

BARBARA GŁOWACKA-PILOT

Bakteryjne choroby larw boreczników

Бактерийные болезни личинок пилильчиков

Bacterial diseases of larvae of *Diprionidae*

WSTĘP

Masowe zamieranie larw boreczników było w Europie obserwowane wielokrotnie. W przeciwieństwie do epizoocji borecznika rudego *Neodiprion sertifer* Geoffr., które są wywoływane przez wirusa nuklearnej poliedrozy jelitowej, przyczyną chorób larw *Diprion* sp. są często gramujemne bakterie niesporujące. O bakteriozie larw borecznika, która doprowadziła do znacznej redukcji populacji szkodnika w okolicach Leningradu i na Ukrainie, a która spowodowana była przez niesporującą pałeczkę *Bacillus septicemiae lophyri* pisał Shiperovitsch (2). W 1959 r. Koehler i wsp. w wielu nadleśnictwach obserwowali zalamanie się gradacji borecznika sosnowca *Diprion pini* L. na skutek nieokreślonej bakteriozy (6). W 1971 r. w nadl. Antonin (OZLP Poznań) z licznie zamierających larw borecznika sosnowca wyizolowano i określono jako przyczynę śmierci gramujemną bakterię *Serratia marcescens* Bizio (4).

W latach 1975—78 obserwowano zameiranie larw borecznika sosnowca w nadl. Jędrzejów, Gidle i Pińczów (OZLP Łódź), borecznika podobnego *Diprion simile* Htg, w nadl. Dąbrowa i Różanna (OZLP Toruń) oraz borecznika jasnorzuchego *Gilpinia pallida* Kl. w nadl. Augustów (OZLP Białystok). Wyniki badań nad przyczynami zamierania larw oraz prób infekcji zdrowych larw borecznika podobnego i sosnowca szczepami 4 gatunków wyizolowanych bakterii niesporujących przedstawiono w niniejszej pracy.

MATERIAŁY I METODYKA

Chore i martwe larwy I generacji zebrane w lipcu lub II generacji zebrane we wrześniu na ściółce lub w koronach ściętych drzew poddawano w laboratorium badaniom mającym na celu wykrycie patogennych mikroorganizmów. Wstępne wyniki mikroskopowych analiz ściany jelita, ciała tłuszczowego, tchawek, gruczołów przednich i cewek Malpighiego wykluczyły obecność grzybów, pierwotniaków i poliedrów wirusowych,

wykazały natomiast obecność pałek bakteryjnych. Szczególnie liczne, przeważnie ruchliwe, komórki bakteryjne znajdowano w osoczu hemolimfy chorych, żywych jeszcze larw i w tych przypadkach przeprowadzano izolację patogenów.

W tym celu kroplę hemolimfy rozcieńczano w 5 ml sterylnej wody, po czym 1 kroplę otrzymanej zawiesiny posiewano na agar bulionowy w płytkach Petriego. Po 2—3-dniowej inkubacji w temperaturze 27°C, różniące się morfologicznie kolonie bakteryjne posiewano na skosy agarowo-bulionowe. W podobny sposób izolowano bakterie z martwych larw znalezionych w kokonach zebranych późną jesienią lub wiosną następnego roku w drzewostanach, gdzie wcześniej obserwowano epizootię.

Oznaczanie wyizolowanych szczepów bakteryjnych przeprowadzano na podstawie porównania ich cech morfologicznych, hodowlanych i biochemicznych na podłożach przygotowanych wg Skermána (10) oraz „Manual of Microbiological Methods” (9). Identyfikację przeprowadzano w oparciu o „Identification Methods for Microbiologists” (3). Wszystkie hodowle na podłożach agarowych i płynnych prowadzono w temperaturze 27°C. Uplynnianie żelatyny badano w temperaturze pokojowej.

W celu wyjaśnienia, czy wyizolowane bakterie charakteryzują się zjadliwością i czy zdolne są do wywołania choroby, przeprowadzono próbę sztucznej infekcji larw 2 gatunków boreczników 4 losowo wybranymi szczepami należącymi do rodzajów *Enterobacter*, *Pseudomonas* i *Streptococcus*. W kwietniu i maju 1978 r. bukiety gałęzi sosnowych opryskano przy pomocy opryskiwacza laboratoryjnego młodą (18—20 godz.) bulionową hodowlą bakterii rozcieńczoną zależnie od intensywności wzrostu sterylną wodą tak, aby w 1 ml zawiesiny znajdowało się $1-3 \times 10^6$ komórek bakteryjnych. Bakterie liczono w komorze Thoma. Po przesuszeniu gałęzi w temperaturze pokojowej umieszczano na nich larwy III stadium borecznika sosnowca lub borecznika podobnego, wyhodowane w laboratorium z jaj złożonych przez imagines otrzymane ze zdrowych kokonów zebranych zimą 1977 r. Każdym badanym szczepem bakteryjnym zakażono po 50 larw obu gatunków boreczników. Larwy kontrolne hodowano na gałęziach opryskanych wodą. W czasie hodowli obserwowano intensywność żeru i śmiertelność badanych larw oraz przeprowadzano próby reizolacji z martwych osobników bakterii użytych do infekcji.

WYNIKI

W tabeli przedstawiono wyniki obserwacji cech morfologicznych i fizjologicznych niektórych wyizolowanych szczepów bakterii. Ogółem z hemolimfy 705 badanych chorych i martwych larw trzech gatunków boreczników wyszczepiono 555 szczepów gramujemnych, niesporujących, urzęsionych perytrychalnie pałek, fermentujących glukozę na podłożu Hugh Leifsona, które zaliczono do gatunku *Enterobacter cloacae* (462 szczepy), *E. aerogenes* (89 szczepów) i *Proteus vulgaris* (4 szczepy). 47 wyizolowanych gramujemnych, urzęsionych biegunowo pałek utleniało glukozę na podłożu Hugh Leifsona i wytwarzało zielony, rozpuszczalny w podłożu barwnik. Na tej podstawie zaklasyfikowano je do rodzaju *Pseudomonas*. W 8 przypadkach wyizolowano gramodatnie, nieruchliwe szczepy paciorkowca *Streptococcus* sp.

**Cechy morfologiczne i fizjologiczne
niektórych wyizolowanych szczepów bakteryjnych**

Badana cecha	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
wymiary w μ	0,5—0,8×1—1,8	0,5—0,7×1—1,8	0,5—0,8×1—2,5
glukoza	+	+	+
laktoza	+	+	—
maltoza	+	+	+
sacharoza	+	+	+
ksyloza	+	+	+
salicyna	+	+	+
mannitol	+	+	—
adonitol	—	+	—
inozytol	—	+	—
indol	—	—	+
czerveń metylowa	—	—	—
acetylmetylkarbinol	+	+	+
cytrynian amonu	+	+	+
siarkowodór	—	—	+
redukcja azotanów	+	+	+
ureaza	—	—	+
żelatyna	+	—	+
KCN	+	+	+
fenyloalanina	—	—	+
arginina (dezamin.)	+	—	—
lizyna (dezamin.)	—	+	—
ornityna (dezamin.)	—	+	—

Naturalne bakteryjne epizooce boreczników rozwijały się tylko w przypadkach ich masowego występowania i dotyczyły larw zarówno I jak i II generacji.

1. Borecznik sosnowiec *Diprion pini* L.

We wrześniu 1975 r. wykryto w nadl. Jędrzejów wzmożone występowanie borecznika sosnowca. W tym czasie larwy II generacji znajdowały się w IV—V stadium rozwojowym i spowodowały dość duże uszkodzenia w drzewostanach. Ponieważ jednocześnie stwierdzono wśród nich objawy epizooce, zrezygnowano z akcji chemicznego zwalczania. Z 30 zebranych na ściółce chorych larw wyizolowano 30 szczepów niesporujących, gramujemnych pałek, które określono jako *Enterobacter cloacae* (27 szczepów), *E. aerogenes* (2 szczepy) i *Proteus vulgaris* (1 szczep). Przeprowadzone w 1976 r. analizy kokonów zebranych w drzewostanie wiosną wykazały, że populacja utrzymywała się w przedłużonej diapauzie, a jej zdrowotność stopniowo zmniejszała się z powodu chorób i porażenia przez owady pasożytnicze. Z 240 larw w kokonach, w których wykryto bakteriozę, wyizolowano 227 szczepów *E. cloacae*, 10 szczepów *E. aerogenes* i 3 szczepy *P. vulgaris*.

W 1975 r. w nadl. Gidle przeprowadzono w pierwszych dniach września akcję zwalczania larw II generacji borecznika sosnowca. W połowie września, w drzewostanach, w których nie prowadzono zwalczania, stwierdzono objawy choroby epizootycznej larw (ryc. 1). Z 30 zebranych w drzewostanie chorych larw wyizolowano 20 szczepów *E. cloacae* i 10 szczepów *E. aerogenes*. Podobnie jak w nadl. Jędrzejów, część larw zdążyła sporządzić kokony, jednakże wiosną 1976 r. tylko niewiele z nich przerwało diapauzę. Analizy zebranych zimą kokonów wykazały porażenie przez owady pasożytnicze i mikroorganizmy. Z 35 badanych kokonów wyizolowano 11 szczepów bakterii, które oznaczono jako *E. aerogenes* (6 szczepów) i *E. cloacae* (5 szczepów).



Ryc. 1. Martwa larwa borecznika sosnowca *Diprion pini* L.

We wrześniu 1977 r. w nadl. Pińczów stwierdzono wzmożone występowanie borecznika sosnowca. Zwalczania chemicznego nie przeprowadzono, ponieważ kontrola liczebności wykazała, że na 1 drzewo przypada poniżej 300 larw, a więc nie stanowiły one zagrożenia dla drzewostanu. Obserwacje wykazały ponadto, że część larw uległa epizoocji bakteryjnej. Z 30 zebranych chorych larw wyizolowano 13 szczepów *E. cloacae*. Przeprowadzone następnie badania kokonów wykazały zmniejszającą się nadal zdrowotność larw. Z 50 badanych kokonów wyizolowano 17 szczepów *E. cloacae* i 4 szczepów *E. aerogenes*. Analizy przeprowadzone wiosną 1978 r. wykazały, że większość larw pozostała w kokonach w diapauzie.

2. Borecznik podobny *Diprion simile* Htg.

W lipcu 1977 r. obserwowano masowe zamieranie larw I generacji borecznika podobnego w nadl. Dąbrowa i Różanna. Część populacji, która przeżyła epizoocję, popadła w przedłużającą się diapauzę tak, że nie

było konieczności zwalczania larw II generacji. Ze 150 larw zebranych w drzewostanach wyizolowano 142 szczepy bakterii należące do rodzaju *Pseudomonas* (47 szczepów), *Enterobacter* (87 szczepów) i *Streptococcus* (8 szczepów). W styczniu 1978 r. wykonano analizę kokonów zebranych w poprzednim roku późną jesienią. Wyizolowano 90 szczepów, które następnie zidentyfikowano jako *E. cloacae* (69 szczepów) i *E. aerogenes* (21 szczepów).

3. Borecznik jasnobrzuchy *Gilpinia pallida* Kl.

W 1978 r. stwierdzono w nadl. Augustów występowanie borecznika jasnobrzuchego. Zabiegów zwalczania nie przeprowadzono, stwierdzono natomiast bakteryjną epizoocję larw. Z zebranych w drzewostanie materiałów wyizolowano 50 szczepów bakteryjnych, które określono jako *E. cloacae* (36 szczepów) i *E. aerogenes* (14 szczepów). Również i w 1979 r. borecznik nie był zwalczany, ponieważ wiosenne analizy kokonów wykazały, że duża część populacji larw pozostała w diapauzie lub zmarła w wyniku działania chorób i owadów pasożytniczych.

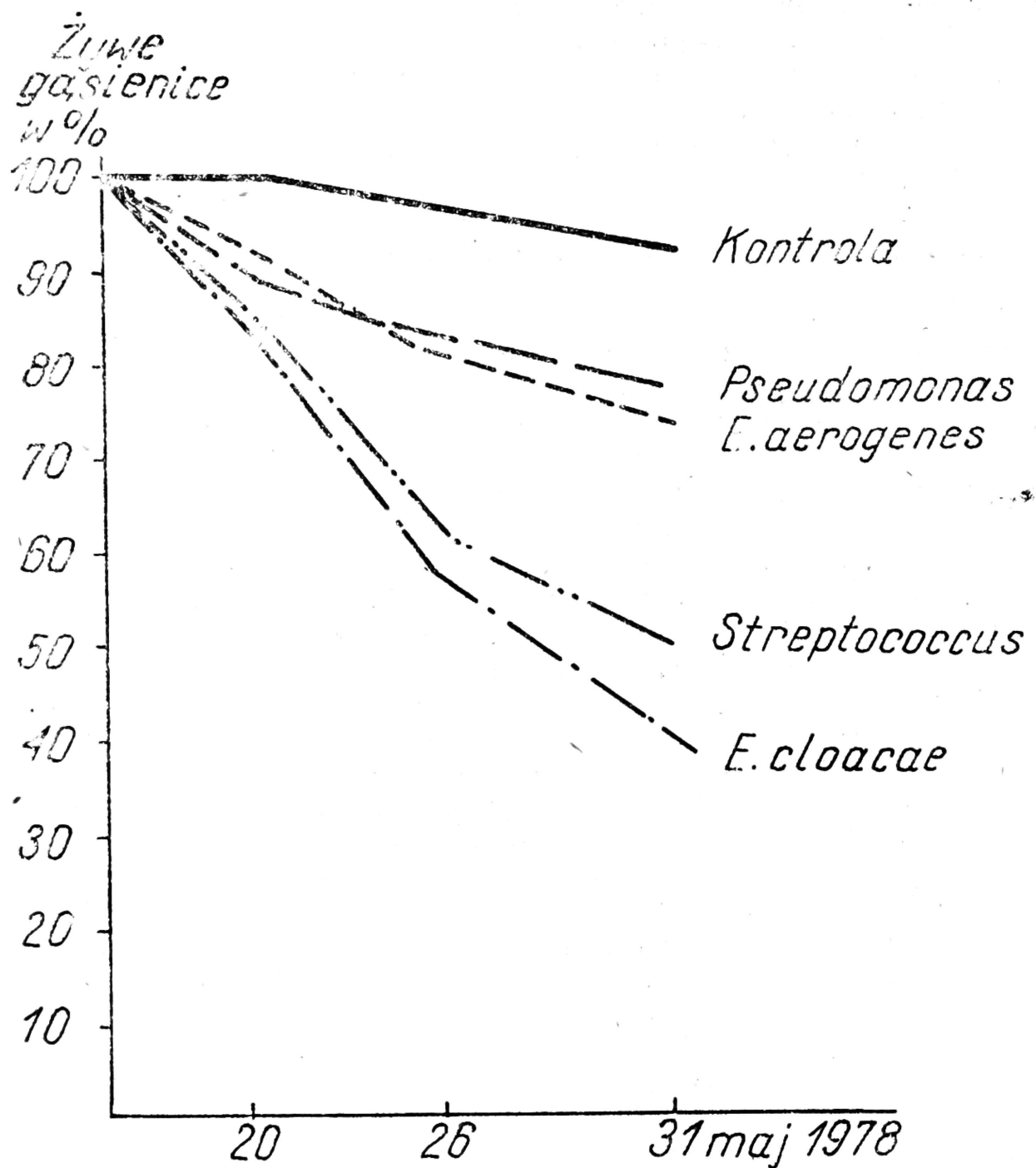
Z przeprowadzonych w kwietniu i maju 1978 r. eksperymentów polegających na infekowaniu hodowanych w laboratorium larw boreczników sosnowca i podobnego 4 szczepami bakterii wyizolowanych z materiałów zebranych w drzewostanach, gdzie rozwijała się naturalna epizoocja, wynika (ryc. 2—3), że w porównaniu ze śmiertelnością larw kontrolnych (8—14%) larwy hodowane na gałęziach opryskanych zawiesiną bakterii *E. cloacae* i *Streptococcus* sp. zamierały w wyższym procencie (58—60% i 50—54%), natomiast śmiertelność w hodowlach traktowanych szczeem *Pseudomonas* sp. i *E. aerogenes* była niewiele wyższa od kontrolnej (22—28% i 24—26%). Podczas prób reizolacji użytych do infekcji bakterii udało się powtórnie wyizolować bakterię *E. cloacae* i *Streptococcus* sp. z 70 i 30% infekowanych larw. Podczas próby reizolacji *Pseudomonas* sp. i *E. aerogenes* w 64 i 48% wyizolowano bakterię *E. cloacae*.

DYSKUSJA I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przeprowadzone obserwacje kilku pojawów boreczników podobnego, sosnowca i jasnobrzuchego wskazują, że w niektórych przypadkach niesporujące bakterie gramujemne powodując choroby larw odgrywają rolę czynnika regulującego liczebność populacji. Interesujący jest fakt, że larwy które przeżyły epizoocję i sporządziły kokony z reguły popadały w przedłużającą się diapauzę. Ich zdrowotność stopniowo się zmniejszała, tak że w latach następnych nie było potrzeby przeprowadzania zabiegów zwalczania.

Wyizolowane w czasie epizoocji szczepy gatunków *Enterobacter cloacae* i *E. aerogenes* są bardzo zbliżone do opisanego w 1973 r. patogena larw borecznika sosnowca — bakterii *Serratia marcescens* (4), od której różnią się kilkoma cechami biochemicznymi, takimi jak zdolność fermentacji laktozy, dulcytolu i ksylozy lub dezaminacji niektórych aminokwasów.

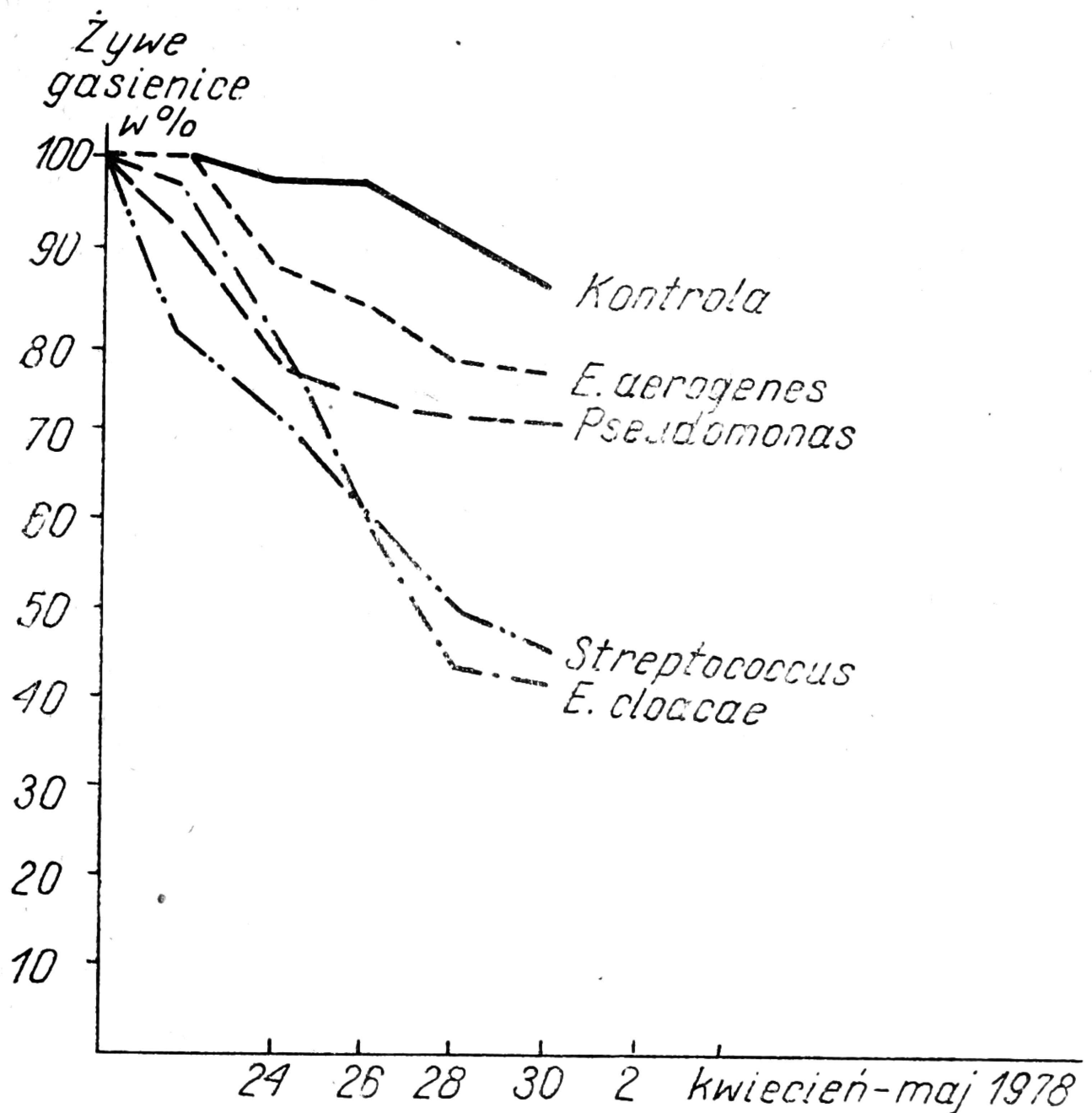
Laboratoryjne próby infekcji larw wyizolowanymi 4 szczepami bakterii wykazały, że charakteryzują się one podobną zjadliwością w stosunku do obu badanych gatunków boreczników (ryc. 2—3). Wyraźnie wyż-



Ryc. 2. Wrażliwość larw borecznika sosnowca *Diprion pini* L. na infekcję bakteriami niesporującymi

szą śmiertelność (50—60%) obserwowano w hodowlach larw infekowanych szczepami *Streptococcus* sp. i *E. cloacae*, nieco niższą (22—28%) w hodowlach infekowanych szczepami *E. aerogenes* i *Pseudomonas* sp. Niektóre z nich wykryto w infekowanych larwach w czasie reizolacji (*E. cloacae* i *Streptococcus* sp.), natomiast rola pozostałych (*E. aerogenes* i *Pseudomonas* sp.) mogła polegać na osłabieniu owada i umożliwieniu wniknięcia do jamy ciała znajdującej się w jelicie bardziej zjadliwej i szybciej rozmnażającej się endemicznej pałki *E. cloacae*.

Bakteryjne choroby owadów rozwijające się w naturalny sposób w przyrodzie powodowane są najczęściej przez pałki należące do rodzaju *Pseudomonas* lub rodziny *Enterobacteriaceae*. Znane są również



Ryc. 3. Wrażliwość larw borecznika podobnego *Diprion simile* Htg. na infekcję bakteriami niesporującymi

bakteriozy wywoływane przez paciorkowce *Streptococcus*. Prowadzone w latach 1967—76 w Zakładzie Ochrony Lasu IBL prace nad identyfikacją szczepów bakterii wyizolowanych z jamy ciała 1013 chorych lub martwych osobników 18 gatunków owadów leśnych wykazały (5), że w większości należały one do gramujemnych pałeczek z rodzaju: *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* i *Pseudomonas*. Bakterie te są rozpowszechnione w otoczeniu owadów, w ich pokarmie i przewodzie pokarmowym jako saprofity lub komensale. Nadmierny wzrost gęstości populacji szkodnika powoduje pogorszenie warunków życiowych, m.in. pokarmowych, co z kolei pociąga za sobą osłabienie mechanizmów obronnych organizmu. Wówczas nawet mało zjadliwe bakterie są w stanie naruszyć równowagę między mikro- i makroorganizmem i spowodować zachorowanie. Przegęszczenie żywiciela umożliwia pasażę drobnoustrojów, co znacznie

zwiększa ich inwazyjność, czyli możliwość wnikania do organizmu owada oraz zjadliwość, czyli zdolność pokonywania jego mechanizmów obronnych, i w efekcie doprowadza do rozwoju choroby o charakterze epizootycznym. Wszystkie opisane powyżej wyizolowane z chorych larw boreczników bakterie znane są jako potencjalne patogeny owadów. Choroby przez nie powodowane nie są wprawdzie tak powszechne jak np. wirozy, tym niemniej niektóre z nich były wykorzystywane z różnym skutkiem w ochronie roślin. Przedmiotem pierwszych w świecie szeroko zakrojonych badań nad mikrobiologicznym zwalczaniem owadów stała się gramujemna pałka wyizolowana w Meksyku przez d'Herelle'a podczas epizoocji szarańczy *Schistocerca peregrina* Oliv. i opisana w 1911 r. jako *Coccobacillus acridiorum*. D'Herelle osiągnął w wielu przypadkach dobre rezultaty zwalczając szarańczę przy pomocy oprysków bulionowymi hodowlami bakterii, które powodowały szybko rozwijające się infekcje jelitowe. Jednakże późniejsze zabiegi zwalczania prowadzone przy użyciu tej bakterii przez różnych autorów przynosiły sprzeczne wyniki spowodowane prawdopodobnie spadkiem zjadliwości (po kilku latach przechowywania na pożywkach) patogenu lub wyższym poziomem odporności zwalczanej szarańczy. Zachowane hodowle wyizolowane przez d'Herelle'a zostały w ostatnich latach poddane szczegółowym badaniom (8). Ustalono, że *Coccobacillus acridiorum* najprawdopodobniej stanowi patogenny szczep gatunku *Cloaca (Enterobacter) cloacae* z rodziny *Enterobacteriaceae* i często bywa izolowany z chorych i martwych owadów. Również paciorkowiec *Streptococcus* sp. znany jest w piśmiennictwie z zakresu patologii owadów jako przyczyna chorób epizootycznych. M. in. w Stanach Zjednoczonych stwierdzono, że gąsienice brudnicy nieparki *Lymantria dispar* L. ulegają epizoocjom wywołanym przez szczepy *Streptococcus faecalis*, a także przeprowadzono udaną próbę zwalczania gąsienic przy pomocy hodowli tej bakterii (1). Interesujące rezultaty w terenowej próbie wywołania sztucznej epizoocji bakteryjnej gąsienic zwójki *Cacoecia crataegana* Hb. uzyskano w Czechosłowacji (7) przy użyciu hodowli szczepu *Pseudomonas chlororaphis*. Późniejsze powtórzenia próby zwalczania zwójki tą samą bakterią nie powiodły się, co potwierdzałoby pogląd, że w chorobach bakteryjnych oprócz obecności patogenu istotny jest stan fizjologiczny i skłonność do zachorowania zwalczanych owadów.

Ze względu na to, że zjadliwość niesporujących gramujemnych pałek nie jest cechą stałą, tworzą one grupę tzw. potencjalnych patogenów. W ich przypadku warunki umożliwiające rozwój bakteriozy są odmienne niż w chorobach wywoływanych przez obligatoryjne patogeny, jak np. wirusy, kiedy zachorowanie jest wynikiem zetknięcia się zjadliwego patogenu z owadem. Rozwój bakteriozy powodowanej przez potencjalne patogeny uzależniony jest przede wszystkim od predyspozycji chorobowej owada, a ściślej od osłabienia jego możliwości obronnych. Brak powtarzalności prób wywoływania epizoocji owadów przy użyciu bakterii niesporujących wynika z faktu nieuwzględniania stanu fizjologicznego populacji zwalczanych owadów, jak również z nieznamomości mechanizmów oporności owadów na infekcje bakteryjne oraz czynników umożliwiających obniżenie lub pokonanie tej oporności. Dotychczas wykazano, że wrażliwość owadów na zachorowania bakteryjne wzrasta w obec-

ności innych mikroorganizmów działających synergistycznie. Np. niektóre pierwotniaki i nicienie uszkadzając ścianę przewodu pokarmowego mogą ułatwiać bakteriom wnikanie do jamy ciała. Znane są przypadki infekowania owadów bakteriami niesporującymi przez owady pasożytnicze. W Związku Radzieckim próbowano aktywizować mikroflorę jelitową larw stonki ziemniaczanej *Leptinotarsa decemlineata* Say przy pomocy subletalnych (obniżonych 5—10 krotnie) dawek insektycydów chemicznych. Nie udało się jednak dotychczas wyjaśnić w jaki sposób wzrost zagęszczenia populacji owadów powoduje obniżenie ich oporności na mikroflorę jelitową i doprowadza do rozwoju epizoocji bakteryjnej. Prawdopodobnie w większości przypadków stresorem osłabiającym owady jest brak dostatecznej ilości pokarmu, chociaż zjawisko naturalnego rozwoju bakteryjnych epizoocji obserwowaliśmy również w drzewostanach, w których korony drzew były uszkodzone w 50—60%, a więc larwy miały możliwość dalszego żerowania.

Nie jest wykluczone, że przyczyną obniżenia odporności larw borecznika na bakterie może stać się nieodpowiednia jakość pokarmu. Być może w pewnych, przy obecnym stanie wiedzy trudnych do wyjaśnienia, przypadkach igliwie na drzewach częściowo uszkodzonych żerami ulega tak dalece niekorzystnym dla owada zmianom biochemicznym, że powoduje naruszenie układu owad — otaczająca mikroflora i w efekcie umożliwia rozwój bakteriozy.

LITERATURA

1. Doane C.C.: Field applications of a *Streptococcus* causing brachyosis in larvae of *Porthetria dispar*. J. Inv. Path. 1970 Vol. 17.
2. Escherich K.: Die Forstinsekten Mitteleuropas. Bd. 5. Berlin: P. Parey Verl. 1942.
3. Gibbs B.M., Skinner F.A.: Identifications methods for microbiologists. London: Academic Press, 1966.
4. Głowacka-Pilot B.: Bakteria *Serratia marcescens* Bizio — sprawca epizoocji larw borecznika sosnowca *Diprion pini* L. Sylwan 1973 R. 117 nr 1.
5. Głowacka-Pilot B.: Bakterie wyizolowane z owadów leśnych w latach 1967—1976. Sylwan 1977 R. 121 nr 5.
6. Koehler W., Schnaider Z., Sliwa E.: Stan zagrożenia lasów polskich ze strony szkodliwych owadów leśnych w r. 1959—1960. Pr. IBL 1961 nr 225.
7. Kudler J., Lysenko O., Hochmut R.: Versuche mit der Anwendung von einigen bakteriellen Suspensionen gegen den Wickler *Cacoecia crataegana* Hb. Trans. I-st Int. Conf. Insect Path. and Biol. Control. Praha 1958.
8. Lysenko O.: Contribution to the taxonomy of *Coccobacillus acridiorum* d'Herelle. Folia Biol. 1958 Vol. 4 No. 6.
9. Pelczar M.I.: Manual of microbiological methods. New York: Mc Graw-Hill 1957.
10. Skerman V.B.: A guide to the identification of the genera of bacteria. Baltimore: Williams a. Wilkins Comp. 1959.

Praca wpłynęła do Komitetu Redakcyjnego 10 lutego 1982 r.

В 1975—78 годах наблюдалось массовое отмирание личинок обыкновенного соснового пильщика (*Diprion pini* L.) сходного соснового пилильщика (*Diprion simile* Htg) бледного соснового пилильщика (*Gilpinia pallida* Kl.) в сосновых насаждениях, в нескольких надлесничествах на территории Польши. В гемолимфе больших и мертвых личинок собранных на подстилке или в коронах деревьев были открыты многочисленные подвижные бактериальные клетки. В некоторых случаях бактериоз развился в таком масштабе, что пришлось отказаться от химической борьбы с вредителями.

В сумме в течение 4 лет из гемолимфы 705 исследуемых личинок изолировано 555 штамма бактерий, которые зачислено к 462 штаммов, *Enterobacter cloacae* 89 штаммов *E. aerogenes*, 4 штамма *Proteus vulgaris*, 47 штаммов *Pseudomonas* sp. и 8 штаммов *Streptococcus* sp. Часть личинок из популяций подверженных бактериозам оставалась в живых и создавала коконы. В последующие годы личинки оставались в коконах в диапаузе, а их здравосостояние постепенно ухудшалось из-за поражения паразитическими насекомыми. Проведенные наблюдения показывают, что в случае вышеназванных видов пилильщиков неспороносящие грамотрицательные бактерии могут играть роль фактора регулирующего численность популяции.

Summary

A mass dying of larvae of *Diprion pini* L., *D. simile* Htg. and *Gilpinia pallida* Kl. was observed in the years 1975—1978 in pine stands, in several forest districts in Poland. Many moving bacterial cells were detected in haemolymph of diseased and dead larvae collected on the litter or in the tree crowns. In some cases, the bacteriosis developed on such a scale that we gave up the chemical control of the pests.

On the whole, 462 strains of bacteria included to *Enterobacter cloacae*, 89 strains of *E. aerogenes*, 4 strains of *Proteus vulgaris*, 47 strains of *Pseudomonas* sp. and 8 strains of *Streptococcus* sp. were isolated from the haemolymph of 705 examined larvae. A part of larvae from populations subject to bacterioses survived and formed cocoons. In the next years, the larvae remained in cocoons in diapause, and their healthiness gradually decreased because of affection by parasitic insects. Carried out observations show that in case mentioned species of *Diprionidae* non-sporulating Gram-negative bacteria can play the role of agent regulating the population density.