лабораторни изследвания

За привличане на мъжки и женски индивиди са използвани феромонни и растителни (флорални) примамки, предоставени от Csalomon®. Улавянето е извършено в интервала между 09:00 ч. и 12:00 h – период, характеризиращ се с висока летателна активност на възрастните насекоми към двата вида примамки.

3.2.6. Ефект на ЕМ от бял риган върху възрастни индивиди на *Diabrotica virgifera virgifera* в лабораторията

За биотестовете са използвани произволно подбрани възрастни индивиди на *D. v. virgifera* с неизвестен пол и възраст, събрани от поле с царевица в началото на август 2021 г. Проведени са два експеримента за оценка на въздействието на ЕМ от бял риган върху възрастни на западния царевичен коренов червей. В предварителен експеримент са изпитани три различни количества от чисто неразредено етерично масло от бял риган (3 µl, 5 µl и 10 µl) с цел оценка на неговата биологична активност. Всеки от обемите е прилаган поотделно чрез накапване с помощта на автоматична микропипета върху филтърната хартия, покриваща дъното на петриево блюдо. В последващ опит е изпитана активността на ЕМ от бял риган в дестилирана вода, съдържаща: 0.01% (v/v) Tween 80®. Приготвените концентрации са 0.01 µl/ml, 0.1 µl/ml, 1 µl/ml и 10 µl/ml. От всяка концентрация по 1 ml е нанасян поотделно върху филтърна хартия, покриваща дъното на петриевото блюдо

(диаметър 85 mm и височина 17 mm). В контролните варианти филтърната хартия в петриевите блюда е третирана с 1 ml дестилирана вода, съдържаща Tween 80® (0.01%, v/v). Опитите са извършени в по три повторения, като броят на опитните насекоми в петриево блюдо е 24 (SE: ± 3) при първия опит и 28 (SE: ± 1) при втория.

3.2.7. Изпитване на леталното действие на щам на *Metarhizium pemphigi* върху възрастни индивиди на *Diabrotica virgifera virgifera* в лабораторията

Щамът на *Metarhizium pemphigi* (Driver и R.J. Milner) Kepler, S.A. Rehner и Humber AMEP28, използван в това изследване, е изолиран от неидентифициран бръмбар от семейство Carabidae, предоставен от словашкия колега Dr. Marek Barta (Институт по горска екология, гр. Нитра) за съвместни изследвания.

Изпитани са следните конидиални суспензии: 2×10^3, 2×10^4, 2×10^5, 2×10^6 и 2×10^7 конидии/ml. Инсектицидната активност на ентомопатогенната гъба е оценена чрез метода с накапване върху дискове от филтърна хартия на дъното на петриеви блюда. За експеримента са използвани произволно избрани възрастни индивиди на *D. v. virgifera* с неизвестен пол и възраст. Общо 413 възрастни индивиди са използвани в този биотест. Броят на мъртвите и живите индивиди е отчитан ежедневно в продължение на 10 дни след третирането. Мъртвите насекоми са поставяни върху влажна филтърна хартия в нови петриеви блюда (диаметър 55 mm) за проявление на гъбния патоген при 24 ± 1 °C.

3.3. *Oulema melanopus*

3.3.1. Опитни насекоми за лабораторни изследвания

Индивиди на *O. melanopus* са събрани при ръчен сбор от овесено поле в ИЦ – Кнежа, като възрастните са събрани през юни 2019 г., а ларви на този вид – през юни 2021 г. За определяне на вида е използван определителя на Груев и Томов (1986). Ларвите са с дължина около 6 mm. Ширината на главовата капсула на произволно избрани ларви съответства на трета – четвърта възраст (Hoxie and Wellso, 1974).

3.3.2. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис върху възрастни индивиди на *Oulema melanopus* в лабораторни условия

Следните конидиални суспензии на Натуралис са изпитани в по три повторения в Петриеви блюда: 2.3×10^2 - 2.3×10^7 конидии/ml. Третирането е извършено чрез накапване на 1 ml от дадена суспензия с помощта на автоматична пипета със сменяем накрайник върху филтърната хартия, покриваща дъното на стерилно пластмасово Петриево блюдо (ISOLAB, 85 mm диаметър). В контролния вариант, изпитан също в три повторения, е използвана дестилирана вода (1 ml). След това във всяко блюдо са поставени по 21 броя възрастни на обикновената житна пиявица. Смъртността на опитните насекоми е отчитана на 24-часови интервали в продължение на десет дни след третирането. Умрелите насекоми са поставяни в нови петриеви блюда върху навлажнена с дестилирана вода филтърна хартия за проявяване на патогена.

3.3.3. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис върху ларви на *Oulema melanopus* в лабораторни условия

Приготвени са същите серийни разреждания на Натуралис в дестилирана вода, както при опита с възрастните насекоми: 2.3×10^2 - 2.3×10^7 конидии/ml. Един милилитър от съответната концентрация, включително неразредения търговски продукт (2.3×10^7 конидии/ml), е равномерно разпределен върху повърхността на филтърна хартия, поставена на дъното на Петриево блюдо (ISOLAB, 85 mm диаметър). В контролния вариантите използвана дестилирана вода (1 ml). Опитът е в 3 повторения, като в петриево блюдо са поставяни по 20 ларви. Отчитанията са по методиката, описана в 3.3.2.

3.4. Анализ на данни

Данните са анализирани с помощта на непараметричен дисперсионен анализ (Kruskal–Wallis H test) или параметричен ANOVA test. При значими доказателства, които предполагат, че поне една средна стойност на групата се различава от останалите, е провеждан *post hoc* тест - Mann–Whitney U test след непараметричен тест или LSD (Least Significant Difference) test след ANOVA за двойни сравнения.

Probit анализ е прилаган за изчисляване на леталните концентрации LC_{50} и LC_{90} и средното летално време LT_{50} и 95% доверителните интервали (ДИ).

Статистическите анализи са извършени основно с програмата STATISTICA 7.0. software program (StatSoft, Inc., 2004) или Microsoft Excel. При стойност на *P* (вероятността да се наблюдават получените резултати или по-екстремни резултати) по-малка или равна на 0.05 се предполага, че има значителна разлика между средните стойности на поне две групи.

3.5. Характеристики на района и метеорологични данни

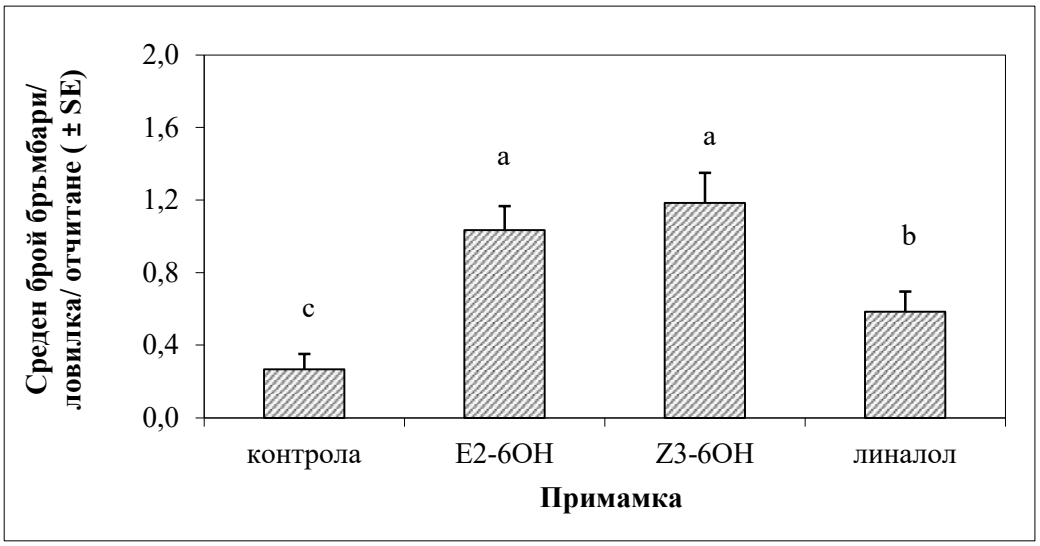
Почвата в района на Института по царевицата е типичен чернозем, а климатът – умереноконтинентален. Метеорологичните данни, представени в дисертацията, са предоставени от Метеорологичната станция в гр. Кнежа.

4. РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

4.1. *Tanymecus dilaticollis*

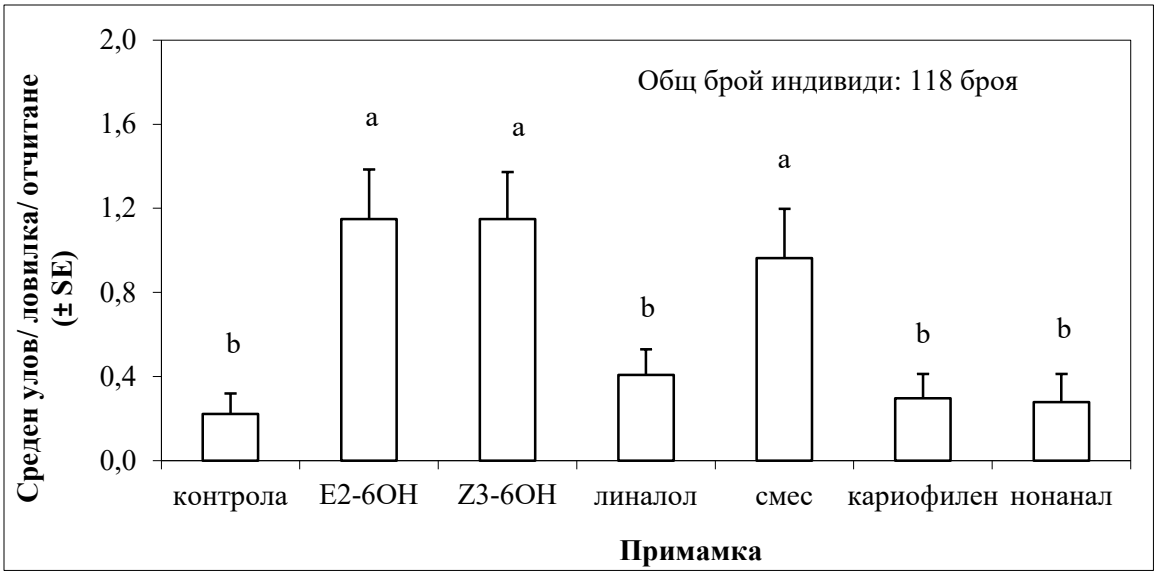
4.1.1. Ефект на състава на примамката

Експеримент 1: През 2009 г. улови на *T. dilaticollis* са регистрирани във всички изпитани ловилки, съдържащи поотделно следните вещества: (*E*)-2-хексен-1-ол (E2-6OH), (*Z*)-3-хексен-1-ол (Z3-6OH) и (±)-линалол, и също в ловилките без примамка. Анализът на резултатите от първия полеви опит показа, че средните улови в ловилките с всички изпитани вещества са статистически доказано по-високи от тези в контролните ловилки (Фиг. 2). Най-високи улови са установени в ловилки с примамки E2-6OH и Z3-6OH.



Фиг. 2. Средни улови (±SE) на възрастни на *T. dilaticollis* в TAL лепливи ловилки, 21 май – 10 юни 2009 г., гр. Кнежа, 3 повторения. Уловите маркирани с една и съща буква не се различават статистически ($P \leq 0.05$, Kruskal-Wallis тест, последван от Mann-Whitney U test).

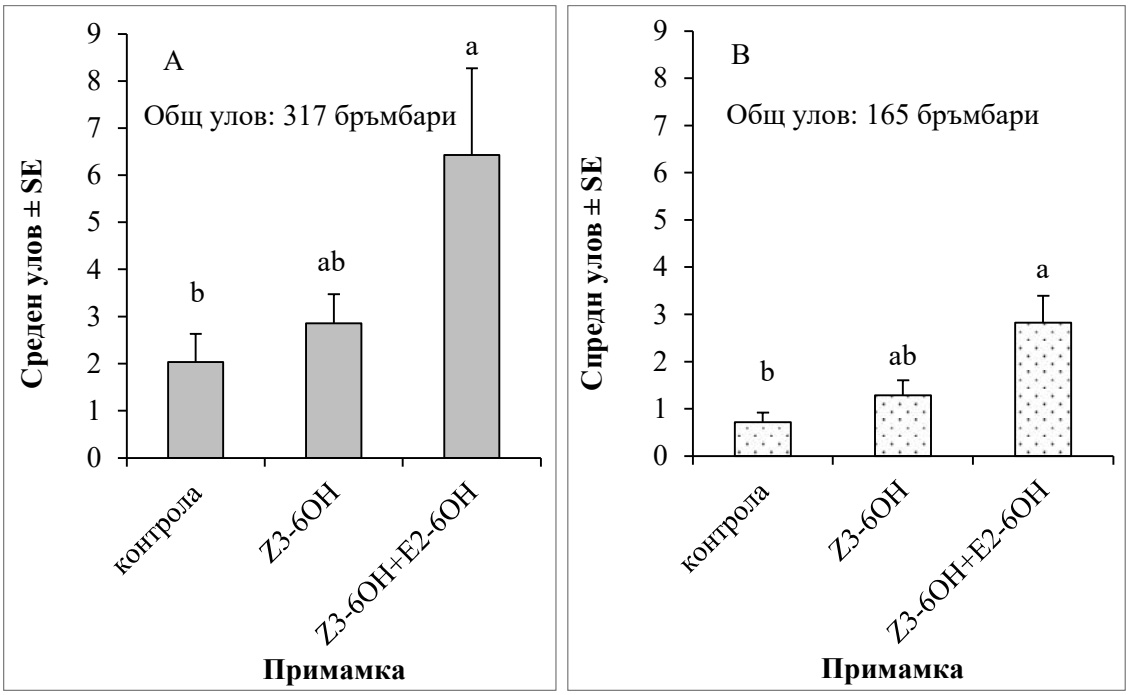
Експеримент 2: При втория експеримент през 2009 г. отново улови на целевия вид са регистрирани във всички варианти на ловилките независимо от наличието или отсъствието на примамка (Фиг. 3).



Фиг. 3. Средни улови (± SE) на възрастни на *T. dilaticollis* в TAL лепливи ловилки, 11-29 юни 2009 г., диспенсери PE памучни тампони, гр. Кнежа, 3 повторения. За означения – Фиг. 2.

Резултатите от този експеримент показват най-силно привличане на възрастните индивиди на сивия царевичен хоботник към примамки, съдържащи поотделно двата ненаситени алкохола, E2-6OH и Z3-6OH, или тяхната смес с (±)-линалол (E2-6OH: Z3-6OH: линалол; 1:1:1) (смес). Средните улови в ловилки с останалите изпитани примамки - (±)-линалол, кариофилен и нонанал (9Al) не се отличават статистически от средния улов в контролните ловилки ($P > 0.05$).

Експеримент 3. Резултатите от експеримента през 2011 г. показват, че най-голям брой възрастни на *T. dilaticollis* е регистриран в TAL лепливи ловилки с бинарната смес на Z3-6OH и E2-6OH (съотношение 1:1), следвани от уловите в ловилки с Z3-6OH, но уловите в тези варианти ловилки не се различават статистически (Фиг. 4A). Ловилките с двукомпонентната примамка улавят повече от три пъти повече бръмбари на целевия вид в сравнение с контролните ловилки (без примамка).



Фиг. 4. Средни улови (±SE) на *T. dilaticollis* **(A)** и *P. maxillosum* **(B)** в TAL лепливи ловилки с различни примамки, приложени върху диспенсери Just Plastics PE контейнери 2.5 и в контролни ловилки, гр. Кнежа, 14.04 – 19.05.2011 г., 4 повторения. Детайли за означенията – към Фиг. 2.

Освен сив царевичен хоботник при този експеримент са уловени и възрастни на черен цвеклов хоботник *Psallidium maxillosum* Dejean, 1821. Както при *T. dilaticollis* средните улови в ловилките с примамки Z3-6OH + E2-6OH (1:1) са статистически доказано по-високи от тези в контролните ловилки (Фиг. 4B).

Експеримент 4. При сравняване на уловите на сив царевичен хоботник в ловилки с примамка (Z)-3-хексенил бутират (Z3-6Bu) и ловилките без примамка е установено, че уловите в контролите са статистически доказано по-високи от уловите в ловилки с примамка, т.е. изпитаното вещество има доказан инхибиращ (отблъскващ) ефект върху *T. dilaticollis* (t-test).

Експеримент 5. При сравняване на атрактивността на примамки с различни съотношения на Z3-6OH и E2-6OH (1) 100: 10; 2) 100: 50; 3) 100: 100; 4) 50: 100; 5) 10: 100 и 6) 200:200), най-голям среден улов на *T. dilaticollis* е отчетен в ловилките със съотношения 1:1 (100:100 и 200:200). Не е наблюдавана статистически значима разлика между уловите на сив царевичен хоботник в ловилки с различните съотношения на веществата (Kruskal-Wallis chi-squared = 5.895, $P = 0.435$).

4.1.2. Ефект на диспенсера върху активността на примамката

Експеримент 6. Резултатите от този опит, където е използвана една и съща двукомпонентна примамка (Z3-6OH + E2-6OH; 1;1) показват, че средните улови на възрастни индивиди на *T. dilaticollis* в ловилки с диспенсери тип Just Plastics PE контейнери (2.5 ml) са статистически доказано по-високи от уловите в ловилки с другите два типа диспенсери - PE памучни тампони и Kartell PE капсули (1 ml). Не е установена статистическа разлика между средните улови в ловилки с диспенсери PE памучни тампони и Kartell PE капсули (1 ml).

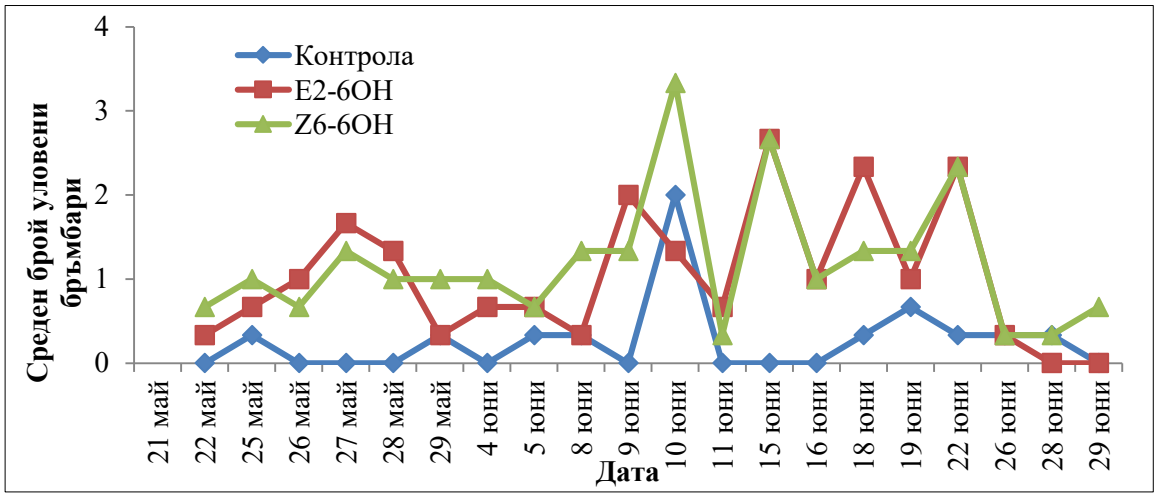
4.1.3. Ефект на дизайна на ловилката

Експеримент 7: Сравнен е ефекта от типа на ловилката върху уловите на неприятеля в комбинация с една и съща примамка (Z3-6OH + E2-6OH; диспенсери: Just Plastics PE контейнери): 1) TAL лепливи ловилки (Csalomon®, Унгария) 2) YATLOR фуниевидни ловилки (RO.SA. Micromecanica s.a.s., Италия) (Yatlor funnel), 3) Pherocon®

Boll weevil trap (Trece Inc., САЩ) (Cone ловилки) и 4) кръгли Pitfall ловилки (диаметър: 14 cm, дълбочина 8 cm) с фуния и пластмасов покрив 30 × 30 cm (Pitfall). Опитът е в 4 повторения. Най-високи улови на сив царевичен хоботник са регистрирани в TAL лепливи ловилки, като разликата в уловите в сравнение с другите ловилки е статистически доказана. Средните улови в лепливите ловилки са около четири пъти по-високи в сравнение с тези в другите типове ловилки.

4.1.4. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Tanymecus dilaticollis* с помощта на лепливи ловилки

През 2009 г., макар и да няма данни за началото и края на активността на *T. dilaticollis* в района на гр. Кнежа поради по-късно започване на опитите, от графиката (Фиг. 5) се вижда, че в периода 21 май – 29 юни 2009 г. улови са регистрирани при всяко отчитане в ловилките с единични примамки (с изключение на последните две дати на юни при ловилки с примамки E2-6OH) без ясно изразени пикове, докато в контролните ловилки при десет от отчитанията не са уловени индивиди на целевия вид.

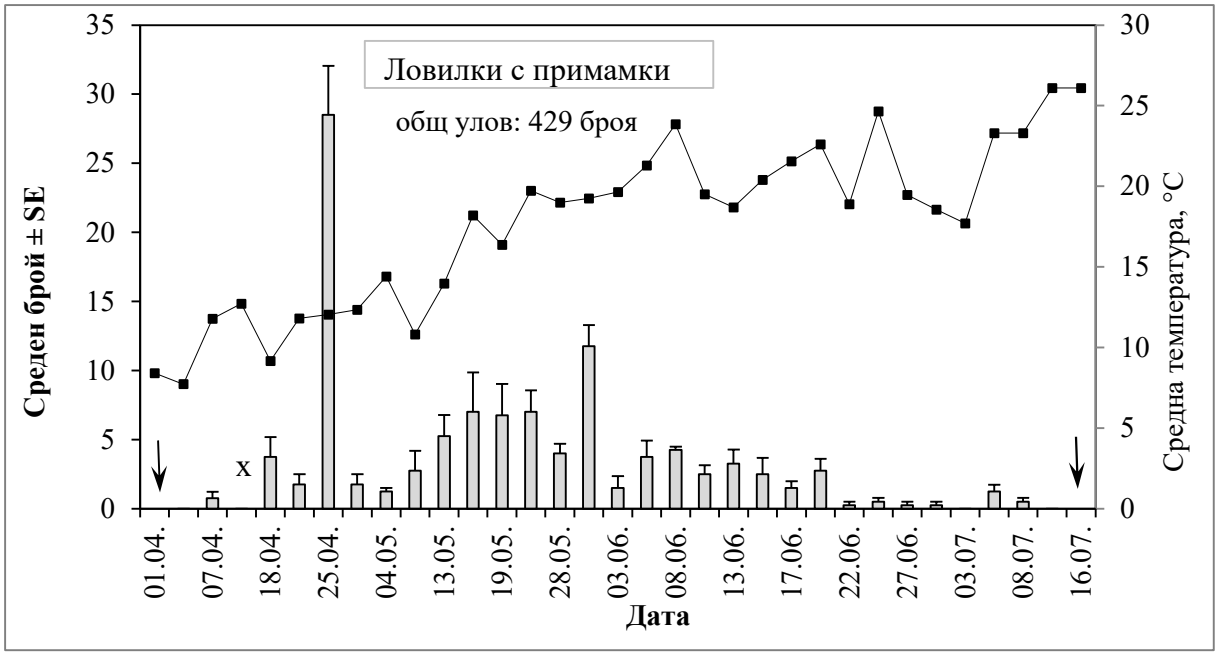


Фиг. 5. Средни улови на *T. dilaticollis* в TAL лепливи ловилки с еднокомпонентни примамки и ловилки без примамки (контрола), приложени върху диспенсери PE памучни тампони, гр. Кнежа, 2009 г., 3 повторения.

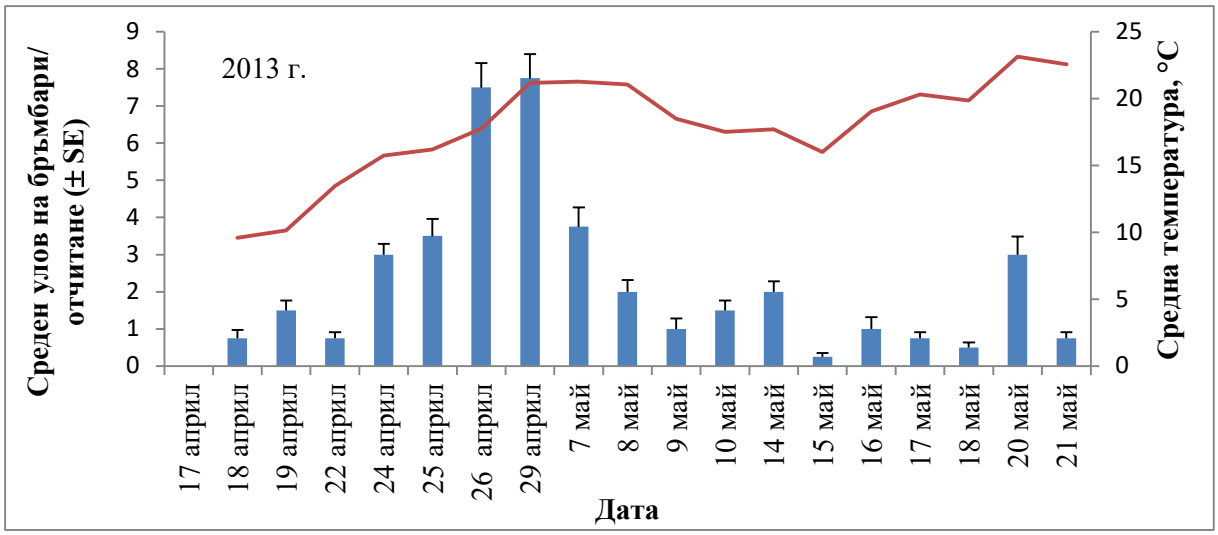
През 2011 г. с помощта на TAL лепливи ловилки с примамки с комбинацията E2-6OH и Z3-6OH (1:1) е регистрирано началото на поява на възрастните на неприятеля - самото начало на април. Периодът с най-многобройни улови на *T. dilaticollis* е 20 - 25

април (Фиг. 6). Друг ясно откроявящ се пик на активност на възрастните индивиди е регистриран през периода втората половина на май – началото на юни, 2011 г. Пиковете на активност на бръмбарите съвпадат с периодите на началните стадии на развитие на царевичните растения – поникване и развитие на млади растения до 5-ти лист, при които хоботникът нанася най-големи повреди. Последни улови на *T. dilaticollis* са събрани на 8 юли 2011 г. При ловилките без примамки периодите са аналогини, но пиковете на активност не са така ясно изразени. В ловилките с примамки са уловени почти два пъти повече бръмбари в сравнение с контролните ловилки и разликата в средните улови е статистически потвърдена ($P = 0.0026$; t-test).

При изследването през 2013 г. се наблюдава ясен пик на активност на възрастните на сивия царевичен хоботник – края на април – началото на май, както и допълнителен по-слабо изразен пик след средата на май 2013 г (Фиг. 7).



Фиг. 6. Средни улови (±SE) на *T. dilaticollis* в TAL лепливи ловилки с примамки със състав от E2-6OH и Z3-6OH (1:1), приложени върху диспенсери Just Plastics PE контейнери 2.5 ml, гр. Кнежа, 2011 г., 4 повторения. Кривата отразява средната температура, °C. Стрелките показват началото и края на периода на мониторинг, а X – дата, в която липсват улови поради разрушение на ловилките отсилен вятър.



Фиг. 7. Средни улови (± SE) на *T. dilaticollis* в TAL лепливи ловилки с двукомпонентни примамки, гр. Кнежа, 2013 г., 4 повторения.

4.1.5. Изследване на атрактивността на живи насекоми на вида в полето

При изследване на атрактивността на живи мъжки и женски индивиди (в метални кафезчета по 5 броя от всеки пол и с добавени листа от царевица) улови на възрастни индивиди на сивия царевичен хоботник са установени във всички изпитани варианти ловилки. Най-висок среден улов на мъжки бръмбари е регистриран в ловилки с живи женски индивиди. Установена е статистически достоверна разлика между средните улови на мъжките в ловилки с примамки живи женски и контролните ловилки ($P \leq 0.05$, ANOVA, LSD test).

От друга страна най-висок среден улов на женски индивиди на *T. dilaticollis* е регистриран в ловилки с примамка от живи мъжки, но статистически достоверна разлика в уловите в ловилки с тази примамка и останалите изпитани варианти – живи женски и контрола, не е установена.

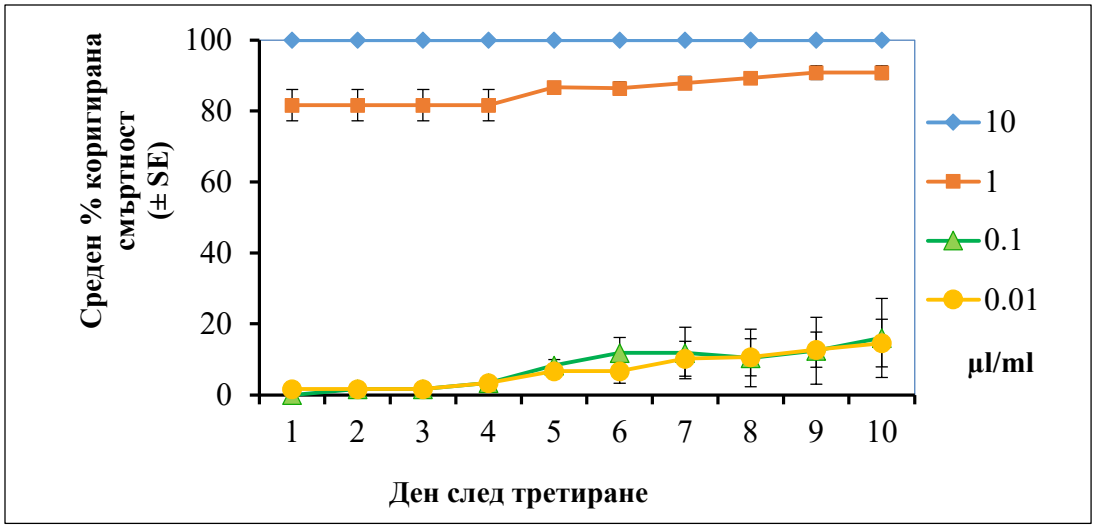
4.1.6. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис спрямо *Tanymecus dilaticollis* в полеви условия

Резултатите от изпитване на ефекта на Натуралис в полето показват ниска средна смъртност (0.12 ± 0.33) на възрастните на сивия царевичен хоботник в контролния вариант (третиране с чешмяна вода). Средният брой загинали бръмбари в парцелките, третирани с

двете дози на Натуралис е статистически доказано по-висок в сравнение с този в контролите. Потвърждение, че насекомите са умрели от микоза, е наличието на бял налеп върху умрелите насекоми няколко дни след поставянето им върху влажна филтърна хартия в чисти петриеви блюда при стайна температура. От друга страна е регистриран най-висок брой живи бръмбари в контролните варианти, но статистическият анализ на данните не показа значими различия в средния брой живи бръмбари в контролата и вариант Натуралис в доза 200 ml/da.

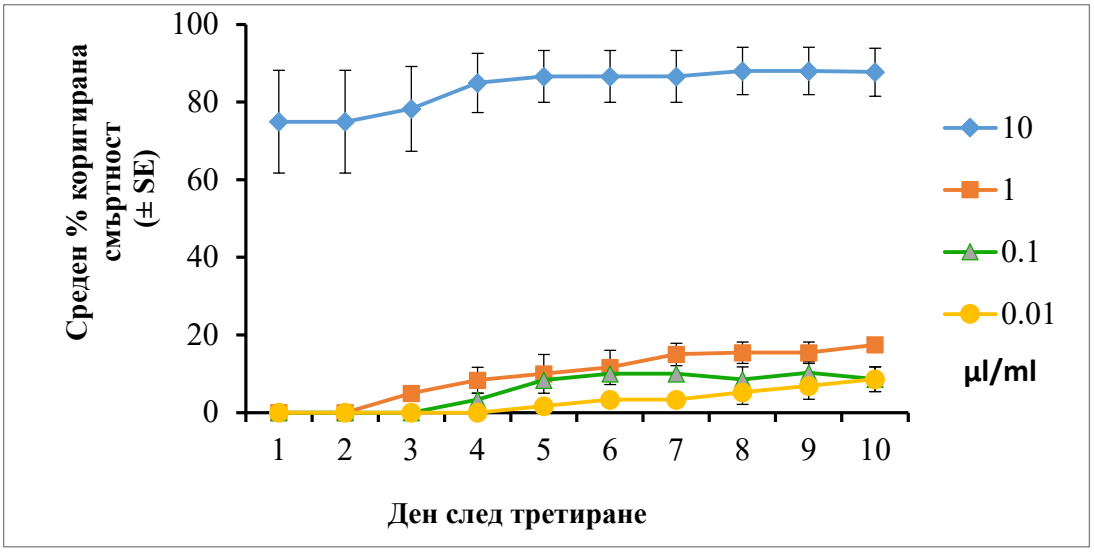
4.1.7. Ефект на ЕМ от бял риган върху възрастни индивиди на *Tanymecus dilaticollis* в лабораторни условия

При опита с третиране на субстрата в петриевите блюда, средната смъртност на опитните насекоми в контролния вариант е 8%. При този опит установихме 100% коригирана смъртност на насекомите в първите минути след третиране с най-високата концентрация на ЕМ (10 µl/ml) (Фиг. 8). Ефективна е и концентрацията от 1 µl/ml - средната коригирана смъртност е 82% от първия ден на изследването до 91% в последните дни. При най-ниските изпитани концентрации ефектът на ЕМ е относително слаб – средната коригираната смъртност 15-16% в края на наблюдението. След края на наблюденията LC_{50} е 0.14 µl/ml (ДИ: 0.013 - 1.21 µl/ml), докато стойността на LC_{90} е 0.83 µl/ml (ДИ: 0.09 – 7.43 µl/l ml).



Фиг. 8. Летален ефект на ЕМ от бял риган върху възрастни на *T. dilaticollis*, изпитано в различни концентрации при експеримент в Петриеви блюда.

При опита с индивидуално третиране на насекомите средната смъртност в контролния вариант е 5%. Висока инсектицидна активност показа само най-високата изпитана концентрация с 88% смъртност в края на изследването (Фиг. 9). Важно е да се отбележи, че смъртността на по-голямата част от насекомите в този вариант настъпва в рамките на половин час след третирането. При другите концентрации на десетия ден от третирането смъртността е ниска – съответно 17 % и 9 % при концентрацията от 1 µl/ ml и при другите два варианта. На десетия ден LC_{50} и LC_{90} са съответно 1.14 µl/ ml (ДИ: 0.022 – 49.35 µl/ ml) и 16.42 µl/ ml (ДИ: 0.38 – 713.71 µl/ ml).



Фиг. 9. Летален ефект на ЕМ от бял риган, изпитано в различни концентрации при експеримент с индивидуално третиране на насекомите и наблюдавани в контейнери с мрежи.

При двата опита най-ниско средно летално време LT_{50} е постигнато при двете най-високи изпитани концентрации на ЕМ. При опита с третирания върху филтърната хартия в Петриеви блюда още при концентрация 1 µl/ml LT_{50} е 28 min, докато при опита с директно третиране върху насекомите LT_{50} при най-високата концентрация (10 µl/ml) е 173 min.

4.1.8. Ефект на ЕМ от бял риган върху царевица в лабораторни условия

Царевичните растения, третирани с най-високата концентрация на ЕМ от бял риган (100 µl/ml), показаха ясно изразени фитотоксични симптоми - около 3 часа след

третирането е наблюдавано покафеняване на листата, а до четвъртия ден от наблюденията всички растения напълно загиват.

При третиране на опитните растения с концентрация 10 µl/ml на ЕМ са наблюдавани леки симптоми на увреждане при 66% от растенията, през първите три дни (оценка 1), но на четвъртия ден растенията се възстановиха напълно и не показваха допълнителни признаци на фитотоксичност и развитието им протича нормално, подобно на растенията, третирани с дестилирана вода.

През десетдневния период на наблюдения не са установени симптоми на фитотоксичност при царевични растения, третирани с концентрации 0.1 µl/ml и 1 µl/ml на етерично масло, както и при контролните варианти (дестилирана вода, дестилирана вода с Tween) и при Моспилан 20 СП.

4.1.9. Ефект на ЕМ от бял риган върху царевица в полеви условия

В полеви условия царевичните растения в контролните варианти не проявяват никакви симптоми за фитотоксичен ефект през десетте дни на наблюдение. Листата на растенията, третирани с концентрация 100 µl/ml, покафеняват приблизително 6 часа след приложението на ЕМ, но постепенно се възстановяват и до осмия ден от наблюденията не показват видими симптоми на увреждане и се развиват подобно на царевицата в контролните варианти. Слаби фитотоксични симптоми са регистрирани и при концентрация 10 µl/ml, но растенията се възстановяват напълно до третия ден. При останалите варианти растенията са здрави и се развиват нормално.

4.1.10. Ефект на продукти с ентомопатогенни нематоди в полето

Опити в открити площи: Установена е значителна разлика между средния брой хоботници в парцелите със семена, третирани с Гаучо 600 ФС/Nemastar® и тези с биологично третиране на семената със или без ентомопатогенни нематоди. След второто третиране с нематоди анализът не показа съществени различия в числеността на възрастните (Kruskal-Wallis тест, $P = 0.07$).

Общият брой мъртви възрастни индивиди на *T. dilaticollis* е 34, като 62% от тях са открити в парцелите със семена, третирани с Гаучо 600 ФС и напръскани с Nemastar®,

следвани от 26% в парцелите със семена, третирани с Натуралис и напръскани с Nemastar®. Само по два мъртви екземпляра са открити във всеки контролен парцел.

След второто пръскане с нематоди в периода 19 май – 3 юни 2022 г. са наблюдавани общо 69 живи и 10 мъртви възрастни на сивия царевичен хоботник. Числеността на живите хоботници е сходна (11–12 индивида; 0.4–0.5 хоботника/m²), независимо от типа третиране на семената. Мъртви хоботници са регистрирани само в парцелите със *S. carpocapsae* – 40% при биологично и 60% при химично третиране на семената.

Ентомопатогенни нематоди са открити само в единични мъртви екземпляри от парцелите, третирани с нематоди, събрани на 16, 20 и 23 май 2022 г.

Полуполеви опити в кафези (изолатори): В полуполевите тестове броят на живите хоботници варира, но средният брой е сходен независимо от третирането. След първото пръскане са наблюдавани единични мъртви екземпляри. В кафезите с Nemastar® мъртви възрастни се появяват още от първия ден, докато в контролните кафези са регистрирани само два мъртви екземпляра съответно на 12 май и 16 май 2022 г. Във втория опит броят на живите *T. dilaticollis* намалява с времето – от 14–18 броя в началото (20 май 2022 г.) до 1–6 хоботника в края на наблюдението (10 юни 2022 г.). Смъртността на опитните индивиди в кафезите, напръскани с Nemastar® е ниска – 14% в Експеримент 1 и 18% в Експеримент 2, но по-висока от тази в контролните кафези (2% и 1%). Смъртността е малко по-висока при химично третиране на семената.

Ентомопатогенни нематоди са открити само в мъртвите екземпляри от третираните кафези. В Експеримент 2 броят на загиналите хоботници е над 4 пъти по-висок в сравнение с загиналите бръмбари при Експеримент 1, вероятно поради по-голямата влажност и по-високата плътност на насекомите.

Опит с капани Nematop® Käfer-Stopp: Средният брой живи и мъртви *T. dilaticollis* в радиус от 5 м около капаните с гел с инвазионни ларви на *S. carpocapsae* е относително нисък и без съществени различия между вариантите на площите с различен тип на третиране на семената ($P = 0.764$ за живи; $P = 0.321$ за мъртви индивиди). След дисекции на намерените умрели хоботници нематоди са установени само в един мъртъв екземпляр.

4.1.11. Обсъждане на резултатите за *Tanymecus dilaticollis*

Въпреки че *T. dilaticollis* е икономически важен многояден неприятел в Източна Европа, неговата химическа екология не е проучена. За първи път в резултат на комбинация от методи, включително поведенчески изпитвания в ИЦ Кнежа на кандидати за растителни аткрактанти с помощта на ловилки, са установени две синтетични растителни вещества, които привличат възрастните индивиди на неприятеля (Toshova et al. 2010; El-Sayed, 2026). (*E*)-2-хексен-1-ол (E2-6OH) и (*Z*)-3-хексен-1-ол (Z3-6OH) привличат двата пола в полето поради което считаме, че те функционират като хранителни атрактанти. Съотношението на летливите съединения Z3-6OH и E2-6OH не оказва влияние върху улова на *T. dilaticollis*. В това изследване е сравнена ефективността на три типа диспенсери, съдържащи едни и същи химични компоненти. Според резултатите диспенсерът тип Just Plastics PE контейнер, 2.5 ml показва по-висока ефективност в сравнение с Kartell PE капсули, 1 ml и PE памучни диспенсери. Значение за активността на кайромонния атрактант имат и параметрите на ловилката. Изборът на дизайни на ловилки за сравнение, разположени върху почвата или вкопани в почвата се основава на особености в поведението на сивия царевичен хоботник - бръмбарите основно пълзят по почвата или растителността. Нашите резултати показват, че TAL лепливите ловилки (модифицирани ловилки тип капани с покрив и рампа) са най-подходящи за улавяне на възрастни *T. dilaticollis* в сравнение с ловилки за памуков хоботник, Yatlor фуниевидни ловилки (много ефективни за улов на възрастни на телените червеи) и кръгли капани с фуния и с покрив.

Резултатите, получени през 2011 г. с помощта на ловилки тип TAL с леплива повърхност на дъното и с примамки Z3-6OH и E2-6OH (1:1) (приложени върху английски диспенсери), сменяни с нови на интервали 3-4 седмици, показват, че презимувалите възрастни на *T. dilaticollis* са активни през периода от началото на април до началото на юли. Това ни дава основание да направим обобщението, че те могат да бъдат използвани като средство за мониторинг на активността на възрастните на сивия царевичен хоботник.

Предварителните резултати от полево изпитване на ефекта на Натуралис, изпитан в две дози (100 ml/da и 200 ml/da) показват, че по-високата доза и повторното приложение значително допринасят за неговото действие. Тези данни в комбинация с предхождащите резултати от лабораторните опити (Toshova et al., 2021) са основа за по-нататъшни

изследвания с биоинсектицида, които да потвърдят високата му ефективност срещу *T. dilaticollis* при царевица.

На базата на лабораторните опити с ЕМ от бял риган установихме, че само най-високите концентрации показват силна инсектицидна активност спрямо възрастните на *T. dilaticollis* съответно 1 µl/ml и 10 µl/ml при опита с третиране на филтърна хартия в петриеви блюда и 10 µl/ml при опита с индивидуално приложение на растителния екстракт върху насекомите. Най-високата изследвана концентрация (10µl/ml) предизвика изключително бърза смъртност, като при опита с третиране на субстрата се наблюдава 100% смъртност още в първите минути след експозицията. Тези резултати показват, че ЕМ има силно контактно и вероятно фумигантно действие върху насекомите.

В заключение може да се отбележи, че етеричното масло от бял риган показва значителен потенциал за използване в биологичната защита на растенията срещу *T. dilaticollis*. Необходими са обаче допълнителни изследвания за определяне на оптималните дози, начините на приложение и ефективността му при полски условия.

Етеричното масло от бял риган в концентрации до 10 µl/ml е приложимо за по-нататъшни изследвания като биоинсектицид срещу възрастни индивиди на сив царевичен хоботник в царевични насаждения, тъй като рискът от перманентни фитотоксични повреди при царевицата в полеви условия е минимален. От друга страна за да се повиши приложимостта на ЕМ в земеделската практика, е необходимо разработването на подходящи формулационни стратегии.

Резултатите от полските опити с Nemastar® в открити царевични посеви показаха, че: 1) Плътността на популацията на сивия царевичен хоботник е относително ниска по време на изследването; 2) Средният брой живи хоботници е значително по-нисък в парцелите с третирани със Гаучо семена в сравнение с биологично третираните; 3) Средният брой мъртви възрастни на *T. dilaticollis* е по-висок в парцелите, третирани с Nemastar®, отколкото в контролните варианти, където не е използван препарат с ентомопатогенни нематоди и 4) Ентомопатогенни нематоди са регистрирани само в микроскопски препарати от мъртвите възрастни на *T. dilaticollis* във вариантите с Nemastar®.

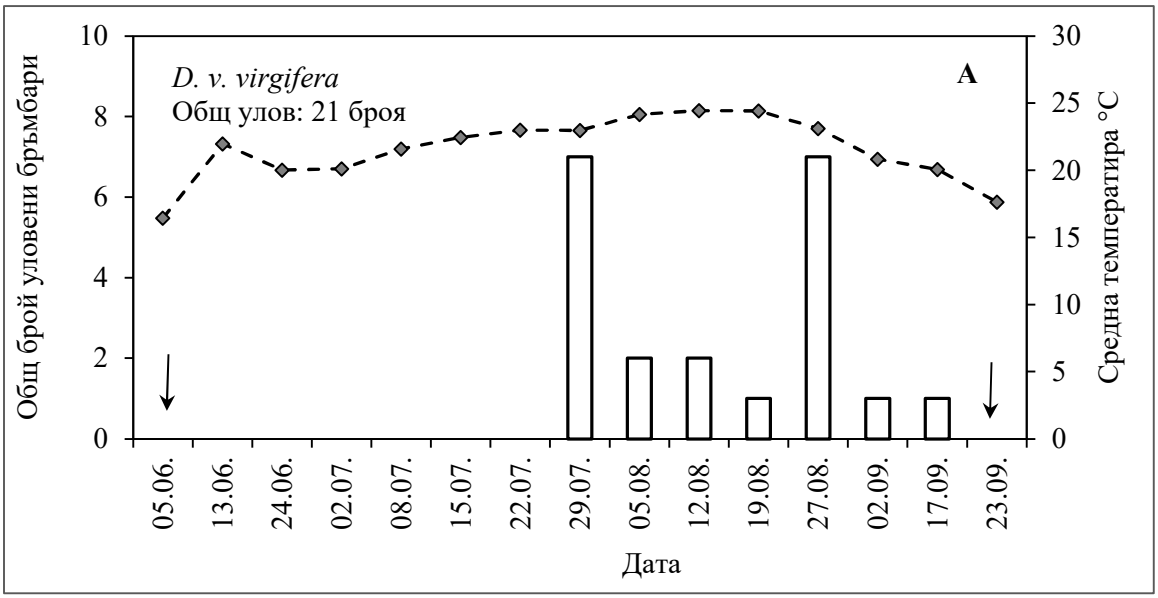
Настоящото изследване е първото, при което ентомопатогенни нематоди са регистрирани при сивия царевичен хоботник. Липсата на ентомопатогенни нематоди в

контролните варианти показва отсъствие на местна популации на *S. carpocapsae* и липса на разпространение от третираните участъци.

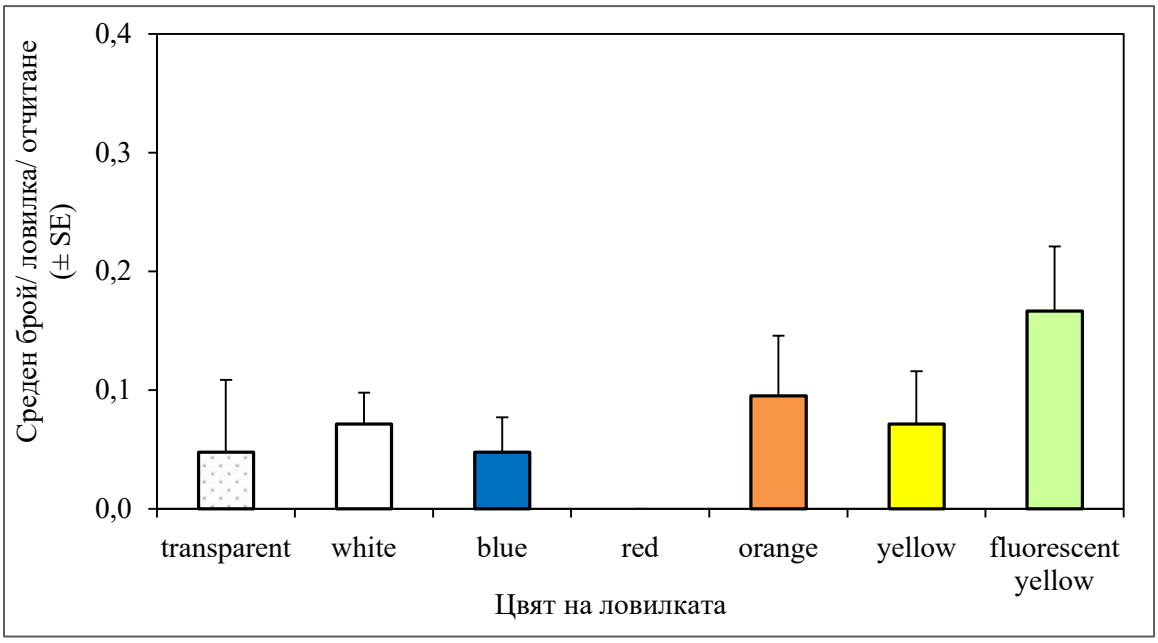
4.2. *Diabrotica virgifera virgifera*

4.2.1. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* с помощта на цветни лепливи ловилки без примамки

Въпреки ранното поставяне на ловилките в полето от началото на месец юни 2014 г., 21 броя възрастни на *D. v. virgifera* са регистрирани чак в периода 22 юли – 17 септември 2014 г. (Фиг. 10). Във всички ловилки са регистрирани улови с изключение на червените лепливи ловилки (Фиг. 11). Най-висок среден брой бръмбари са уловени във флуоресциращо жълтите лепливи ловилки, но не е установена статистически доказана разлика между средните улови в изпитаните варианти.



Фиг. 10. Сезонна активност на възрастни индивиди на *D. v. virgifera* в ИЦ през 2014 г.

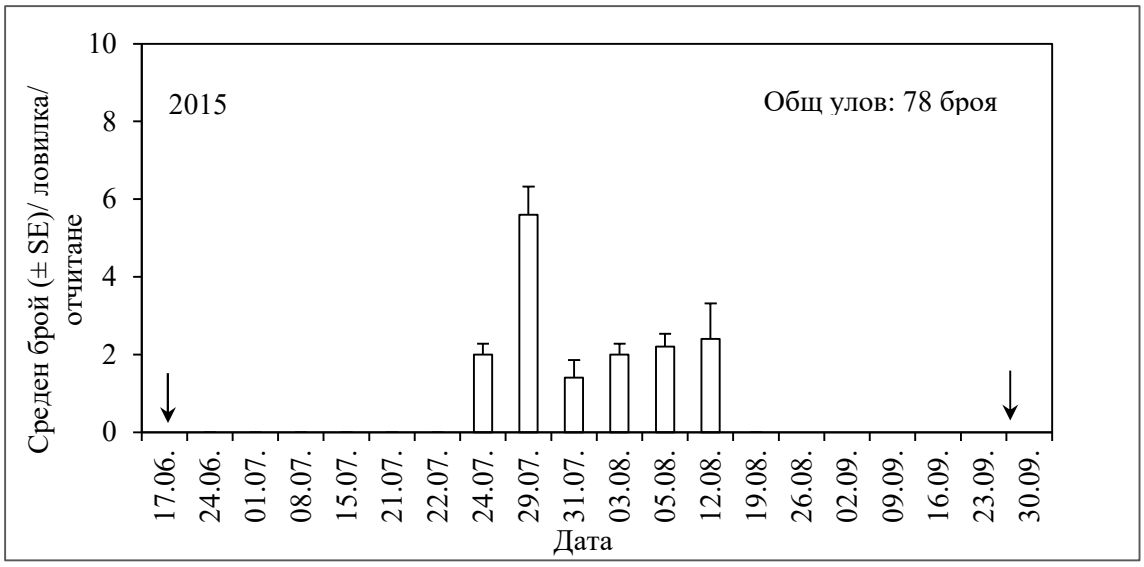


Фиг. 11. Разпределение на средните улови на възрастни индивиди на *D. v. virgifera* в прозрачни и цветни (бели, сини, оранжеви, жълти и флуоресциращо жълти) лепливи ловилки през 2014 г., 6 повторения.

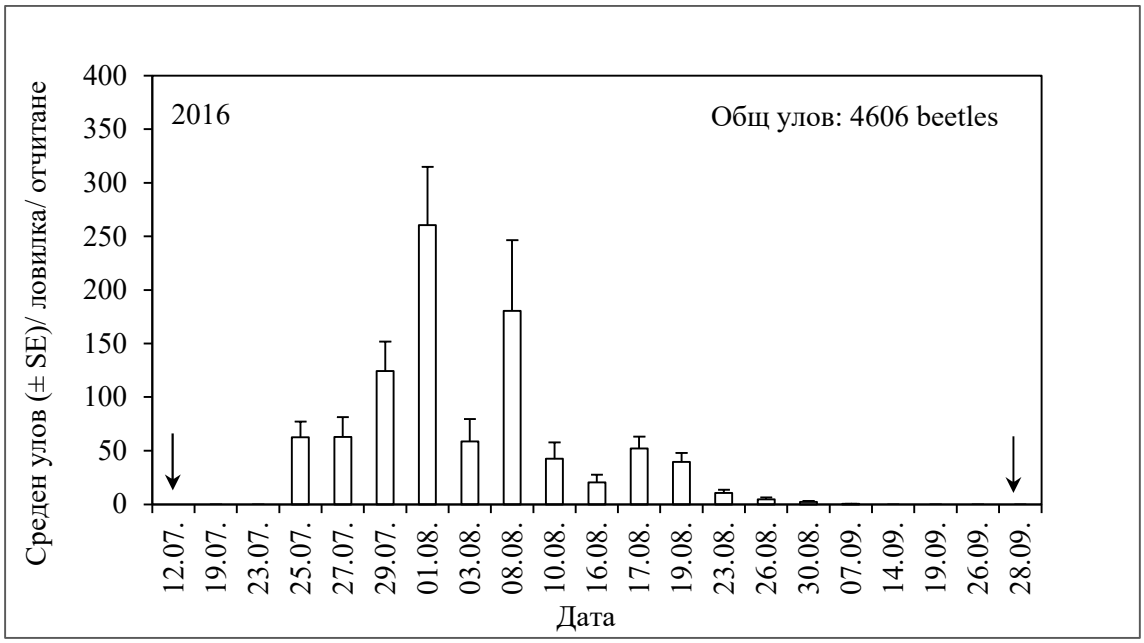
4.2.2. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* с помощта на KLP+ ловилки с феромонни и растителни примамки

През 2015 г. въпреки навременно поставяне на ловилките в полето в средата на юни, както и регулярна смяна на примамките, първи улови на *D. v. virgifera* са регистрирани през периода 22-24 юли 2015 г (Фиг. 12). Най-голям среден улов е установен в края на юли, а последните улови - в периода 5-12 август 2015 г. През 2016 г. появата на възрастни на неприятеля е регистрирана през периода 23-25 юли (Фиг. 13). Западният царевичен коренов червей е най-многоброен в края на юли – началото на август. През 2016 г. улови на възрастни индивиди на западния царевичен коренов червей са наблюдавани до началото на септември.

Относително висока популационна плътност на възрастни на западния царевичен коренов червей в ИЦ, гр. Кнежа е установена през 2016 г. – общите улови на неприятеля в ловилките с примамки надвишават около 60 пъти тези през 2015 г.



Фиг. 12. Сезонна активност на възрастни индивиди на *D. v. virgifera* през 2015 г., установена с KLP+ ловилки с двойна примамка (феромонна и растителна). Стрелките показват датите на начало и край на изследването.



Фиг. 13. Сезонна активност на възрастни индивиди на *D. v. virgifera* през 2016 г.

4.2.3. Влияние на нюанса на жълтия цвят на ловилката в комбинация с феромонна и растителна примамки

През 2017 г. и 2018 г. не е установена статистически достоверна разлика в уловите в жълти и флуоресциращо жълти KLP+ ловилки с примамки при една и съща височина на

разположение на ловилките. През 2017 г. по-високи улови са регистрирани в жълтите ловилки, докато през 2018 г., когато популационната плътност на *D. v. virgifera* е относително по-висока, бръмбарите са по-многобройни във флуоресциращо жълтите ловилки.

4.2.4. Мониторинг на сезонната активност на възрастните на *Diabrotica virgifera virgifera* в царевични култури с различно третиране на семената (биологично и химично)

През 2022 г. в периода на изследването е установено сходно обилие на възрастни индивиди на *D. v. virgifera* в ловилките в площите с различно третиране на семената на царевицата. Началото на летежа е изпуснато. Улови на целевия вид са регистрирани от края на юни до началото на септември, като те са най-високи през юли.

4.2.5. Ефект на ЕМ от бял риган върху възрастни индивиди на *D. v. virgifera* в лабораторията

В края на лабораторните експерименти средната смъртност на възрастните индивиди на *D. v. virgifera* в контролните групи достига 12% (SE: ± 2%) при опита с чисто ЕМ и 18% (SE: ± 3%) при разтворено ЕМ с 0.01 % Tween 80.

При първия опит всички варианти с чисто (неразтворено) ЕМ (3 µl, 5 µl и 10 µl) предизвикват висока смъртност на възрастните на *D. v. virgifera*, достигаща 98–100% в рамките на десет дни. При най-голямото количество ЕМ (10 µl) 100% смъртност е постигната още на втория ден след третирането, докато при 5 µl всички опитни насекоми загинаха до седмия ден след третирането. Установени са статистически значими разлики в нивото на смъртност в зависимост от количеството на ЕМ ($F_{2,90} = 26.35$; $P < 0.001$), времето на експозиция ($F_{9,90} = 31.43$; $P < 0.001$) и тяхното взаимодействие ($F_{18,90} = 7.07$; $P < 0.001$). LT_{50} намалява с увеличаване на количеството на ЕМ – от няколко часа (средна стойност: 6.86 h; 95% ДИ: 3.14–13.81 h) до няколко минути от началото на теста (средна стойност: 8.39 min; 95% ДИ: 2.27–24.00 min).

Резултатите от изпитванията с разредено ЕМ показаха, че най-високата концентрация (10 µl/ml) предизвиква 100% смъртност на възрастните западния царевичен коренов червей три дни след експозиция, докато 92% смъртност е постигната след девет дни при

концентрация 1 µl/ml. Двуфакторният ANOVA показва значими ефекти на концентрацията на ЕМ ($F_{3,120}$ = 157.77; P < 0.001), времето на експозиция ($F_{9,120}$ = 17.29; P < 0.001) и тяхното взаимодействие ($F_{27,120}$ = 3.93; P < 0.001) върху смъртността на насекомите. Един ден (24 часа) след експозицията LC_{50} и LC_{90}са съответно 0.62 µl/ml (95% ДИ: 0.06–6.29 µl/ml) и 5.77 µl/ml (95% ДИ: 0.57–58.44 µl/ml). Десет дни след третирането тези стойности намаляват до 0.03 µl/ml (95% ДИ: 0.01–0.10 µl/ml) за LC_{90} и 0.36 µl/ml (95% ДИ: 0.09–1.40 µl/ml) за LC_{90}.

Леталното време (LT_{50}) намалява с увеличаване на концентрацията на ЕМ. При нашите опити времето, необходимо на разтворите на ЕМ да предизвикат LT_{50} при *D. v. virgifera*, варира от 17.95 дни (95% ДИ: 10.05–35.15 дни) при най-ниската концентрация (0.01 µl/ml) до 90 min (95% ДИ: 36–193 min) при най-високата концентрация (10 µl/ml).

4.2.6. Изпитване на леталното действие на щам на *Metarhizium pemphigi* върху възрастни индивиди на *Diabrotica virgifera virgifera* в лабораторията

В края на лабораторния експеримент с *M. pemphigi* в петриеви блюда средната смъртност на възрастните индивиди на *D. v. virgifera* в контролната група достигна 10% (SE: ± 1%). Всички концентрации на конидиите на *M. pemphigi* показват патогенност към възрастните индивиди на западния царевичен червей при лабораторни условия. Мъртвите насекоми от третиранията с конидии на *M. pemphigi* показват позеленяване - типични симптоми на инфекция с *Metarhizium* (гъбите от този род са известни като зелена мускардина). Това е първото потвърдено наблюдение на патогенност на този вид гъба срещу *D. v. virgifera*. Смъртността на *D. v. virgifera* в резултат на инфекция с *M. pemphigi* се увеличава с нарастване на концентрацията на конидиите и времето на излагане. В контролната група не са отчетени мъртви насекоми, които да показват симптоми на микоза. Средната смъртност на западния царевичен червей варира от 3% до 50% за концентрации от 2 × 10^3 конидии/ml до 2 × 10^7 конидии/ml седем дни след третиране. Максималната смъртност на възрастните индивиди на *D. v. virgifera* достигна 73% десет дни след третиране с най-високата концентрация на конидиалната суспензия (2 × 10^7 конидии/ml). Смъртността при междинна концентрация (2 × 10^5 конидии/ml) е 33% за същия период. Концентрацията на конидии, която предизвиква LC_{50} за възрастните индивиди на западния царевичен коренов червей след десет дни, е 3.3 × 10^6 конидии/ml

(95% доверителен интервал: $1.4 \times 10^5 – 1.0 \times 10^7$ конидии/ml), докато LC_{90} е 5.1×10^8 конидии/ml (95% доверителен интервал: $9.1 \times 10^7 – 1.5 \times 10^{10}$ конидии/ml). Стойностите на средното летално време LT_{50} варират от 25.86 дни до 7.19 дни съответно за най-ниската и най-високата концентрация.

4.2.7. Обсъждане на резултатите за *Diabrotica virgifera virgifera*

За първи път у нас се изпитва ефективността на KLP+ ловилки в комбинация с две примамки – феромонна и растителна. Този тип ловилки се характеризира с голям събирателен контейнер и са лесни за употреба. Съчетаването на две примамки увеличава ефективността на ловилката.

Резултатите от изследванията ни на ефекта на цвета на лепливи PAL ловилки и на нюанса на жълтия цвят на KLP+ ловилката потвърждават данните от Tóth et al. (2003), според които флуоресциращо жълти PAL лепливи ловилки улавят по-висок среден брой бръмбари на *D. v. virgifera* от ловилки с други цветове без примамки, без да са установени статистически значими различия между изпитаните варианти.

Получените резултати показват потенциал за приложение на KLP+ ловилки Csalomon® с феромонна и растителна примамка в мониторинговите системи у нас – за обследване, установяване на появата на възрастните и проследяване на динамиката на летеж на възрастните.

Резултатите от проведените опити показаха, че ЕМ от бял риган е изключително ефективно срещу възрастните индивиди на *D. v. virgifera*.

Резултатите от настоящото изследване показват, че както чистото етерично масло от бял риган в количества от 3 до 10 µl, така и неговите разтвори с концентрации над 1 µl/ml (0.1%) предизвикват много висока смъртност при възрастните на *D. v. virgifera* – над 98% при опитите с чисто масло и над 92% при емулсиите.

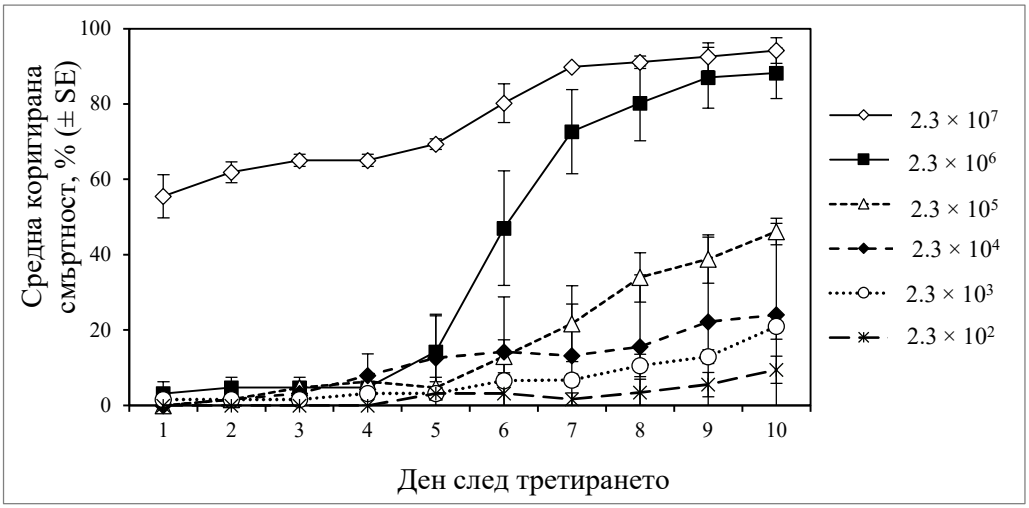
Наблюдаваната висока инсектицидна активност на ЕМ от бял риган срещу възрастните на *D. v. virgifera* при лабораторни условия е достатъчно основание за провеждане на допълнителни изследвания. Получените резултати представляват солидна основа за потенциалното използване на ЕМ от бял риган като ботанически инсектицид в рамките на програми за ИУВ за контрол на западния царевичен коренов червей.

Резултатите от експеримента с ентомопатогенната гъба в лабораторни условия показва, че щамът AMEP28 на *M. pemphigi* може да инфектира и да причини летално действие спрямо възрастни индивиди на западния царевичен коренов червей, но само най-високата концентрация на конидиална суспензия (2×10^7 конидии/ml) причинява висок процент смъртност (73%) след период на експозиция 10 дни.

4.3. *Oulema melanopus*

4.3.1. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис върху възрастни индивиди на *Oulema melanopus* в лабораторни условия

При опита с третиране на възрастни на *O. melanopus* с Натуралис в петриеви блюда средната смъртност на опитните насекоми в контролния вариант е 17 % (SE: ± 2). В рамките на периода на изследване (10 дни) биоинсектицидът Натуралис (*B. bassiana*), изпитан в шест концентрации (2.3×10^2 - 2.3×10^7 конидии/ml дестилирана вода с 0.01% Twen 80) върху възрастни на *O. melanopus* в лабораторни условия, предизвиква висока смъртност при двете най-високи концентрации 2.3×10^6 конидии/ml и 2.3×10^7 конидии/ml, съответно 86% и 93% коригирана смъртност спрямо контролата (Фиг. 14). Леталният ефект се увеличава с увеличаване на концентрацията на препарата. Ефектите на концентрацията ($F_{(5,180)}$=63.88; $P < 0.001$) и времето на излагане ($F_{(9,180)}$=23.23; $P < 0.001$) върху смъртността на възрастните *O. melanopus* са стаистически значими. Установено е статистически значимо взаимодействие между концентрацията и времето на излагане на насекомите на препарата ($F_{(45,180)}$=1.57; $P = 0.029$). Различията в нивото на смъртност между възрастните на обикновената житна пиявица, третирани с различни концентрации на конидиите, е значима ($F_{(5,18)} = 7.42$; $P = 0.003$). Високо ниво (> 88%) на смъртност е наблюдавано само при двете най-високи концентрации на конидиите, 2.3×10^6 и 2.3×10^7 конидии/ml, като има значима разлика със средната смъртност, причинена от концентрации от 2.3×10^2 – 2.3×10^4 конидии/ml (ANOVA, последван от LSD тест; $P < 0.05$). Конидиалните суспензии, които причиняват LC_{50} и LC_{90} на възрастните *O. melanopus*, са съответно 8.3×10^4 конидии/ml (95% ДИ: 1.1×10^4 – 9.1×10^5 конидии/ml) и 8.2×10^6 конидии/ml (95% ДИ: 7.5×10^5 – 8.9×10^7 конидии/ml).



Фиг. 14. Кумулативна смъртност (%) на възрастните индивиди на *O. melanopus*, третирани с различни концентрации на *B. bassiana* ($2.3 \times 10^2 – 2.3 \times 10^7$ конидии/ml).

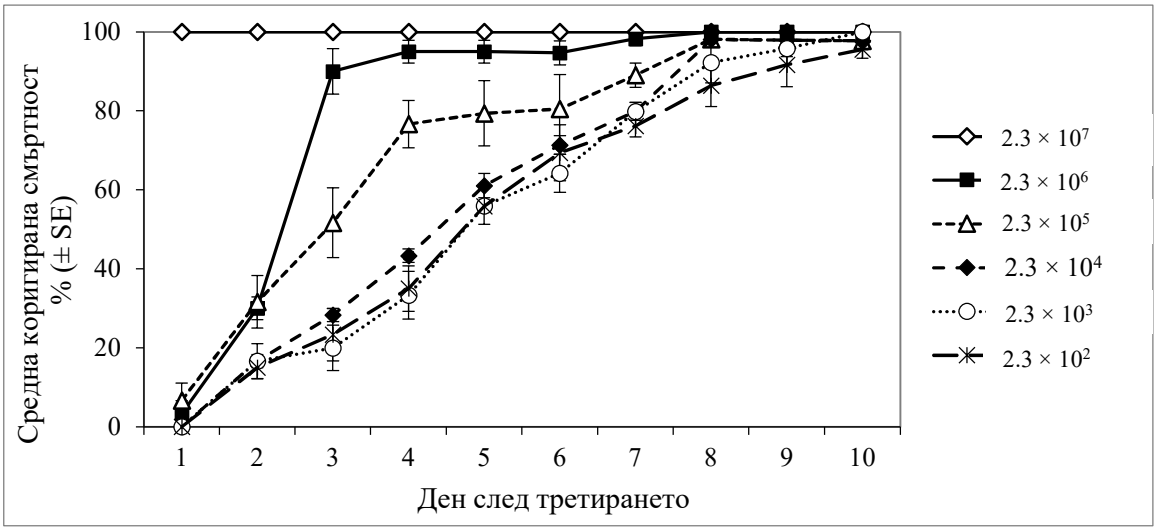
Гъбен мицел е наблюдаван само върху труповете на възрастни на обикновената житна пиявица, третирани с *B. bassiana*. Само 2% от мъртвите възрастни във вариантите с Натуралис са без бял мицел. При най-ниската концентрация на гъбата 11% от мъртвите възрастни показват наличие на бял мицел. Максималният процент на мъртви възрастни с микоза е регистриран при най-високата тествана концентрация. Стойностите на LT_{50} варират между 26 дни при най-ниската концентрация до два дни при най-високата концентрация на конидиите на продукта.

4.3.2. Изпитване на ефективността на биоинсектицида Натуралис върху ларви на *Oulema melanopus* в лабораторни условия

Средната смъртност на ларвите на *O. melanopus* в контролния вариант на този опит е 26.7% (SE: ± 1.7%). Средният процент смъртност на ларвите, третирани с Натуралис, е зависим от концентрацията и се увеличава с нарастването на броя конидии и с времето на експозиция. В края на експеримента е наблюдавана висока коригирана смъртност (> 95%) на ларвите при всички суспензии (Фиг. 15). Ларвите на *O. melanopus*, третирани с най-високата концентрация, умират в рамките на 24 часа след експозицията. Дисперсионният анализ по отношение на концентрацията на *B. bassiana* ($F_{(5,180)} = 55.66$; $P < 0.001$), продължителността на експозиция ($F_{(9,180)}=218.74$; $P < 0.001$) и тяхното взаимодействие ($F_{(45,180)} = 10.65$; $P < 0.001$) показва силно значими ефекти върху нивата на смъртност на

ларвите на обикновената житна пиявица. Концентрацията на конидиите, която предизвиква LC_{50} за ларвите на *O. melanopus* след 10 дни, е 4.6 конидии/ml (95% ДИ: 0.09 – 1.1 × 10^4 конидии/ml), докато LC_{90} е 6.2 × 10^2 конидии/ml (95% ДИ: 0.26 – 1.5 × 10^6 конидии/ml). Стойностите на LT_{50} варират от два до четири дни за концентрации от 2.3 × 10^2 до 2.3 × 10^6 конидии/ml.

Заразените ларви показват 100% побеляване, което е ясен симптом за развитие на гъбния патоген (микоза). Това показва, че смъртността е в резултат на действие на препарата независимо от концентрацията, докато при загиналите в контролната група не се наблюдаваха симптоми на мицелен растеж.



Фиг. 15. Кумулативна смъртност (%) на ларви от *O. melanopus*, третирани с различни концентрации на *B. bassiana* (2.3 × 10² – 2.3 × 10⁷ конидии/ml).

4.3.2. Обсъждане на резултатите за *Oulema melanopus*

Това е първото изследване, което описва чувствителността на различни стадии от развитието на този вид към различни концентрации на търговския щам *B. bassiana* ATCC 74040. Резултатите от настоящото проучване показват, че ларвите на *O. melanopus* са много чувствителни към Натуралис с кумулативна смъртност над 96% за широк диапазон от концентрации (2.3 × 10^2 - 2.3 × 10^7 конидии/ml). Висока смъртност при възрастните на

обикновената житна пиявица се наблюдава само при най-концентрираните суспензии на продукта.

В обобщение, сравнителните резултати ясно показват, че ефективността на Натуралис е силно зависима от гостоприемника, като се наблюдава отчетлива градация на чувствителността на възрастните индивиди на изследваните видове твърдокрили при лабораторни изпитвания: *T. dilaticollis* > *D. v. virgifera* > *O. melanopus* (Toshova et al., 2021; Velchev et al., 2023), което подчертава, че лабораторно установената вирулентност не гарантира еднакво ефективен контрол в полеви условия при различните целеви видове.

ИЗВОДИ

Настоящото изследване представя нови данни за екологията, мониторинга на сезонната активност на възрастните индивиди и потенциала на биологични методи за контрол на три важни неприятели по царевицата в България - сив царевичен хоботник (*Tanymecus dilaticollis*), западен царевичен коренов червей (*Diabrotica virgifera virgifera*) и обикновена житна пиявица (*Oulema melanopus*).

Резултатите подкрепят издигнатите изследователски хипотези.

По отношение на *Tanymecus dilaticollis*:

1. При полеви изпитвания на активността на синтетични растителни вещества с помощта на ловилки са установени два атрактанта за женските и мъжките индивиди на сивия царевичен хоботник - (*E*)-2-хексен-1-ол (E2-6OH) и (*Z*)-3-хексен-1-ол (Z3-6OH), докато (Z)-3-хексенил бутират има отблъскващ ефект.
2. Двукомпонентната смес на E2-6OH и Z3-6OH в съотношение 1:1 значително повишава уловите на възрастни индивиди от двата пола в сравнение с индивидуалното им приложение или контролните варианти.
3. В комбинация с еднакви растителни примамки най-ефективни са TAL лепливи ловилки (CSALOMON®), които превъзхождат други типове (Yatlor funnel, Cone и Pitfall). С помощта на ловилки със синтетична растителна примамка е установено, че сезонната активност на презимувалите възрастни индивиди обхваща периода от началото на април до началото на юли, като най-висока относителна численост в ловилките е наблюдавана в периода на ранните фенофази на царевицата (от поникване до 5–7 лист).

4. При полеви условия с помощта на TAL лепливи ловилки е демонстрирано вътревидово привличане на мъжки и женски индивиди.
5. При полево изпитване биоинсектицидът Натуралис (*Beauveria bassiana* щам ATCC 74040) постига задоволителна ефикасност (до ~52% след второ приложение) при по-високи дози и след повторно третиране на площите.
6. Третиранията на площи с царевица (открити площи и площи в кафези) с Nemastar® (търговски продукт с ентомопатогенни нематоди от вида *Steinernema carpocapsae*) (e-nema GmbH) увеличават броя на мъртвите хоботници независимо от типа на третиране на семената преди сеитба (биологично и химично) и има индикации, че спомагат за повишаване на добива на царевица.
7. Етеричното масло (ЕМ) от бял риган (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) проявява силно контактно и вероятно фумигантно действие в лабораторията при концентрации 1–10 µl/ml (разтвори в дестилирана вода с емулгатор 0.01% Tween).

По отношение на *Diabrotica virgifera virgifera*:

1. Установена е високата ефективност на KLP+ ловилки (CSALOMON®) с двойна примамка (синтетичен полов феромон и растителен атрактант) като средство за привличане на възрастните на западния царевичен коренов червей и мониторинг на сезонната му активност в България.
2. Нюансът на жълтия цвят на KLP+ ловилки със семиохимични примамки не оказва влияние върху поведението на бръмбарите.
3. Сезонната активност на *D. v. virgifera* в района на Кнежа обхваща периода от края на юни до началото на септември. В лабораторни условия чисто ЕМ от бял риган демонстрира изключително висока инсектицидна активност и бърз летален ефект спрямо възрастни на западния царевичен червей, докато емулсиите в дестилирана вода бяха ефективни само при най-високите изпитани концентрации - 1 µl/ml (92 % коригирана смъртност на опитните насекоми) и 10 µl/ml (100% коригирана смъртност на опитните насекоми).
4. При лабораторни изледвания е установено, че ентомопатогенната гъба *Metarhizium pemphigi* (щам AMEP28) проявява патогенност спрямо възрастните индивиди в лабораторни условия (до 73% смъртност при най-висока концентрация след 10 дни).

По отношение на *Oulema melanopus*:

1. Биоинсектицидът Натуралис (*B. bassiana*) показва висока инсектицидна активност в лабораторията както срещу възрастни (до 93% коригирана смъртност при изпитаните високи концентрации), така и особено силно срещу ларвите (над 95% коригирана смъртност) при всички концентрации, с бърз летален ефект). В края на експеримента е наблюдавана висока коригирана смъртност (> 95%) на ларвите при всички изпитани суспензии на продукта.

По отношение на царевицата *Zea mays*

1. В лабораторни условия ясен фитотоксичен ефект на ЕМ от бял риган при млади царевични растения, изразяващ се в покафеняване и загиване на растенията, е наблюдаван само при третиране с емулсии с концентрация 100 µl/ml.
2. В полеви условия при третиране с концентрации 0.1 - 100 µl/ml на ЕМ от бял риган младите царевични растения не проявяват симптоми на фитотоксичност в края на наблюденията.

ПРИНОСИ

Научни приноси

1. За първи път са установени атрактанти за сивия царевичен хоботник: E2-6OH и Z3-6OH, както и тяхна смес в съотношение 1: 1. Те функционират като хранителни атрактанти (кайромони).
2. Съставът на примамката, типът на диспенсера и дизайнът на ловилката са важни фактори, които оказват влияние върху уловите на възрастните индивиди на *T. dilaticollis* в полето.
3. За първи път са получени данни за полова феромонна комуникация при сивия царевичен хоботник.
4. За първи път в България с помощта на KLP+ ловилки с двойна примамка (полов феромон + растителен атрактант) са получени нови данни за сезонна динамика на летеж на *D. v. virgifera*.
5. За първи път е установен инсектициден ефект на Натуралис в полеви условия спрямо *T. dilaticollis* и в лабораторията спрямо *O. melanopus.* Ларвите на обикновената житна

пиявица са по-чувствителни в сравнение с възрастните индивиди на този вид на действието на щам ATCC 74040 на ентомопатогенната гъба *B. bassiana*.

6. Получени са нови данни за патогенността на *Metarhizium pemphigi* (щам AMEP28) спрямо възрастни на *D. v. virgifera*.
7. За първи път са изпитани нематодни продукти, съдържащи ентомопотогенни нематоди от вида *Steinernema carpocapsae* срещу *T. dilaticollis* в България – прахообразен препарат Nemastar® в полуполеви и полеви условия и Nematop Käfer-Stopp trap® (e-nema GmbH, Германия) в полеви условия, и са регистрирани инфекции с нематоди в мъртви индивиди на неприятеля в резултат на изследванията.
8. За първи път е оценена биологичната активност на етерично масло от бял риган срещу възрастни на *T. dilaticollis* и *D. v. virgifera* в лабораторни условия и е установено, че то има токсичен ефект и при двата вида, като западният царевичен коренов червей е по-чувствителен на изпитаните емулсии.

Научно-приложни приноси

1. TAL лепливи ловилки (Csalomon®, Унгария) с примамки двукомпонентна смес на E2-6OH и Z3-6OH (1:1), приложени върху диспенсери тип полиетиленови контейнери с капачета и обем 2.5 ml (Just Plastics Ltd., UK) са подходящо средство за мониторинг на сезонната активност на възрастните индивиди на *T. dilaticollis.* Тази примамка привлича и възрастни на неприятеля черен цвеклов хоботник *Psallidium maxillosum*. За по-прецизни данни е необходимо редовно отчитане на уловите в ловилките и смени на лепливите повъхности (2-3 пъти седмично), както и регулярни смени на семиохимичната примамка (на интервали от 3-4 седмици).
2. Nemastar® е подходящ за приложение за борба срещу възрастни на сивия царевичен хоботник при биологично и интегрирано производства в доза 5 милиарда нематоди/ha и при стриктно спазване на условията за употреба според указанията на производителя.
3. KLP+ ловилки в комбинация с двойна примамка (полов феромон + растителен атрактант) са подходящо средство за обследване и мониторинг на сезонната динамика на летеж на *D. v. virgifera*.

Резултатите от дисертационния труд могат да послужат като основа бъдещи изследвания с цел разработване на практически препоръки и нови биорационални продукти/стратегии в

условията на рестрикции върху неоникотиноидите и нарастващите изисквания за екологично земеделие.

Списък на цитираната литература

Ангелов, П. (1978). Фауна на България, том 7. Coleoptera, Curculionidae. II част. Brachyderinae, Brachycerinae, Tanymecinae, Cleoninae, Myorrhininae. БАН, 234 стр.

Ангелов, П. (1980). Фауна на България, том 10. Coleoptera, Curculionidae. IV част. Calandrinae. 2. БАН, 301 стр.

БАБХ. (2017). Заповед № РД 11-536/21.03.2017 г. за определяне на прагове на икономическа вредност за икономически важни вредители по земеделските култури. София: Изпълнителен директор на БАБХ.

Груев, Б., Томов, В. (1986). *Фауна на България*. Том 16: Coleoptera, *Chrysomelidae*. Част 2. София: Българска академия на науките, 388 стр.

ДИРЕКТИВА 2009/128/ЕО НА ЕВРОПЕЙСКИЯ ПАРЛАМЕНТ И НА СЪВЕТА от 21 октомври 2009 година за създаване на рамка за действие на Общността за постигане на устойчива употреба на пестициди.

РЕГЛАМЕНТ (ЕО) № 1107/2009 НА ЕВРОПЕЙСКИЯ ПАРЛАМЕНТ И НА СЪВЕТА от 21 октомври 2009 година относно пускането на пазара на продукти за растителна защита и за отмяна на директиви 79/117/ЕИО и 91/414/ЕИО на Съвета

Томов, Т., Йорданов, Й. (1988). Царевицата в България. София: Земиздат, 315 стр.

El-Sayed, A. M. (2026). *The Pherobase: Database of Pheromones and Semiochemicals*. http://www.pherobase.com. [10.01.2026]

Genov, N., Mitrović, J., Genov, M., Duduk, B. (2014). First report of corn reddening caused by 'Candidatus *Phytoplasma solani*' in Bulgaria. *Plant Disease*, 98 (7): 991.

Goodman, M. M., Galinat, W. C. (1988). The history and evolution of Maize. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 7 (3): 197–220.

Hoxie, R. P., Wellso, S. G. (1974). Cereal leaf beetle instars and sex, defined by larval head capsule widths. Annals of the Entomological Society of America, 67 (2): 183–186.

Ivanova, I. (2002a). The first occurrence of *Diabrotica virgifera virgifera* in Bulgaria. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 37 (1–3): 155–157.

Machado, A. B., Silva, J. R., Oliveira, M. P. (2024). Phytotoxicity and growth of crop plants under different herbicide treatments. *Journal of Agricultural Science*, 16 (2): 45–58.

Ranum, P., Peña-Rosas, J. P., Garcia-Casal, M. N. (2014). Global maize production, utilization, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1312 (1): 105–112.

Shiferaw, B., Prasanna, B. M., Hellin, J., Bänziger, M. (2011). Crops that feed the world 6. Past successes and future challenges to the role played by maize in global food security. *Food Security*, 3 (3): 307–327.

Simov, N. (2016). The invasive brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Heteroptera: Pentatomidae) already in Bulgaria. Ecologica Montenegrina, 9: 51–53.

Szanyi, S., Barta, M., Velchev, D., Beshkov, S., Mumford, S., Todorov, I., Nagy, A., Varga, Z., Tóth, M., Toshova, T. (2025). First Report of a Migratory Pest, the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera, *Noctuidae*) from Bulgaria. *Insects*, 16 (2): 134.

Toshova, T., Velchev, D., Pilarska, D., Todorov, I., Draganova, S., Holuša, J., Takov, D. (2021). Effect of bioinsecticides on the grey maize weevil *Tanymecus dilaticollis*. *Plant Protection Science*, 57 (3): 240–247.

Tóth, M., Sivcev, I., Ujvary, I., Tomasek, I., Imrei, Z., Horvath, P., Szarukan, I. (2003). Development of trapping tools for detection and monitoring of *Diabrotica virgifera virgifera* in Europe. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 38: 307–322

Velchev, D. I., Takov, D. I., Todorov, I. A., Pilarska, D. K., Toshova, T. B. 2023. Effect of *Beauveria bassiana* (strain ATCC 74040) on two leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pests of maize under laboratory conditions. Journal of Central European Agriculture, 24, 2: 434-446.

Списък на научните публикации във връзка с дисертацията

1. Toshova, T. B., **Velchev**, D. I. 2012. Field attraction of two polyphagous weevil (Curculionidae: Entiminae) pests to the same synthetic floral lure in Bulgaria. Acta Entomologica Bulgarica, 15, 1/2: 100-106.

2. Velchev, D., Toshova, T., Todorov, I., Beshkov, S., Kalushkov, P., Tóth, M. 2019. Effect of the hue of yellow colour on *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte captures in KLP+ traps baited with dual lures. Journal of Mountain Agriculture on the Balkans (ISSN 1311-0489), 22, 6: 140-150.

3. Toshova, T., **Velchev**, D., Barta, M., Takov, D., Todorov, I., Pilarska, D., Tóth, M., Berkov, S., Nikolova, M. 2022. Insecticide activity of Greek oregano essential oil and entomopathogenic fungus *Metarhizium pemphigi* against *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. Cereal Research Communications (издателство Springer Nature): 50, 4: 1045-1054. ISSN:01333720, DOI:10.1007/s42976-022-00266-1; SJR (Scopus):0.336, JCR-IF (Web of Science):1.6 Q2 (Scopus)

Цитирания без автоцитирания: 2 бр.

4. Takov, D., Toshova, T., Pilarska, D., **Velchev, D.** 2023. Entomopathogens of three beetle species with agricultural importance (*Tanymecus dilaticollis*, *Oulema melanopus* and *Diabrotica virgifera virgifera*): a review. North-Western Journal of Zoology (ISSN:1584-9074), 19, 2: 201-208. SJR (Scopus):0.259, JCR-IF (Web of Science):0.7 Q3 (Scopus)

5. Velchev, D. I., Takov, D. I., Todorov, I. A., Pilarska, D. K., Toshova, T. B. 2023. Effect of *Beauveria bassiana* (strain ATCC 74040) on two leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) pests of maize under laboratory conditions. Journal of Central European Agriculture, 24, 2: 434-446.

ISSN:13329049, DOI:10.5513/JCEA01/24.2.3787; SJR (Scopus):0.208, JCR-IF (Web of Science):0.7 Q3 (Scopus)

Цитирания без автоцитирания: 3 бр.

6. Toshova, T. B., **Velchev**, D. I., Pilarska, D. K., Todorov, I. A., Esteves, I., Barth, M., Takov, D. I. 2024. Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against the grey maize weevil *Tanymecus dilaticollis* (Coleoptera: Curculionidae) adults. Biologia Futura (издателство Springer Nature), 75: 219-233. ISSN:2676-8607, DOI:10.1007/s42977-024-00206-6; SJR (Scopus):0.428, JCR-IF (Web of Science):1.8 Q2 (Scopus)

Цитирания без автоцитирания: 4 бр.

Благодарности

Изразявам своята най-искрена признателност към моите научни ръководители – проф. д-р Оля Караджова (ИПАЗР „Никола Пушкаров“ – ССА) и доц. д-р Теодора Тошова (ИБЕИ – БАН).

Благодаря на проф. Караджова за високите критерии, методологическото наставничество и възможността да черпя от нейния богат опит в областта на защитата на растенията. Нейната подкрепа и професионализъм бяха водещи за успешното структуриране на настоящия труд.

Дължа специални благодарности на доц. д-р Теодора Тошова за изключителната прецизност, насоките в експерименталната работа и критичния поглед върху резултатите. Нейната всеотдайност и академична етика бяха силен стимул за моето израстване като изследовател.

Благодаря на ръководството и колектива на Института по царевицата, гр. Кнежа за предоставената материална база и добрата работна среда, които направиха възможно провеждането на изследванията. Изказвам искрени благодарности на Силвия Терзийска за техническата помощ при полевите опити с ловилки за сивия царевичен хоботник.

Благодаря на всички колеги от научен отдел "Защита на растенията" към ИПАЗР "Никола Пушкаров" за подкрепата, напътствията и градивните бележки.

Благодаря на колегите от ИБЕИ – БАН за съвместната работа.

Possibilities for the application of biological means for monitoring and control of insect pests in maize

Dimatar Ivanov Velchev

Summary

The present dissertation presents the results of studies related to chemical ecology, monitoring of seasonal activity, and the possibilities for biological control of three important maize pests in Bulgaria – the grey maize weevil (*Tanymecus dilaticollis*), the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*), and the cereal leaf beetle (*Oulema melanopus*).

As a result of the conducted studies on *Tanymecus dilaticollis*, the synthetic plant compounds (E)-2-hexen-1-ol and (Z)-3-hexen-1-ol were identified for the first time as attractants acting as kairomones (plant attractants) for both sexes of this species. Among several lure variants tested, the highest efficacy was recorded for the binary blend applied in a 1:1 ratio. It was demonstrated that TAL sticky traps (CSALOMON®, Hungary) baited with the binary mixture are suitable tools for monitoring the seasonal activity of the pest. New data concerning the intraspecific communication of this species were also obtained. Field and laboratory experiments demonstrated that the bioinsecticide Naturalis® (strain ATCC 74040 of *Beauveria bassiana*), the entomopathogenic nematode product Nemastar® (*Steinernema carpocapsae*) (e-nema GmbH, Germany), and Greek oregano (*Origanum vulgare* subsp. *hirtum*) essential oil, possess potential for application in organic and integrated production systems.

Regarding *Diabrotica virgifera virgifera*, high efficacy of KLP+ traps with combined lure (sex pheromone and plant attractant) (CSALOMON®, Hungary) was established as a tool for monitoring the seasonal flight dynamics of the pest in Bulgaria. The period of the seasonal activity of the adults in the region of Knezha was determined from late June to early September. Under laboratory conditions, Greek oregano essential oil exhibited strong insecticidal activity against adults, while the entomopathogenic fungus *Metarhizium pemphigi* demonstrated moderate pathogenicity.

In *Oulema melanopus*, high efficacy of the bioinsecticide Naturalis® was established against the larval stage of the pest.

The obtained results could serve as a basis for future scientific studies and for the development of biorational strategies for the control of the target pest species in accordance with current environmental requirements under conditions of restricted use of neonicotinoids.