

## NICIENIE - PASOŻYTY OWOCNICY JABŁKOWEJ

Magdalena Jaworska

Instytut Ochrony Roślin AR w Krakowie

W roku 1974 na terenie sadu doświadczalnego AR w Mydlnikach koło Krakowa w trakcie badań [2] nad pasożytami owocnicy jabłkowej - Hoplocampa testudinea Klg. - stwierdzono występowanie w glebie nicieni porażających diapauzujące larwy i poczwarki tego szkodnika. Porażenie prowadziło zawsze do śmierci żywicieli. W okresie od 1974 do 1977 r. porażenie populacji owocnicy jabłkowej na wymienionym terenie utrzymywało się prawie na stałym poziomie. W oprzędach widoczne były 1 lub 2 otwory średnicy szpilki, a wewnątrz martwe, zaschnięte okazy owocnicy porażone przez nicienie z rodzin: Mermithidae, Rhabdithidae i Steinernematidae. W kilku wypadkach na oskórku martwych larw owocnicy znajdowano w oprzędach zaschłe larwy Mermithidae /rys. 1/. Liczba larw owocnicy zniszczonych przez Mermithidae była niewielka i sięgała do 2,3%. Ze względu na niskie porażenie owocnicy, trudną i długą hodowlę Mermithidae oraz trudności z systematyką tej grupy, nie prowadzono szczegółowych badań nad przydatnością nicieni w biologicznym zwalczaniu owocnicy jabłkowej.

W oprzędach owocnicy znajdowano również larwy zniszczone przez nicienie o bardzo małych rozmiarach ciała, należące do rodzin Rhabdithidae i Steinernematidae. Martwe larwy owocnicy były najczęściej zaschnięte, płaskie i czarne. W kilku przypadkach znaleziono w oprzędach martwe larwy owocnicy otoczone jakby siateczką utworzoną z olbrzymiej ilości larw inwazyjnych nicieni /rys. 2/.

Podczas analiz oprzędów owocnicy wykonywanych wiosną po wylotach imagines znajdowano niewielką ilość martwych larw /diapauzujących ponad rok/ porażonych przez nicienie. Wskazuje to na możliwość przenikania larw inwazyjnych nicieni przez ścianki oprzę -

dów żywiciela. Nicienie z rodziny Rhabditidae występowały w oprzędach, w których larwy porażone były również przez owadobójcze grzyby. Nicienie z rodziny Steinernematidae występowały natomiast w larwach, w których nie stwierdzono grzybów owadobójczych. Ogólna ilość larw owocnicy zniszczonych przez nicienie z rodziny Steinernematidae i Rhabditidae była mała i wahała się od 2,1% w sezonie 1976/1977 do 10,6% w sezonie 1974/1975 /tab. 1/.

T a b e l a 1

Porażenie larw owocnicy jabłkowej przez nicienie z rodziny Mermithidae, Rhabditidae i Steinernematidae

Invasion of the apple sawfly larvae in cocoons by nematodes of the Mermithidae, Rhabditidae and Steinernematidae family

Sezon Season	Liczba badanych oprzędów Number of inves- tigated cocoons	Larwy porażone przez: Larvae infested by:			
		<u>Mermithidae</u>		<u>Steinernematidae</u> and <u>Rhabditidae</u>	
		sztuk inviduals	%	sztuk inviduals	%
1973/74	928	5	0,5	24	2,6
1974/75	663	22	3,2	70	10,6
1975/76	580	1	0,2	43	7,4
1976/77	635	0	0	13	2,1
----- Razem Total	2806	28	1,0	150	5,4

W warunkach laboratoryjnych nicienie z rodziny Rhabditidae, aplikowane znaną metodą szalkową [1], nie zawsze zarażały larwy owocnicy. Nicienie z rodziny Steinernematidae, określone jako Heterorhabditis sp., wykazywały natomiast wysoką patogeniczność w stosunku do larw owocnicy, larw jej pasożyta - gąsienicznika Lathrolestes marginatus, a także innych owadów /tab. 2/. Larwy owocnicy ginęły już po 48 godz od zarażenia, przybierały zabarwienie od pomarańczowego poprzez ciemnoczerwone do czerwono-brązowego /rys. 3/. Martwe larwy żywiciela nie ulegały rozkładowi, zanim nie powstały znów larwy inwazyjne nicieni. Jak wiadomo, obraz ten jest



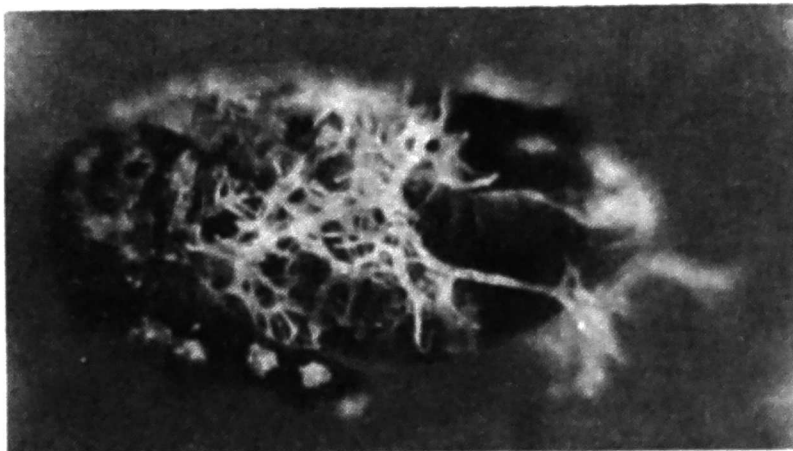
Rys.1. Nicienie z rodziny Mermithidae wewnątrz oprędu larwy owocnicy jabłkowej

Fig. 1. Nematode of Mermithidae family inside cocoon of apple sawfly larvae



Rys.2. Heterorhabditis sp. w larwie owocnicy jabłkowej

Fig.2. Heterorhabditis sp. in the apple sawfly larvae



Rys. 3. Zmarłe larwy inwazyjne nicieni na martwej larwie owocnicy jabłkowej

Fig. 3. Dead infective larvae of nematodes on dead apple sawfly larvae

charakterystyczny dla owadów porażonych również przez nicienie z rodzaju Neoplectana [3]. Na uwagę zasługuje jednak luminescencyjne świecenie w ciemności martwych owadów porażonych przez tego nicienia, co świadczy o prawidłowym zaliczeniu go do rodzaju He-

terorhabditis sp.[4]. Podjęte badania laboratoryjne i polowe nad Heterorhabditis sp. miały na celu określenie przydatności pasożyta do redukcji liczebności owocnicy jabłkowej.

T a b e l a 2

Wykaz żywicieli Heterorhabditis sp.The host list of Heterorhabditis sp.

Żywiciel Host	Wrażliwość Susceptibility
<u>Hymenoptera</u>	
<u>Hoplocampa testudinea</u> Klug. - larwy larvae	++
<u>Lathrolestes marginatus</u> Thoms. - larwy larvae	++
<u>Lepidoptera</u>	
<u>Galleria mellonella</u> L. - larwy larvae	++
<u>Galleria mellonella</u> L. - poczwarki pupae	+
<u>Operophtera brumata</u> L. - larwy larvae	++
<u>Nuctuidae</u> - larwy larvae	++
<u>Diptera</u>	
<u>Tipulidae</u> - larwy larvae	+
<u>Coleoptera</u>	
<u>Tenebrio molitor</u> L. - larwy larvae	++
<u>Tenebrio molitor</u> L. - imagines	±
<u>Anthonomus pomorum</u> L. - larwy larvae	++
<u>Anthonomus pomorum</u> L. - poczwarki pupae	+
<u>Anthonomus pomorum</u> L. - imagines	±
<u>Coccinellidae</u> - imagines	±

++ Bardzo wrażliwy,  
Very susceptible,

+ wrażliwy,  
susceptible,

± mało wrażliwy,  
little susceptible.

## MATERIAŁ I METODY

Do doświadczeń laboratoryjnych stosowano zawiesinę wodną larw inwazyjnych nicienia Heterorhabditis sp. otrzymaną z hodowli szalkowych prowadzonych na larwach owocnicy i mącznika młynarka /Tenebrio molitor L./. Larwy owocnicy o ciężarze ciała mieszczącym się w granicach 25-35 mg zakażano indywidualnie nicieniami metodą kokonu inokulacyjnego [1]. Zastosowano trzy dawki inicjalne nicieni - 25, 50 i 100 larw inwazyjnych w 0,5 ml 0,001% wodnego roztworu formaliny na 1 larwę owocnicy. Larwy kontrolne owocnicy traktowano odpowiednio 0,001% roztworem wodnym formaliny. Śmiertelność larw żywiciela sprawdzano co 12 godzin przez 5 dni. Aby zbadać wrażliwość larw owocnicy spasożytowanych przez gąsieniczniki na zarażenie nicieniami, wybrano 30 larw zawierających po 1 jaju pasożyta i zarażano je stosując na każdą po 100 larw inwazyjnych. Badano też możliwość zarażenia larw owocnicy zamkniętych wewnątrz oprzędów. W tym celu 100 larw owocnicy w oprzędach zainfekowano indywidualnie 100 larwami inwazyjnymi nicieni. Co 12 godzin przez 5 dni otwierano po 10 oprzędów i sprawdzano żywotność znajdujących się wewnątrz larw owocnicy.

Z powodu wyginięcia nicieni Heterorhabditis sp., przechowywanych przez kilka lat w lodówce, w czerwcu 1978 r. powtórnie wyizolowano je z gleby z sadu RZD Mydlniki, gdzie pierwotnie je znaleziono. W tym celu zastosowano prostą metodę, polegającą na eksponowaniu testowych owadów /larw mącznika młynarka/ na próbkach gleby pobranych z sadu. Metoda okazała się skuteczna, gdyż po upływie kilku dni część testowanych owadów zmarła z objawami charakterystycznymi dla porażenia przez Heterorhabditis sp., co potwierdzono również badaniami mikroskopowymi. Z uzyskanych larw inwazyjnych nicieni sporządzono wodną zawiesinę o koncentracji 30 000 larw nicieni w 1 ml. Larwy owocnicy umieszczono po 100 sztuk w 12 wydezynfekowanych formaliną doniczkach /o średnicy 20 cm i wysokości 25 cm/ napełnionych wysterylizowanym przez pranie piaskiem. Doniczki wkopano w sadzie. Nicienie Heterorhabditis sp. stosowano w dawce 300 000 larw inwazyjnych na 1 doniczkę w dwóch okresach - przed włożeniem larw owocnicy do doniczek i w 5 dni później, gdy włożone larwy sporządziły już oprzędy. Zastosowano podwójną kontrolę i trzy powtórzenia. Po dwóch miesiącach kontaktu z nicieniami ziemię z doniczek przesiano, a znalezione oprzędy owocnicy otwarto i policzono larwy martwe wskutek nemato-



zy. Wyniki przeliczono na stopnie kątowe Blissa i poddano analizie wariancji.

### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzono, że wszystkie /trzy/ stosowane dawki larw inwazyjnych Heterorhabditis sp. spowodowały zamieranie 100% larw owocnicy jabłkowej /rys. 4/. Im większa była dawka nicieni, tym szybciej zamierały larwy żywiciela. Przy dawkach 25 i 50 larw inwazyjnych pierwsze owady ginęły już po 12 godzinach od chwili kontaktu z nicieniami. Spasożytowane przez gąsieniczniki larwy owocnicy jabłkowej były tak samo wrażliwe na porażenie przez nicienie, jak nie spasożytowane, gdyż zamierały w 100% już po 84 godzinach.

Larwy owocnicy zamknięte w oprzędach były bardziej odporne na porażenie przez nicienie. W piątym dniu doświadczenia zaledwie 20% oprzędzonych larw zostało zabitych przez larwy inwazyjne Heterorhabditis sp., zastosowane w dawce 100 larw inwazyjnych nicienia na jednego żywiciela.

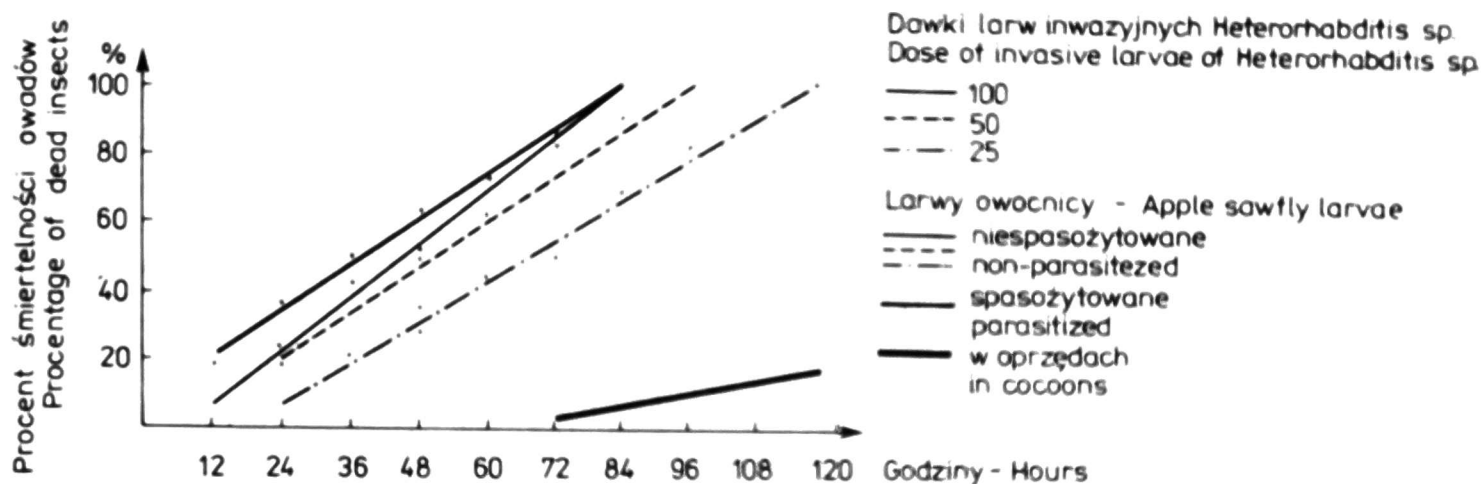
Wyniki doświadczenia polowego, przeprowadzonego w 1978 r. nad doglebowym wprowadzeniem Heterorhabditis sp. w okresie schodzenia larw owocnicy jabłkowej na diapauzę i po utworzeniu przez larwy oprzędów, podano w tabeli.

T a b e l a 3

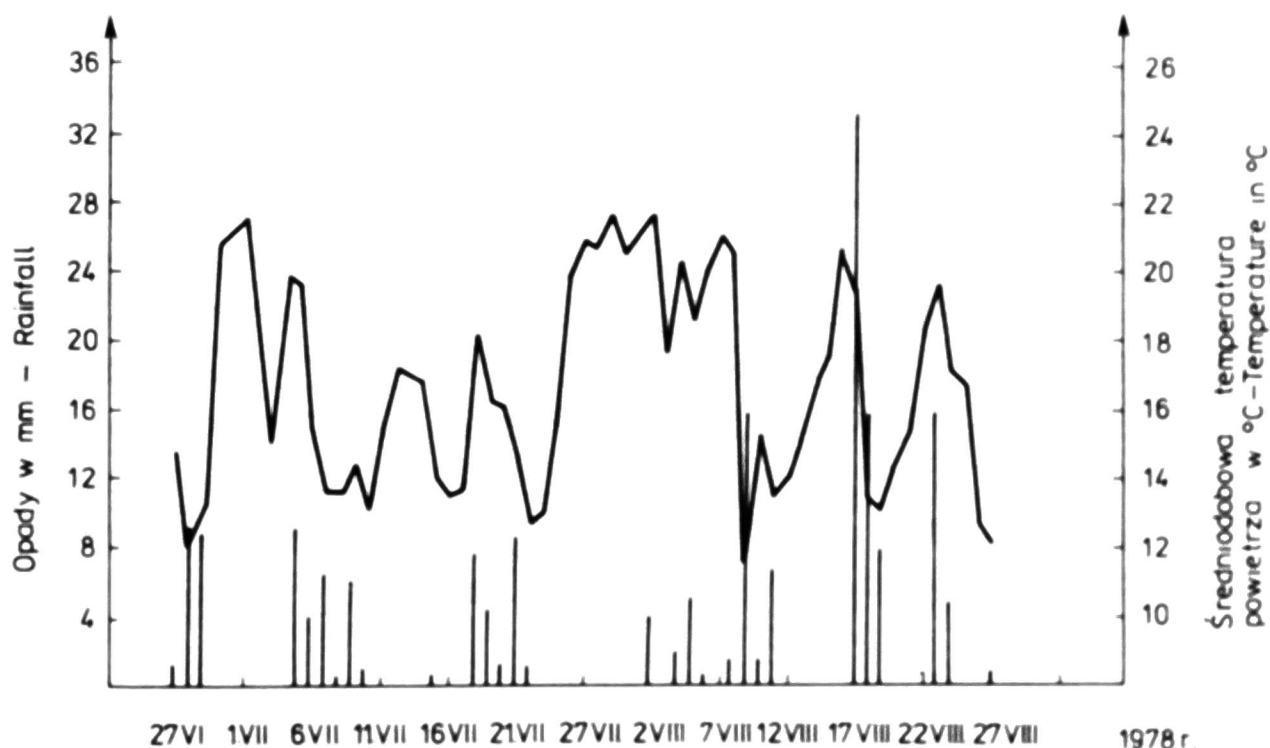
Wartość testu F w analizie wariancji wyników doświadczenia polowego w 1978 r.

Tests F in the analysis of variance results of field experiment in 1978

Zmienność Variance	F <sub>obl.</sub>	F <sub>0,05</sub>	F <sub>0,01</sub>
<u>Heterorhabditis</u> sp. i kontrola and check	14,99 <sup>++</sup>	5,1	10,56
<u>Heterorhabditis</u> sp. I i II termin I and II period	1,63		



Rys. 4. Krzywe śmiertelności larw owocnicy jabłkowej  
 Fig. 4. Mortality curves for apple sawfly larvae



Rys. 5. Temperatura powietrza i opady w okresie stosowania Heterorhabditis sp. przeciwko owocnicy jabłkowej  
 Fig. 5. Temperature of air and rainfall during application of Heterorhabditis sp. against apple sawfly larvae

Śmiertelność larw owocnicy dwa miesiące po wprowadzeniu nicieni w okresie schodzenia larw na diapauzę wynosiła 99,3%. W tej serii doświadczenia, gdzie nicienie wprowadzono do gleby, gdy owocnica sporządziła już oprzędy, śmiertelność wynosiła 58%. Śred-

nia śmiertelność larw kontrolnych wynosiła 13,3%. Analiza wariancji i obliczone wartości *F* wykazały, że śmiertelność wywołana przez Heterorhabditis sp. była istotnie większa od śmiertelności w kontroli /tab. 3/. Brak było natomiast istotnej różnicy między śmiertelnością przy różnych terminach stosowania nicieni. Na podkreślenie zasługuje fakt, że lipiec i sierpień 1978 r., w czasie których następowało porażenie larw owocnicy przez nicienie, były wyjątkowo chłodne /rys. 5/. Średnia temperatura powietrza w lipcu wynosiła 16,3°C /średnia z wielolecia 18,8°C/ przy małych opadach 50,8 mm, natomiast średnia miesięczna temperatura powietrza w sierpniu wynosiła 16,6°C /średnia z wielolecia 17,5°C/, ale przy dużej ilości opadów wynoszącej 127,3 mm /norma z wielolecia 95 mm/.

Mimo więc nietypowych warunków meteorologicznych uzyskano wysoką skuteczność stosowanych nicieni. Jest to zapewne wynik z jednej strony dużych właściwości inwazyjnych i pasożytniczych Heterorhabditis sp., a z drugiej niskich wymagań termicznych tych nicieni, które według danych z literatury [1] wykazują pełną aktywność fizjologiczną już w temperaturach od 11 do 15°C.

Reasumując należy stwierdzić, że choć w warunkach naturalnych liczebność diapauzujących w glebie larw owocnicy jabłkowej jest ograniczona przez pasożytnicze nicienie z rodziny Mermithidae, Rhabditidae i Steinernematidae, to jednak największe szanse praktycznego wykorzystania do zwalczania tego szkodnika wykazały nicienie z rodziny Steinernematidae, określone jako Heterorhabditis sp. Wynika to z dużej patogeniczności, jaką nicienie Heterorhabditis sp. wykazały w stosunku do larw owocnicy w doświadczeniach laboratoryjnych i polowych, a także z łatwości hodowli tego nicienia na różnych owadach testowych i możliwości długotrwałego ich przechowywania.

#### LITERATURA

1. Brzeski M. W., Sandner H.: Zarys nematologii. PWN, Warszawa, 1974
2. Jaworska M.: Badania nad możliwością ograniczenia populacji owocnicy jabłkowej, Hoplocampa testudinea Klg./Hymenoptera, Tenthredinidae/, przez pasożytnicze grzyby, nicienie i błonkówki. Maszynopis pracy doktorskiej, Wydział Ogrodniczy Akademii Rolniczej, Kraków, 1979



3. Poinar G. O., JR.: Neoplectana parasitism of larvae of the greater wax moth. Galleria mellonella. J. Invert. Pathol., 9: 241-246, 1967
4. Poinar G. D., JR.: Description and biology of a new insect parasitic rhabditoid, Heterorhabditis bacteriophora n. gen., n. sp. /Rhabditida, Heterorhabditidae n. fam./. Nematologica, 21: 463-470, 1975

M. Jaworska

NEMATODES AS PARASITES OF EUROPEAN APPLE SAWFLY,  
HOPLOCAMPA TESTUDINEA KLG.

S u m m a r y

In 1974-1977 in soil of the experimental orchard of Mydlniki near Kraków parasitic nematodes were found. They infested diapausing larvae and pupae of the apple sawfly. Dead individuals parasitized by nematodes of the Mermithidae, Rhabditidae and Steinernematidae family were found in cocoons of apple sawfly. In the laboratory experiments only nematodes from Steinernematidae family, belonging to the genus Heterorhabditis, showed high pathogenicity to apple sawfly larvae, also to those parasitized by Ichneumonidae and other insects. The larvae of apple sawfly closed in cocoons were most resistant to invasion by Heterorhabditis sp. These nematodes introduced into soil, when apple sawfly larvae intended to diapause and after their closing in cocoons, caused a significantly greater mortality than in check respectively 99 and 58%.

М. Яворска

НЕМАТОДЫ - ПАРАЗИТЫ ЯБЛОННОГО ПЛОДОВОГО ПИЛИЛЬЩИКА  
HOPLOCAMPA TESTUDINEA KLG.

Р е з ю м е

В 1974-1977 гг на территории опытного сада в Мыдльниках около Кракова было установлено появление в почве паразитических нематод.

Они поражали диапаузирующие ложногусеницы и куколки яблонного пилильщика. В коконах пилильщика были обнаружены мертвые представители паразитированные нематодами из сем. *Mermithidae*, *Rhabditidae* и *Steinernematidae*. В лабораторных опытах лишь нематоды из сем. *Steinernematidae* определены как *Heterorhabditis* sp. объявляли большую патогенность относительно ложногусениц яблонного пилильщика, ложногусениц паразитированных наездниками (*Ichneumonidae*) и других насекомых. Ложногусеницы пилильщика замкнутые в коконах были неподатливы на поражение нематодами. Эти нематоды введены в почву в период ухода ложногусениц на диапаузу и после их кокони-рования вызывали смертность соответственно 99% и 58%, статистически существенную по отношению к контролю.