

Joanna MATUSKA-ŁYŻWA¹, Stanisław HURUK¹ i Monika WIATR¹

MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA RODZIMYCH POPULACJI NICIENI ENTOMOPATOGENNYCH W ZWALCZANIU PĘDRAKÓW CHRABĄSZCZOWATYCH (*Melolonthinae*)

POTENTIAL OF AUTOCHTHONIC POPULATION OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN APPLICATION TO CONTROL OF COCKCHAFER GRUBS (*Melolonthinae*)

Abstrakt: Podczas przeprowadzonych badań faunistycznych odłowiono z terenu Polski nicienie entomopatogenne. Długość i szerokość geograficzną analizowanych stanowisk występowania nicieni oznaczono za pomocą programu komputerowego Gnomon. Próby glebowe, z których wyizolowano nicienie, zostały zbadane pod względem fizykochemicznym (całkowita zawartość ołowiu(II), pH oraz podgrupa granulometryczna). Nicienie wyizolowano z próbek glebowych w warunkach laboratoryjnych, metodą Beddinga i Akhursta (1975). Badane nicienie oznaczono za pomocą klucza do oznaczania gatunku (Lacey 1997) oraz za pomocą analiz molekularnych. Do doświadczeń wykorzystano larwy pędraków chrabąszczowatych odłowionych z terenów województwa świętokrzyskiego, na których obecnie notuje się gradację tego szkodnika. Nicienie pochodzące z tego terenu charakteryzują się dużą aktywnością biologiczną względem pędraków chrabąszczowatych.

Słowa kluczowe: nicienie entomopatogenne, pędraki chrabąszczowate, *Steinernema*, *Galleria mellonella*, *Melolonthinae*

Obecnie największym problemem dla szkółek i upraw leśnych w Polsce są dwa gatunki szkodników: chrabąszcz majowy (*Melolontha melolontha* L.) i chrabąszcz kasztanowiec (*Melolontha hippocastani* Fabr.). Po wylęgu larwy chrabąszczy (pędraki) w pierwszym roku życia odżywiają się przede wszystkim próchnicą oraz drobnymi korzeniami roślin, głównie traw. Szczególnie niebezpieczne są pędraki 3-4-letnie, gdyż są one najbardziej żarłoczne. Żerując, uszkadzają system korzeniowy siewek i sadzonek prawie wszystkich gatunków drzew i krzewów [1].

Zapotrzebowanie na biologiczne środki ochrony roślin wzrasta na całym świecie. Jednak w wielu przypadkach badania naukowe nie mogą sprostać oczekiwaniom producentów. W celu opracowania nowych technik biologicznej ochrony roślin konieczne jest poznanie środowiska życia i biologii wielu gatunków oraz ras potencjalnych organizmów, które mogą być do tego wykorzystane. Spośród badanych sposobów zwalczania larw chrabąszczy bardzo obiecująco przedstawiają się nicienie entomopatogenne [2-4].

Materiał i metody

Badania prowadzono w latach 2009-2011. Nicienie entomopatogenne odłowiono z czterech różnych środowisk na terenie Polski (okolice miast: Wieluń, Katowice, Opole, Kielce). Długość i szerokość geograficzną analizowanych stanowisk oznaczono za pomocą programu komputerowego Gnomon. Próbkę glebowe, z których odłowiono nicienie, zostały

¹ Zakład Zoologii, Instytut Biologii, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce, tel. 41 349 63 53, email: joannaujk@op.pl

również zbadane pod względem fizykochemicznym. Oznaczono całkowitą zawartość ołowiu(II), odczyn oraz podgrupę granulometryczną. Nicienie wyizolowano z próbek glebowych w warunkach laboratoryjnych metodą Beddinga i Akhursta [5]. Gatunki nicieni określono, korzystając z klucza do oznaczania gatunku [6] oraz za pomocą analiz molekularnych. Do zarażenia owadów użyto larw inwazyjnych nicieni między drugim a trzecim tygodniem od momentu opuszczenia ciała żywiciela. Jako kontrolę wykorzystano nicienie pochodzące z biopreparatu „Owinema”. Do doświadczeń posłużyły pędraki chrabąszczowatych trzeciego i czwartego stadium zebrane z terenów województwa świętokrzyskiego, na których obecnie notuje się gradację tego szkodnika. Badania prowadzono na szalkach Petriego w temperaturze 20°C. Do zarażania owadów wykorzystano dawkę 100 larw inwazyjnych nicieni na jedną larwę owada. Oznaczono ekstensywność inwazji, rozrodność nicieni i przeżywalność larw, które opuściły ciało żywiciela. Doświadczenie powtórzono dwukrotnie.

Wyniki, ich analiza i wnioski

Przeprowadzona analiza fizykochemiczna próbek glebowych wykazała naturalną i lekko podwyższoną zawartość ołowiu(II) (od 7,21 do 64 ppm) oraz odczyn kwaśny (od 4,39 do 6,06). Podgrupę granulometryczną gleb określono jako glina piaszczysta i piasek słabogliniasty. Wartości wymienionych powyżej parametrów określają środowiska jako odpowiednie do występowania nicieni owadobójczych. Znajduje to także potwierdzenie w wynikach innych badaczy [7-9].

Tabela 1

Charakterystyka analizowanych środowisk i aktywności biologicznej nicieni

Table 1

Characteristics of the analyzed habitats and biological activity of nematodes

Gatunek nicienia	<i>S. feltiae</i>	<i>S. feltiae</i>	<i>S. feltiae</i>	<i>S. feltiae</i>	<i>S. kraussei</i>
Środowisko pochodzenia	biopreparat „Owinema” (kontrola)	Wieluń	Katowice	Opole	Kielce
Długość geograficzna	-	18°40'32"	19°11'50"	17°44'12"	20°49'22"
Szerokość geograficzna	-	51°14'26"	50°13'46"	50°41'11"	50°56'18"
Śmiertelność ogólna owadów [%]	100	100	100	100	100
Ekstensywność inwazji [%]	100	90	100	100	90
Czas uśmiercenia owada przez nicienie [dni]	2-3	4-5	4-5	4-5	4-5
Pierwszy dzień migracji larw inwazyjnych z owada-żywiciela do środowiska zewnętrznego [dni]	8	17	19	19	18
Liczba migrujących larw z 1 owada [szt.]	75 000	85 000	88 900	97 000	87 500
Przeżywalność larw w 2 tygodniu od migracji [%]	93	97	97	96	97
Przeżywalność larw w 4 tygodniu od migracji [%]	90	95	96	94	95

Przeprowadzone pomiary morfometryczne wszystkich stadiów rozwojowych odłowionych nicieni i przyrównanie ich do klucza wykazały, że badane nicienie należą do gatunków *Steinernema feltiae* i *S. kraussei*. Otrzymane wyniki zostały potwierdzone także

poprzez analizy molekularne (sekwencjonowanie produktu reakcji łańcuchowej polimerazy ze starterami komplementarnymi do genów kodujących rybosomalny RNA gatunku).

Ekstensywność inwazji nicieni pochodzących z terenu charakteryzowała się dużymi wartościami i była zbliżona do ekstensywności inwazji nicieni z biopreparatu (tab. 1).

Śmierć owadów spowodowaną przez nicienie notowano w 4 i 5 dniu od zarażenia w przypadku nicieni odłowionych ze środowiska naturalnego, natomiast w próbie kontrolnej do śmierci owadów dochodziło między 2 a 3 dniem od zarażenia (tab. 1). Podobne zależności zaobserwowali także inni autorzy, którzy wykazali, że do uśmiercenia pędraków chrabąszczowatych przez nicienie z rodzaju *Steinernema* dochodzi między 4 a 8 dniem od zarażenia [4].

Do rozpoczęcia migracji larw inwazyjnych nicieni z owada-żywicielela dochodziło między 17 a 19 dniem od zarażenia. W próbie kontrolnej pierwsze migrujące larwy zaobserwowano już w 8 dniu od zarażenia (tab. 1).

Analizując rozrodność nicieni pochodzących ze środowiska naturalnego oraz przeżywalność ich larw po migracji, zaobserwowano, że liczba larw, które zdołały opuścić ciało żywiciela oraz ich przeżywalność w czasie, jest większa niż w populacji nicieni pochodzących z biopreparatu (tab. 1).

Badania nad skutecznością nicieni pochodzących ze środowiska naturalnego wobec pędraków chrabąszczowatych są jednym z aktualnych zagadnień badawczych w Europie. Dotychczas dowiedziono, że najbardziej efektywne w stosunku do pędraków *Melolonthinae* są nicienie należące do rodzin *Steinernematidae* i *Heterorhabditidae* [2-4, 10].

Otrzymane wyniki badań także dowodzą, że nicienie entomopatogenne są nie tylko skuteczne wobec larw chrabąszczy, ale charakteryzują się również wysoką rozrodnością i przeżywalnością. Przeprowadzone doświadczenie stanowi wstęp do szerokich badań nad biologicznym zwalczaniem pędraków chrabąszczowatych na terenie Polski.

Podziękowania

Projekt zrealizowano przy wsparciu finansowym Samorządu Województwa Świętokrzyskiego.

Literatura

- [1] Kowalska J. Sylwan. 2001;145(2):89-95.
- [2] Peters A. Susceptibility of *Melolontha melolontha* to *Heterorhabditis bacteriophora*, *H. megidis* and *Steinernema glaseri*. IOBC WPRS BULL. 2000;23:39-45.
- [3] Lakatos T, Tóth T. J. Fruit Ornament Plant Res. 2006;14(3):73-78.
- [4] Lortkipanidze M, Gorgadze O, Kokhia M, Melashvili N, Kuchava M. Bull Georg Natl Acad Sci Zoology-Nematology. 2011;5(1):155-157.
- [5] Bedding RA, Akhurst RJ. Nematologica. 1975;21(1):109-110.
- [6] Lacey LA. Manual of Techniques in Insect Pathology. New York: Academic Press (Elsevier); 1997; 288-294.
- [7] Jarmuż J. Praca doktorska. Warszawa: SGGW; 2002, 130.
- [8] Jaworska M, Dudek B. Zesz Nauk Akad Roln Kraków. 1992;20:131-147.
- [9] Gaugler R, Kaya HK. Entomopathogenic nematodes in biological control. CRC Press; Boca Raton: 1990, 93-116.
- [10] Szostak H. Wojna nicienia z pędrakiem. Echa Leśne. 2001;11:22-24.

**POTENTIAL OF AUTOCHTHONIC POPULATION
OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES IN APPLICATION TO CONTROL
OF COCKCHAFFER GRUBS (*MELOLONTHINAE*)**

Department of Zoology, Institute of Biology, Faculty of Mathematics and Science
The Jan Kochanowski University, Kielce

Abstract: During faunistic studies entomopathogenic nematodes were isolated from samples selected in territory of Poland. Latitude and longitude of the sampling site was determined with the Gnomon software. Physico-chemical properties of samples were also performed. Nematodes were isolated from the soil samples in the laboratory conditions, using method described by Bedding and Akhurst (1975). Selected nematodes were determined using the key for the determination of the species (Lacey 1997) and by molecular analysis. For investigations were used grubs of cockchafer (*Melolonthinae*) isolated from areas of the Świętokrzyskie province, Poland, where at present there has been a gradation of this pest. It was shown that autochthonic nematodes have significant biological activity against cockchafer grubs present in the territory of Poland.

Keywords: entomopathogenic nematodes, cockchafer grubs, *Steinernema*, *Galleria mellonella*, *Melolonthinae*