

Magdalena DZIEGIELEWSKA¹ i Anna KIEPAS-KOKOT²

WPLYW ZRÓŻNICOWANEJ TEMPERATURY NA AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNĄ NICIENI OWADOBÓJCZYCH *Steinernema feltiae* I *Heterorhabditis megidis* WSPÓŁWYSTĘPUJĄCYCH W PODŁOŻU

INFLUENCE OF DIFFERENT TEMPERATURE ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES *Steinernema feltiae* AND *Heterorhabditis megidis* CO-OCCURRENCE IN THE SOIL

Abstrakt: Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na ruchliwość nicieni owadobójczych (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) w glebie, na ich rozwój i zdolności reprodukcyjne. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że aktywność biologiczna nicieni *Steinernema feltiae* i *Heterorhabditis megidis* współwystępujących ze sobą w podłożu zmienia się w czasie w zależności od zastosowanej temperatury. W wyższych temperaturach - 20 i 25°C - testowane owady *Galleria mellonella* były częściej porażane przez *S. feltiae* niż przez ciepłolubne nicienie *H. megidis*, odpowiednio od 66 do 90%. Niższe temperatury (15°C) spowalniały, a nawet hamowały, jak w przypadku *H. megidis*, aktywność i rozwój obu gatunków nicieni. Wydaje się, że patogenność nicieni współwystępujących ze sobą w glebie może być również uzależniona od strategii żerowania poszczególnych gatunków pasożytów.

Słowa kluczowe: nicienie owadobójcze, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis megidis*, współwystępowanie, infekcyjność, temperatura

Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników abiotycznych wpływających na aktywność biologiczną nicieni owadobójczych z rodziny *Steinernematidae* i *Heterorhabditidae* w podłożu [1-6]. Optymalny rozwój większości gatunków tych nicieni obserwowany jest w przedziale temperatur 20÷25°C [4, 6, 7]. Jednak zakres temperatur tolerowany przez te pasożyty może zmieniać się w zależności od gatunku nicienia i jego lokalizacji geograficznej. W praktyce ich aktywność jest wypadkową wielu czynników, które jednocześnie oddziałują na nicienie w glebie. Często różne gatunki nicieni owadobójczych współwystępują ze sobą w środowisku, konkurując o optymalne warunki bytowania.

Materiał i metody

W warunkach laboratoryjnych testowano wpływ zróżnicowanej temperatury - 15, 20 i 25° - na aktywność biologiczną nicieni owadobójczych *Steinernema feltiae* (izolat PL 519b) i *Heterorhabditis megidis* (izolat PL 607) współwystępujących ze sobą w podłożu. Badano:

- 1) śmiertelność „owadów pułapkowych” *Galleria mellonella* (barciak większy) po kontakcie z pasożytniczymi nicieniami oraz
- 2) stopień spasożytowania gąsienic barciaka większego przez nicienie na podstawie liczby dorosłych osobników stwierdzonych w martwych gąsienicach *Galleria* po 4 dniach od kontaktu pasożyta z żywicielem.

¹ Zakład Ochrony Roślin, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, email: entomology@zut.edu.pl

² Katedra Ochrony i Kształtowania Środowiska, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin

Doświadczenie przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego wariantu temperaturowego. W każdym powtórzeniu do szalki o średnicy 10 cm aplikowano jednocześnie ustaloną liczbę larw inwazyjnych obu gatunków nicieni, odpowiadającą dawce 50 larw/cm² i umieszczano osiem gąsienic barciaka większego. Kontrolę stanowiły szalki z pojedynczymi gatunkami nicieni i „owadami pułapkowymi”. Obserwacje prowadzono przez pięć kolejnych dni.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA 7.1 software.

Wyniki i ich omówienie

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji stwierdzono, że oba testowane gatunki nicieni *Steinernema feltiae* (Sf) i *Heterorhabditis megidis* (Hm) poddane zróżnicowanym warunkom termicznym szybciej porażały „owady pułapkowe” w wyższych temperaturach, średnio po dwóch (przy 25°C) lub trzech (przy 20°C) dniach od założenia doświadczenia (tab. 1).

W przypadku *S. feltiae* w najniższej z testowanych temperatur (15°C) porażenie wszystkich gąsienic *Galleria mellonella* w warunkach kontrolnych (K-Sf i K-Hm) nastąpiło po 72 godzinach kontaktu żywiciela z pasożytem, a w obecności z *H. megidis* po 96 godzinach. Wzrost temperatury o 5°C spowodował skrócenie czasu infekcji gąsienic barciaka większego przez współwystępujące ze sobą nicienie (Sf+Hm) do 72 godzin, natomiast podwyższenie temperatury o 10°C wpłynęło na skrócenie czasu porażenia wszystkich gąsienic do 48 godzin w kontroli.

Aktywność larw inwazyjnych *H. megidis* w temperaturze 15°C była wyraźnie spowolniona (tab. 1). Jednak wzrost temperatury o kolejne 5°C przyspieszał porażenie „owadów pułapkowych” przez *H. megidis*. W temperaturze 25°C martwe owady obserwowano już po 48 godzinach od kontaktu z tymi pasożytami w warunkach kontrolnych.

Ogólnie zaobserwowano, że reakcja nicieni współwystępujących ze sobą w podłożu na obecność żywiciela była spowolniona w temperaturze 15°C w stosunku do kontroli z *S. feltiae* oraz w temperaturze 25°C w porównaniu z obiema kontrolami (K-Sf i K-Hm), (tab. 1). Natomiast w 20°C infekcyjność obu gatunków nicieni względem testowanych owadów, we wszystkich wariantach, była porównywalna.

W warunkach współwystępowania nicieni *S. feltiae* i *H. megidis* w podłożu zaobserwowano, że w wyższych temperaturach (20 i 25°C) większość „owadów pułapkowych” *Galleria mellonella* była infekowana przez *S. feltiae* (tab. 2). Przykładowo, w temperaturze 20°C w prawie 90% sekcjonowanych owadów wyizolowano wyłącznie nicienie tego gatunku, natomiast w temperaturze 15°C liczebność obu gatunków nicieni w ciałach martwych żywicieli była porównywalna (tab. 2). Niezmienna we wszystkich wariantach temperaturowych pozostawała struktura płci *S. feltiae*, którą odnotowano w proporcji: 2/3 samic do 1/3 samców.

W temperaturze 15°C liczebność samic i samców *S. feltiae* w warunkach współwystępowania *H. megidis* była statystycznie istotnie mniejsza od ich liczebności w warunkach kontrolnych ($p = 0,03$ dla obu płci). W temperaturze 20°C zarówno liczebność samic, jak i samców w warunkach współwystępowania nie różniła się statystycznie istotnie od osiągniętej liczebności w kontroli. Natomiast w temperaturze 25°C

zaobserwowano, że w warunkach współwystępowania z *H. megidis*, nicienie *S. feltiae* osiągnęły statystycznie istotnie większą liczebność samic ($p = 0,02$) i samców ($p = 0,01$) niż w kontroli.

Tabela 1

Wpływ zróżnicowanej temperatury na zdolności infekcyjne nicieni owadobójczych *Steinernema feltiae* i *Heterorhabditis megidis* w warunkach kontrolnych oraz współwystępujących ze sobą w podłożu

Table 1

Influence of different temperature on infective ability of entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* in the control and co-occurrence in the soil

Warianty doświadczenia	Kontrola stopnia porażenia owadów				
	24 h	48 h	72 h	96 h	5 dzień
średni % porażonych „owadów pułapkowych”					
15°C					
K-Sf	0	0	100		
K-Hm	0	0	0	0	38%
Sf+Hm	0	0	21	100	
20°C					
K-Sf	0	0	100		
K-Hm	0	0	100		
Sf+Hm	0	0	100		
25°C					
K-Sf	0	100			
K-Hm	0	100			
Sf+Hm	0	0	100		

Sf - *Steinernema feltiae*, Hm - *Heterorhabditis megidis*, K - kontrola

Tabela 2

Wpływ zróżnicowanej temperatury na stopień porażenia „owadów pułapkowych” *Galleria mellonella* przez *Steinernema feltiae* i *Heterorhabditis megidis* z uwzględnieniem struktury płci testowanych gatunków nicieni

Table 2

Influence of different temperature on the degree of paralysis of *Galleria mellonella* insects trap by *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* including sexual structure of both species

	Temperatura [°C]		
	15	20	25
Liczba gąsienic (szt.) <i>Galleria mellonella</i> , z których wyizolowano <i>S. feltiae</i>	11/24	21/24*	16/24*
Liczba gąsienic (szt.) <i>Galleria mellonella</i> , z których wyizolowano <i>H. megidis</i>	9/24	0/24	1/24
Średnia liczebność samic (szt.) <i>S. feltiae</i> wyizolowanych w warunkach współwystępowania z <i>H. megidis</i>	35,6 ± 27,7*	51,3 ± 32,7	49,9 ± 18,4*
Średnia liczebność samic (szt.) <i>S. feltiae</i> wyizolowanych w warunkach kontrolnych	58,3 ± 19,3	52,9 ± 15,4	33,9 ± 13,3
Średnia liczebność samców (szt.) <i>S. feltiae</i> wyizolowanych w warunkach współwystępowania z <i>H. megidis</i>	17,2 ± 13,1*	26,9 ± 17,5	24,6 ± 10,1*
Średnia liczebność samców (szt.) <i>S. feltiae</i> wyizolowanych w warunkach kontrolnych	28,0 ± 10,2	28,1 ± 9,9	15,6 ± 5,6

* różnica statystycznie istotna w stosunku do osiągniętej w warunkach kontrolnych przy założeniu $p < 0,05$

Wnioski

1. Stwierdzono, że zarówno konkurencja międzygatunkowa, jak i zróżnicowane warunki termiczne mogą statystycznie istotnie wpływać na patogenność nicieni owadobójczych. W wyższych temperaturach - 20 i 25°C - w warunkach współwystępujących ze sobą nicieni *Steinernema feltiae* i *Heterorhabditis megidis*, prawie wszystkie „owady pułapkowe” *Galleria mellonella* były infekowane wyłącznie przez *S. feltiae*, który lepiej sobie radził w konkurencji międzygatunkowej. W niższych temperaturach (15°C) aktywność obu gatunków nicieni ulegała spowolnieniu, a ich zdolności infekcyjne wyraźnie zmniejszały się, szczególnie w przypadku ciepłolubnego gatunku *H. megidis*.
2. Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników warunkujących ruchliwość nicieni w podłożu, ich dalszy rozwój i zdolności reprodukcyjne. Wydaje się jednak, że efektywność porażania owadów przez nicienie, szczególnie konkurujące ze sobą o pokarm, może być także uzależniona od rodzaju strategii żerowania przyjętej przez określony gatunek nicienia oraz od jego kondycji. Bardziej ruchliwe gatunki, jak *S. feltiae*, które aktywnie penetrują środowisko, mają większe szanse na odnalezienie żywiciela w glebie i jego szybkie porażenie.

Podziękowanie

Praca finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2009-2011 w ramach Umowy nr 0791/B/P01/2009/36.

Literatura

- [1] Kaya H.K.: *Soil ecology*. [W:] Entomopathogenic Nematodes in Biological Control, red. R. Gaugler, K.H. Kaya, CABI Publishing, Rutgers University New Brunswick, New Jersey, USA, 1990, 93-115.
- [2] Mráček Z. i Webster J.M.: *Survey of Heterorhabditidae and Steinernematidae (Rhabditida, Nematoda) in Western Canada*. J. Nematol., 1993, **25**(4), 710-717.
- [3] Schirocki G.A. i Hague M.G.N.: *The effect of selective culture of Steinernema feltiae at low temperature on the establishment, pathogenicity, reproduction and size of infective juveniles*. Nematologica, 1997, **43**, 481-489.
- [4] Jaworska M. i Ropek D.: *Wpływ temperatury na inwazyjność owadobójczych nicieni*. [W:] Występowanie, aktywność i znaczenie, red. W. Barabasz. Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Kraków 1997, 245-250.
- [5] Wójcik W.F.: *Influence of temperature on the growth of the Neoplectana carpocapsae Weiser, 1955 nematodes*. Ann. Warsaw Agricult. Univ., SGGW-AR, 1986, **20**, 87-95.
- [6] Saunders E.J. i Webster M.J.: *Temperature Effects on Heterorhabditis megidis and Steinernema carpocapsae Infectivity to Galleria mellonella*. J. Nematol., 1999, **31**(3), 299-304.
- [7] Jaworska M.: *Wpływ niektórych czynników abiotycznych na patogeniczność nicieni owadobójczych umieszczonych na powierzchni gleby łącznie z żywicielem*. Zesz. Nauk. AR, 1992, **267**(20), 113-129.

INFLUENCE OF DIFFERENT TEMPERATURE ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES *Steinernema feltiae* AND *Heterorhabditis megidis* CO-OCCURRENCE IN THE SOIL

Abstract: Temperature is one of the most important factors influences nematode mobility, development and reproduction. On the basis of research it was found that the biological activity of co-occurrence nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* in the substratum was dependent on temperature and the time of conducted observations. In the higher temperature - 20 i 25°C - the baiting insects *Galleria* were most infected by

S. feltiae than thermophilous *H. megidis*, respectively from 66 to 99%. The biological activity of both species was delimited at the lower temperature (15°C). It seem that pathogenicity of entomopathogenic nematodes co-occurrence in the soil can depend on foraging strategy each of parasitic species.

Keywords: entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis megidis*, co-occurrence, infectivity, temperature