

Joanna MATUSKA<sup>1</sup>

**INWAZYJNOŚĆ I REPRODUKCJA  
NICIENI ENTOMOPATOGENNYCH *Heterorhabditis megidis*  
(POINAR, JACKSON I KLEIN 1987)  
PO KONTAKCIE Z JONAMI OŁOWIU(II)**

**INVASIVENESS AND REPRODUCTION  
OF THE ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *Heterorhabditis megidis*  
(POINAR, JACKSON AND KLEIN 1987)  
AFTER ITS CONTACT WITH LEAD(II) IONS**

**Abstrakt:** Wykorzystanie nicieni owadobójczych jako biologicznego środka w zwalczaniu szkodników roślin spowodowało zwrócenie uwagi na związek między skażeniem gleb metalami ciężkimi a przeżywalnością nicieni w glebach. Toksyczne właściwości metali ciężkich, w tym ołowiu, zaburzają funkcje życiowe nicieni entomopatogennych. W przeprowadzonych testach zbadano wpływ krótkotrwałego i długotrwałego oddziaływania jonów ołowiu na inwazyjność i reprodukcję *H. megidis*. Larwy, które przeżyły kontakt z jonami ołowiu w stężeniu 500 ppm, wprowadzano do pojemników z glebą, w których znajdowały się owady testowe (*Galleria mellonella*). Kontrolę stanowiły nicienie przetrzymywane w wodzie destylowanej. Połowę martwych owadów poddawano sekcji w dwa dni od ich śmierci w celu zbadania intensywności inwazji. Drugą połowę przeznaczano na reprodukcję. Otrzymane z reprodukcji larwy nicieni wykorzystywano do kolejnych doświadczeń. Wykonano 5 pasaży. Zaobserwowano, że w miarę wydłużania czasu kontaktu nicieni z jonami ołowiu(II) obniża się inwazyjność nicieni oraz liczba migrujących z owada larw *H. megidis*.

**Słowa kluczowe:** nicienie entomopatogenne, *Heterorhabditis megidis*, *Galleria mellonella*, jony ołowiu

Nicienie owadobójcze narażone są na wpływ wielu czynników biotycznych i abiotycznych zarówno naturalnych, jak i wynikających z działalności człowieka. Czynniki te mogą działać na nicienie szkodliwie lub korzystnie. Jednym z takich czynników są metale ciężkie. W dotychczasowych badaniach stwierdzono, że jony metali ciężkich mogą w znacznym stopniu niekorzystnie wpłynąć na patogenność nicieni owadobójczych [1-9].

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę wpływu:

- czasu kontaktu nicieni z jonami ołowiu(II) oraz
- długotrwałego pasażowania przez jednego żywiciela nicieni po przebytych kontakcie z jonami ołowiu(II) na inwazyjność i reprodukcję *H. megidis*.

### **Materiał i metody**

Materiał badań stanowiły larwy inwazyjne (IJs) *H. megidis* oraz larwy ostatniego stadium *G. mellonella* L. (163 mg). Zarówno nicienie entomopatogenne, jak i owady pochodziły z hodowli własnej Zakładu Zoologii Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie.

Larwy inwazyjne nicieni przetrzymywano przez 24 godz. (próbka B) i 5 dni (próbka C) w szalkach Petriego w roztworach wodnych azotanu ołowiu w stężeniu 500 ppm Pb(II). Larwami, które przeżyły kontakt z jonami ołowiu, zarażano owady testowe. Kontrolę

<sup>1</sup> Zakład Zoologii, Katedra Biologii Środowiska Zwierząt, Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa, email: joannasgw@op.pl

(próbka A) stanowiły nicienie przetrzymywane w wodzie destylowanej. Owady zarażano indywidualnie: w jednym pojemniku z wilgotnym piaskiem umieszczano 1 owada i 500 larw inwazyjnych. Połowę martwych owadów poddawano sekcji w dwa dni od ich śmierci w celu zbadania intensywności inwazji. Drugą połowę martwych owadów przekładano na indywidualne gąbki migracyjne (zmodyfikowane pułapki do gromadzenia migrujących z ciał owadów larw inwazyjnych nicieni). Stopień migracji larw nicieni z ciała żywiciela do środowiska zewnętrznego badano codziennie aż do zakończenia migracji. Pozyskanymi larwami zarażano kolejne owady testowe w celu sprawdzenia wpływu długotrwałego pasażowania przez jednego żywiciela nicieni po przebytych kontakcie z jonami ołowiu(II). Wykonano 5 pasaży. Określono: śmiertelność larw inwazyjnych nicieni po jedno- i pięciodniowym kontakcie z jonami ołowiu, śmiertelność owadów testowych poddanych kontaktowi z nicieniami traktowanymi jonami ołowiu, ekstensywność inwazji i intensywność inwazji oraz liczbę migrujących z owada nicieni.

Doświadczenie prowadzono w temperaturze 25°C. Jest to optymalna temperatura dla *H. megidis*, przy której obserwuje się największą inwazyjność tego gatunku [10-13].

Do porównania wyników wykorzystano analizę wariancji jednej zmiennej (UNIANOVA).

### Wyniki, ich omówienie i analiza

Przeżywalność larw nicieni po jedno- (próbka B) i pięciodniowym (próbka C) kontakcie z jonami ołowiu zależała od obecności jonów w środowisku, w którym przebywały larwy oraz od czasu kontaktu z tymi jonami. Im dłuższy był czas kontaktu nicieni z jonami ołowiu, tym śmiertelność larw była większa (tab. 1).

Tabela 1  
Inwazyjność nicieni po różnym czasie kontaktu z jonami ołowiu(II)

Table 1  
Invasiveness of nematodes after different time of their contact with lead(II) ions

	próbka A	próbka B	próbka C
Żywe larwy nicieni [%]	96	82	68
Żywe/martwe	24	4,5	2,1
Śmiertelność owadów [%]	98,5	91	70,5
Ekstensywność [%]	96,6	89,2	68
Intensywność [szt.]	67	50	32
Migracja larw z 1 mg masy ciała owada [szt.]	864	288	146

Tabela 2  
Śmiertelność owadów w kolejnych pasażach [%]

Insect mortality in consecutive passages [%]

	próbka A	próbka B	próbka C
pasaż 1	99	93	72
pasaż 2	100	89	71
pasaż 3	97	94	74
pasaż 4	98	90	69
pasaż 5	99	91	68
średnia z pasaży	98,5	91	70,5

Analizując śmiertelność owadów, ekstensywność i intensywność inwazji, nie zanotowano wyraźnych różnic w kolejnych pasażach w obrębie każdej z próbek. Dlatego do porównania wykorzystano średnią z pięciu pasaży, odpowiednio dla każdej z próbek (tabele 2-4).

Ekstensywność inwazji w kolejnych pasażach [%]

Tabela 3

Extensivity of invasion in consecutive passages [%]

Table 3

	próbka A	próbka B	próbka C
pasaż 1	98	92	69
pasaż 2	99	87	66
pasaż 3	95	88	67
pasaż 4	96	89	68
pasaż 5	95	90	70
średnia z pasaży	96,6	89,2	68

Intensywność inwazji w kolejnych pasażach [szt.]

Tabela 4

Intensity of invasion in consecutive passages [ind.]

Table 4

	próbka A	próbka B	próbka C
pasaż 1	68	49	33
pasaż 2	67	52	31
pasaż 3	67	48	34
pasaż 4	68	51	31
pasaż 5	66	50	32
średnia z pasaży	67,2	50	32,2

Przeprowadzona jednoczynnikowa analiza wariancji oraz test NIR dla intensywności inwazji badanych próbek (nicienie, których poprzednie pokolenie larw miało różny czas kontaktu z jonami ołowiu) wykazała duże statystycznie istotne różnice między wszystkimi próbkami (A, B, C) (tab. 5).

Analiza wariancji dla cechy „intensywność inwazji”

Tabela 5

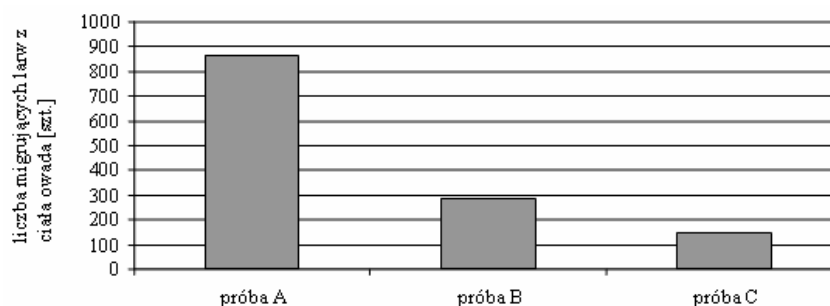
Results of ANOVA for the factor „intensity of invasion”

Table 5

Intensywność inwazji	Jednoczynnikowa ANOVA				
	Suma kwadratów	Liczba stopni swobody	Średni kwadrat	F	Istotność
Między grupami	45942,000	2	22971,000	1812,211	0,000
Wewnątrz grup	2814,000	222	12,676		
Ogółem	48756,000	224			

Zaobserwowano, że na inwazyjność nicieni niekorzystnie wpływa zarówno kontakt, jak i czas kontaktu z jonami ołowiu. Wraz z wydłużaniem czasu kontaktu larw *H. megidis* z jonami ołowiu(II) ulegała obniżeniu inwazyjność nicieni.

Brak statystycznie istotnych różnic w kolejnych pasażach w obrębie każdej próbki zanotowano także w przypadku liczby migrujących larw z owada. Wykazano, że na ten parametr również wpływają te dwa czynniki (kontakt z jonami ołowiu i czas kontaktu) (tab. 1, rys. 1).



Rys. 1. Migracja larw nicieni z 1 mg masy ciała owada [szt.]

Fig. 1. Migration of nematode larvae from 1 mg of insect's body mass [ind.]

Zauważono również, że osobniki, które jako larwy miały dłuższy (5 dni) kontakt z jonami ołowiu (próbka C), rozpoczęły migrację w 21 dniu od zarażenia w odróżnieniu od osobników, które jako larwy miały krótszy (24 h) kontakt z jonami ołowiu (próbka B) oraz nicienie z grupy kontrolnej (próbka A), które rozpoczęły migrację w 15 dniu od zarażenia owadów.

Otrzymane wyniki mogą świadczyć o tym, iż na inwazyjność i reprodukcję *H. megidis* wpływ ma nie tylko kontakt poprzedniego pokolenia larw z jonami ołowiu, ale również czas tego kontaktu.

Przeprowadzone analizy i ich wyniki znajdują odzwierciedlenie w literaturze. Prace opisujące badania nad wpływem metali ciężkich na nicienie owadobójcze wskazują głównie na niekorzystny wpływ jonów ołowiu(II) na przeżywalność i aktywność biologiczną tych zwierząt [3, 4, 14]. Udokumentowany również został negatywny wpływ metali ciężkich na reprodukcję nicieni oraz na ich zdolność do migracji z owada do środowiska zewnętrznego [2, 15].

## Podsumowanie

Jony ołowiu(II) znajdujące się w środowisku glebowym, w którym występują nicienie owadobójcze, niekorzystnie oddziałują na inwazyjność i reprodukcję tych zwierząt. W miarę wzrostu stężenia jonów ołowiu(II) oraz wydłużania czasu kontaktu z tymi jonami obniża się inwazyjność i liczba migrujących larw nicieni z ciała owada.

## Literatura

- [1] Jarmuł J.: Praca doktorska. SGGW, Warszawa 2002, 130 ss.
- [2] Jarmuł J. i Kamionek M.: Chem. Inż. Ekol., 2003, **10**(3-4), 281-284.
- [3] Jarmuł J. i Kamionek M.: Chem. Inż. Ekol., 2001, **8**(6), 601-607.
- [4] Jarmuł J. i Kamionek M.: Chem. Inż. Ekol., 2000, **7**(10), 1023-1029.
- [5] Jaworska M., Gorczyca A., Sepioł J. i Tomasiak P.: Chem. Inż. Ekol., 2000, **7**(4), 313-326.
- [6] Jaworska M., Ropek D. i Gorczyca A.: Chem. Inż. Ekol., 1999, **6**(5-6), 469-475.

- [7] Jaworska M., Gorczyca A., Sepioł J. i Tomasik P.: Water, Air, Soil Pollut., 1997, **93**(1-4), 157-166.
- [8] Pezowicz E.: Obieg pierwiastków w przyrodzie. Tom II. IOR, Warszawa 2003, 486-489.
- [9] Pezowicz E., Kamionek M. i Bednarek A.: Mat. II Konferencji Naukowej. Akad. Roln., Kraków 1997, 67-71.
- [10] Menti H., Wright D.J. i Perry R.N.: Nematology, 2000, **2**(5), 515-521.
- [11] Mason J.M. i Hominick W.M.: J. Helminth., 1995, **69**(4), 337-345.
- [12] Danilov L.G., Vasil'eva S.O. i Gogoler A.N.: Parazitologiya, 1994, **28**(6), 495-500.
- [13] Trdan S., Valič N., Urek G. i Milevoj L.: Acta Agricult. Sloven., 2005, **85**, 117-124.
- [14] Jarmuł J., Pezowicz E. i Kamionek M.: Chem. Inż. Ekol., 2005, **12**(10), 1083-1088.
- [15] Pezowicz E.: Chem. Inż. Ekol., 2004, **11**(2-3), 239-243.

**INVASIVENESS AND REPRODUCTION  
OF THE ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *Heterorhabditis megidis*  
(POINAR, JACKSON AND KLEIN 1987)  
AFTER ITS CONTACT WITH LEAD(II) IONS**

**Abstract:** The use of entomopathogenic nematodes as biological means of plant pests control focussed the attention on the relationship between soil pollution by heavy metal and nematode survival. Toxic properties of heavy metals like lead disturb life functions of entomopathogenic nematodes. Short and long term effect of lead ions on the invasiveness and reproduction of *H. megidis* was studied in laboratory tests. Larvae that survived the contact with lead ions at a concentration of 500 ppm were placed in containers filled with soil with test insects. Nematodes kept in distilled water served as a control. Half of dead insects were dissected two days after their death to check the intensity of invasion. Second half of dead insects were intended for nematode reproduction. Nematode larvae obtained in that way were used for subsequent experiments. Five passages were made in total. Prolonged contact of nematodes with lead(II) ions was observed to decrease nematode invasiveness and the number of *H. megidis* larvae migrating from the host insect.

**Keywords:** entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis megidis*, *Galleria mellonella*, lead ions