

## Occurrence of entomopathogenic nematodes of the family Steinernematidae and Heterorhabditidae in orchards chemically protected and unprotected

### Występowanie nicieni owadobójczych z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae w sadach chronionych i niechronionych chemicznie

Magdalena Dzięgielewska

#### Summary

The studies on the occurrence and species composition of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in chemically protected and unprotected were carried out in 2009–2011. Field studies conducted in 2009–2011, in orchards without protection and where chemical treatments were performed evenly, according to recommendations. The aim of this study was to compare the frequency and species composition of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae, Heterorhabditidae) in orchards protected and unprotected chemically.

Soil samples were collected from selected sites three times (spring, summer, autumn) in the season. Four species of entomopathogenic nematodes three of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae were isolated from soil samples. The results of the studies revealed both a higher biodiversity of the nematode species composition as well as their incidence in the enprotected apple orchards.

**Key words:** entomopathogenic nematodes, Steinernematidae, Heterorhabditidae, orchards, Western Pomerania

#### Streszczenie

W latach 2010–2011 prowadzono badania terenowe w sadach, w których nie wykonywano żadnych zabiegów pielęgnacyjnych i ochronnych, a także w sadach i ogródkach działkowych, gdzie regularnie robiono zabiegi chemiczne, według aktualnych zaleceń ochronnych. Porównywano frekwencję i skład gatunkowy nicieni owadobójczych (Steinernematidae, Heterorhabditidae) w sadach chronionych i niechronionych chemicznie.

Próby glebowe z wybranych stanowisk pobierano trzykrotnie (wiosna, lato, jesień) w sezonie. Ogółem wyizolowano cztery gatunki nicieni owadobójczych – trzy z rodziny Steinernematidae i jeden z Heterorhabditidae. Sady niechronione charakteryzowały się większą różnorodnością gatunkową badanych nicieni, a także większą częstością ich stwierdzeń w próbach.

**Słowa kluczowe:** nicienie owadobójcze, Steinernematidae, Heterorhabditidae, sady, Pomorze Zachodnie

---

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

## Wstęp / Introduction

Nicienie owadobójcze z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae znajdują szerokie zastosowanie w ochronie roślin w całej Europie. Szczególnie przeciwko opuchlakom (*Otiorrhynchus sulcatus* L.) w uprawach truskawek i roślin ozdobnych, ziemiorkom w pieczarkarniach i szklarniach (Ehlers 1996, 2001; Kaya i wsp. 2006), wciornastkom w ochronie roślin warzywnych (Fiedler i Sosnowska 2009), a także przeciwko pędrakom i drutowcom w agrocenozach (Kowalska 2001; Ansari i wsp. 2003, 2009).

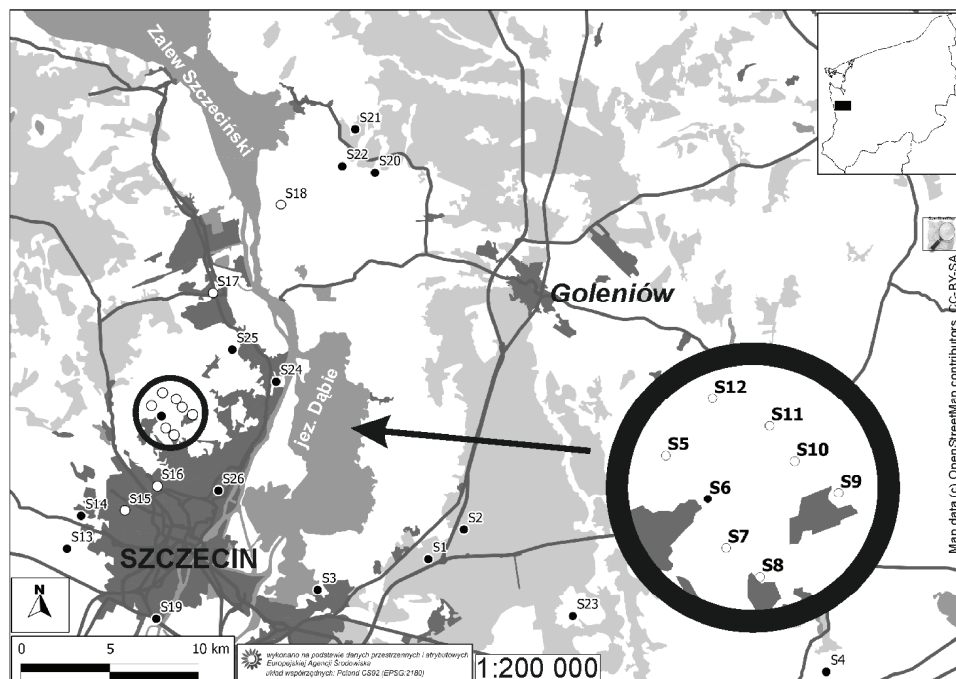
Występowanie i aktywność biologiczna tych nicieni zależy od wielu czynników środowiskowych (biotycznych i abiotycznych), które warunkują ich dalszy rozwój w glebie (Gaugler i Kaya 1990). Z licznych badań wynika, że nicienie owadobójcze są stosunkowo odporne na zanieczyszczenia chemiczne gleby, w tym na pestycydy (Kamionek 1992; Jaworska i wsp. 1997). Jednak niektóre insektycydy, z grupy karbaminianów czy związków fosfoorganicznych wykazują wysoką toksyczność względem larw inwazyjnych tych nicieni.

Celem badań było porównanie frekwencji i składu gatunkowego nicieni owadobójczych (Steinernematidae, Heterorhabditidae) w sadach chronionych i niechronionych chemicznie.

## Materiały i metody / Materials and methods

Badania terenowe prowadzono w latach 2010–2011 na Pomorzu Zachodnim, w sadach zaniedbanych, pozbawionych jakiegokolwiek zabiegów pielęgnacyjnych i och-

ronnych (7 stanowisk) oraz w sadach i ogródkach działkowych, gdzie regularnie wykonywano zabiegi chemiczne (19 stanowisk) (rys. 1, tab. 1), według aktualnych zaleceń ochronnych. Ogółem najwięcej prób glebowych pobrano z sadów jabłoniowych i jabłoniowo-śliwowych (tab. 1). Większość wyróżniała się odczynem obojętnym, tylko na dwóch stanowiskach odczyn gleby był kwaśny (tab. 1). Próby glebowe z wybranych stanowisk pobierano trzykrotnie (wiosna, lato, jesień) w sezonie. Z wybranej powierzchni o wymiarach około 100 m<sup>2</sup>, z głębokości 20 cm, pobierano 50 próbek jednostkowych stanowiących próbę zbiorczą o łącznej objętości około 600 cm<sup>3</sup>. Glebę przewożono do laboratorium w plastikowych, perforowanych workach. Obecność nicieni owadobójczych w próbach glebowych określono standardową metodą „owadów pułapkowych” *Galleria mellonella* (Bedding i Akhurst 1975; Mráček 1980). Śmiertelność owadów *G. mellonella*, porażonych przez nicienie, oceniano po 5 dniach od założenia doświadczenia. Oznaczenia taksonomiczne poszczególnych gatunków nicieni wykonano na podstawie cech morfologicznych i morfometrycznych: larw inwazyjnych (J<sub>3</sub>) tych nicieni pozyskanych metodą White'a (1927) oraz osobników dorosłych wyizolowanych z martwych gąsienic *Galleria* przez sekcjonowanie (Nguyen Smart 1996; Hominik i wsp. 1997; Nguyen 2007). Dla ustalenia struktury dominacji gatunków nicieni stwierdzonych w próbach glebowych pobranych z terenu, zastosowano współczynnik dominacji (Krebs 1997). Analizę statystyczną przeprowadzono za pomocą programu STATICA 6.0 software (StatSoft 1999). Zastosowano test istotności różnic między wskaźnikami struktury ( $p < 0,05$ ).



Rys. 1. Lokalizacja miejsc poboru gleby na obecność nicieni owadobójczych z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae na Pomorzu Zachodnim w sadach chronionych (S1–S19) i niechronionych chemicznie (S20–S26) (●) stanowisko z nicieniami, (○) stanowisko bez nicieni

Fig. 1. Locality of sampling sites for entomopathogenic nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae on West Pomerania in orchards chemically protected (S1–S19); (●) site with nematode, (○) site without nematode.

## Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Niczenie owadobójcze z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae wyizolowano z 15 na 26 stanowisk, co stanowi około 57% ogółu przebadanych miejsc.

Spośród 156 prób glebowych pobranych z terenu w ciągu dwuletnich badań, w 43 próbach stwierdzono obecność nicieni owadobójczych (27,6% ogółu prób) (tab. 2). Wśród wyizolowanych nicieni z rodziny Steinernematidae, w obu typach sadów, tj. z ochroną chemiczną lub bez tych zabiegów, dominował *S. feltiae* (38% stanowisk). Rzadziej na badanych stanowiskach notowano

*S. bicornutum* (około 11% stanowisk) i *S. affine* (około 11% stanowisk). Niczenie z rodziny Heterorhabditidae były reprezentowane przez jeden gatunek *H. megidis* (ponad 26% stanowisk), który jednocześnie był najczęściej stwierdzanym gatunkiem po *S. feltiae* w tych agrocenozach (tab. 2, 3). Ogółem zróżnicowanie gatunkowe nicieni na poszczególnych stanowiskach było porównywalne w obu sezonach badawczych. Podczas dwuletnich badań najwięcej izolatów nicieni uzyskano z prób glebowych pobranych wiosną i jesienią, co potwierdziły też wcześniejsze badania nad sezonowością występowania nicieni w sadach (Dzięgielewska 2004). Ogółem, frekwencja

Tabela 1. Charakterystyka terenu badań i odczyn gleb pobranych z badanych sadów  
Table 1. Characteristic of research site and pH of soil from the orchards tested

Stanowisko Sites (Rys. 1 – Fig. 1)	Gatunki drzew i krzewów w sadach Species of trees and shrubs in orchards	Liczba stanowisk Number of sites		pH/KCl
		sad chroniony chemicznie orchards protected chemically	sad bez ochrony chemicznej orchards unprotected chemically	
*S1, *S4, *S7, S20, S23, S25	jabłoń – apple <i>Malus</i> Mill.	3	3	5,92–7,15
*S16, *S17, *S18, *S19 S21, S22, S24, S26	jabłoń – apple <i>Malus</i> Mill., śliwa – plum <i>Prunus</i> L.	4	4	6,34–6,97
*S2, *S6, *S15	czereśnia – cherry <i>Cerasus</i> (L.) Moench.	3	0	6,83–7,06
*S3, *S8	grusza – pear <i>Pyrus</i> L.	2	0	6,83–7,07
*S5	morela – apricot <i>Armeniaca</i> Scop.	1	0	7,05
*S13	malina – raspberry <i>Rubus</i> L.	1	0	4,59
*S14	truskawka – strawberry <i>Fragaria</i> × <i>ananassa</i> Duchesne	1	0	5,60
*S9	leszczyna – hazel <i>Corylus</i> L.	1	0	7,06
*S10	porzeczka – currant <i>Ribes</i> L.	1	0	7,07
*S11	jagoda kamczacka – berry <i>Lonicera</i> <i>caerulea</i> L. var. <i>kamtschatica</i> Sevast.	1	0	7,06
*S12	borówka wysoka – highbush blueberry <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	1	0	7,07
Razem – Total		19	7	

Tabela 2. Występowanie nicieni owadobójczych z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae w sadach chronionych i niechronionych chemicznie

Table 2. Occurrence of entomopathogenic nematodes from the families Steinernematidae and Heterorhabditidae in orchards chemically protected and unprotected

Typ stanowiska Type of site	Łączna liczba pobraných prób glebowych Total number of soil samples collected	Liczba prób z nicieniami Number of samples with nematodes	Procentowy udział prób z nicieniami – frekwencja [%] Percentage of samples with nematodes – frequency [%]	Gatunki nicieni Nematode species			
				<i>Steinernema</i> <i>feltiae</i>	<i>Steinernema</i> <i>affine</i>	<i>Steinernema</i> <i>bicornutum</i>	<i>Heterorhabditis</i> <i>megidis</i>
Sady z ochroną chemiczną Orchards chemically protected	114	18	16	8	0	6	4
Sady niechronione Orchards chemically unprotected	42	25	59,5	15	3	1	6
Razem – Total	156	43	27,6	23	3	7	10

Tabela 3. Występowanie nicieni owadobójczych w sadach chronionych (\*) i niechronionych chemicznie z uwzględnieniem ich potencjalnych żywicieli  
 Table 3. Occurrence of entomopathogenic nematodes in orchards protected (\*) and unprotected chemically with respect to their potential host

Żywiciel Host	Owocówka jabłkówekczka <i>Cydia pomonella</i> L., Owocnice <i>Haplocampa</i> spp.	Nasionnica trześniówka <i>Rhagoletis cerasi</i> L.	Paciornica gruszo- wianka <i>Contarinia privora</i> Ril	Przędzeń pestkowiec <i>Neurotoma nemaoralis</i> L.	Kistnik malinowiec <i>Byturus tomentosus</i> Fabr. Kwieciak malinowiec <i>Anthonomus rubi</i> Hbst.	Opuchlak truskaw- kowiec <i>Otiorhynchus sulcatus</i> F.	Słonik orzechowiec <i>Curculio nucum</i> L.	Brzęczak porzeczkowy <i>Pteronidea ribesii</i> Scop.	
Stanowisko Sites	S20 – S26	*S1 *S4 *S7 *S17– *S19	*S2 *S6 *S15	*S3 *S8	*S5	*S13	*S14	*S9	*S10
<i>Steinernema feltiae</i>	15	2	1	–	–	3	2	–	–
<i>S. affine</i>	3	–	–	–	–	–	–	–	–
<i>S. bicornutum</i>	1	3	–	–	3	–	–	–	–
<i>Heterorhabditis megidis</i>	6	2	–	2	–	–	–	–	–
Łączna liczba pobranych prób z wszystkich stanowisk Total number of samples collected from all sties	42	36	18	12	6	6	6	6	6
Liczba prób z nicieniami Number samples with nematodes	25	7	1	2	3	3	2	–	–
Procentowy udział prób z nicieniami Percentage of positive samples	59,5	19,4	5,5	16,6	50	50	33,3	–	–

\*sady z ochroną chemiczną – orchards protected chemically

nicieni owadobójczych w sadach bez ochrony chemicznej była istotnie wyższa przy  $p < 0,05$  (59,5% stwierdzeń) niż w sadach chronionych (tab. 2). Zaobserwowano ponadto, że częstość stwierdzeń nicieni w próbach była uzależniona od miejsca poboru gleby, a także od obecności potencjalnych żywicieli w różnych typach sadów (tab. 3). Największe zróżnicowanie gatunkowe nicieni odnotowano w sadach jabłoniowych i jabłoniowo-śliwowych, zasiedlanych przez owocówkę jabłkówekczką *C. pomonella* oraz owocnice *Haplocampa* spp. Interesujące jest też stwierdzenie obecności *S. bicornutum* w próbach pobranych z sadów morelowych, w miejscu żerowania przędzenia pestkowca *N. nemaoralis* L. (tab. 3). Cykl rozwojowy wymienionych szkodników, w szczególności błonkówek roślinożernych, częściowo przebiega w glebie, co ułatwia kontakt nicieni z potencjalnym żywicielem. Przydatność nicieni owadobójczych, zwłaszcza *H. megidis*, w ochronie sadów przed owocnicami potwierdzają wieloletnie badania Tomalaka (2004). Naturalne występowanie tego gatunku w

sadach jabłoniowo-śliwowych potwierdzono także w przeprowadzonych badaniach.

Rośliny ogrodnicze i sadownicze stanowią źródło pokarmu dla wielu fitofagów, które często wykazują wrażliwość na nicienie owadobójcze. Zdecydowana większość owadów żerujących w sadach, podczas krótkiego życia schodzi do gleby, np. w celu przepoczwarczenia lub w okresie zimowej diapauzy, co umożliwia kontakt nicieni z potencjalnym żywicielem (Lewis i wsp. 2006).

Szereg szkodników sadów wykazuje wrażliwość na nicienie owadobójcze. Należą do nich między innymi: owocnice (Vincent 1992; Tomalak 2006), owocówka jabłkówekczka (Lacey i wsp. 2006), brudnica nieparka (Reardon i wsp. 1986) czy przezierniki, żerujące wewnątrz pędów porzeczek i agrestu (Williams i wsp. 2002; Cottrell i wsp. 2011). Prowadzone są także badania nad możliwością biologicznego zwalczania motyli minujących i pryszczarków w sadach, w oparciu o biopreparaty z nicieniami owadobójczymi (Cross i wsp. 1999).

Naturalne występowanie nicieni owadobójczych w sadach jest powszechnie znane (Mráček i wsp. 1999, 2005; Sturhan 1999; Mráček i Bečvář 2000; Dzięgielewska 2004). Wysoki procentowy udział nicieni (58,9% stwierdzeń) w próbach glebowych pobranych z tych agrocenoz zanotowano w Czechach (Mráček i wsp. 1999), wyraźnie niższy w Niemczech (25,5% stwierdzeń), jednak porównywalny z uzyskanymi wynikami w tej pracy (tab. 1). Istotne statystycznie różnice we frekwencji nicieni w sadach chronionych i niechronionych chemiczne zaobserwował też Mráček i wsp. (2005). Udział prób z nicieniami w tych miejscach wyniósł odpowiednio 19 i 60%. Wydaje się, że tak znaczące różnice w występowaniu nicieni owadobójczych w obu typach sadów mogą wynikać z wrażliwości poszczególnych gatunków nicieni na stosowane w sadach pestycydy (Kamionek 1992), a także z dostępności pokarmu, umożliwiającego ich przetrwanie i persystencję w środowisku.

## Wnioski / Conclusions

1. Większe zróżnicowanie gatunkowe i wyższa frekwencja nicieni w sadach bez ochrony chemicznej może wynikać z zasobności tych agrocenoz w entomofaunę stanowiącą potencjalną bazę pokarmową nicieni owadobójczych.
2. Badania nad wpływem powszechnie stosowanych insektycydów w sadach, na różne gatunki nicieni entomopatogennych, mogą mieć kluczowe znaczenie przy wykorzystaniu tych pożytecznych organizmów w integrowanej ochronie sadów przed szkodnikami.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2009–2012 jako projekt badawczy Nr 0791/B/P01/2009/36.

## Literatura / References

- Ansari M.A., Tirry L., Moens M. 2003. Entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria for the biological control of *Hoplia philanthis* (Col.; Scarabaeidae). *Biol. Control* 28: 111–117.
- Ansari M.A., Evans M., Butt T.M. 2009. Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm control. *Crop* 28: 269–272.
- Bedding R.A., Akhurst R. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica* 21: 109–110.
- Cottrell T.E., Shapiro-Ilan D.I., Horton D.L., Mizell R.F. 2011. Laboratory virulence and orchard efficacy of entomopathogenic nematodes against the lesser peachtree borer (Lepidoptera: Sesiidae). *J. Econ. Entomol.* 104 (1): 47–53.
- Cross J.V., Solomon M.G., Chandler D., Jarrett P., Richardson P.N., Winstanley D., Bathon H., Huber J., Keller B., Langenbruch G.A., Zimmermann G. 1999. Biocontrol of pests of apples and pears in Northern and Central Europe: 1. Microbial agents and nematodes. *Bioc. Sci. Technol.* 9: 125–149.
- Dzięgielewska M. 2004. Występowanie nicieni pasożytniczych (*Steinernematidae*, *Heterorhabditidae*) w sadach z okolic Szczecina. *Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura* 240 (96): 45–48.
- Ehlers R.-U. 1996. Current and future use of nematodes in biocontrol: practice and commercial aspects with regard to regulatory policy issues. *Bioc. Sci. Technol.* 6: 303–316.
- Ehlers R.U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56: 623–633.
- Fiedler Ż., Sosnowska D. 2009. Aktualny stan ochrony roślin warzywnych w uprawach szklarniowych przed szkodnikami z wykorzystaniem czynników biologicznych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 49 (3): 1474–1479.
- Gaugler R., Kaya H.K. 1990. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton, FL, USA, CRC Press, 54, 110 pp.
- Hominik W.M., Briscoe B.R., del Pino F.G., Heng J., Hunt D.J., Kozodoy E., Mráček Z., Nguyen K.B., Reid A.P., Spiridonov S., Stock P., Sturhan D., Waturu C., Yoshida M. 1997. Biosystematics of entomopathogenic nematodes: current status, protocols and definitions. *J. Helminthology* 71: 271–298.
- Jaworska M., Jasiewicz Cz., Gorczyca A. 1997. Wpływ zanieczyszczenia metalami ciężkimi gleb ogrodów działkowych Śląska na aktywność mikroorganizmów glebowych. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 37 (2): 276–278.
- Kamionek M. 1992. Wpływ pestycydów na nicienie entomofilne. *Rozprawy Naukowe i Monografie, SGGW – AR Warszawa*, 55 ss.
- Kaya H.K., Aguilera M.M., Alumai A., Choo H.Y., de la Torre M., Fodor A., Ganguly S., Hazâr S., Lakatos T., Pye A., Wilson M., Yamanaka S., Yang H., Ehlers R.U. 2006. Status of entomopathogenic nematodes and their symbiotic bacteria from selected countries or regions of the world. *Biol. Control* 38: 134–155.
- Kowalska J. 2001. Próba zastosowania nicieni owadobójczych oraz metody integrowanej w zwalczaniu pędraków chrabąszcza majowego *Melolontha melolontha* L. w uprawie leśnej. *Sylwan* 145 (2): 89–95.
- Krebs Ch.J. 1997. *Ekologia. Eksperymentalna Analiza Rozmieszczenia i Liczebności*. PWN, Warszawa: 344–364.
- Lacey L.A., Arthurs S.P., Unruh T.R., Headrick H., Fritts R. Jr. 2006. Entomopathogenic nematodes for control of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in apple and pear orchards: effect of nematode species and seasonal temperatures, adjuvants, application equipment, and post-application irrigation. *Biol. Control* 37: 214–223.
- Lewis E.E., Campbell J.F., Griffin C., Kaya H.K., Peters A. 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biol. Control* 38: 66–79.
- Mráček Z. 1980. The use of *Galleria* traps for obtaining nematode parasites of insects in Czechoslovakia (Lepidoptera: Nematoda, Steinernematidae). *Acta Entom. Bohem.* 77: 378–382.
- Mráček Z., Bečvář S. 2000. Insect aggregations and entomopathogenic nematode occurrence. *Nematology* 2 (3): 297–301.
- Mráček Z., Bečvář S., Kindlmann P. 1999. Survey of entomopathogenic nematodes from the families (Nematoda: Rhabditida) in the Czech Republic. *Folia Parasit.* 46: 145–148.

- Mráček Z., Bečvář S., Kindlmann P., Jersáková J. 2005. Habitat preference for entomopathogenic nematodes, their insect hosts and new faunistic records for the Czech Republic. *Biol. Control* 34: 27–37.
- Nguyen K.B. 2007. Methodology, morphology and identification. p. 59–119. W: „Entomopathogenic Nematode: Systematics, Phylogeny and Bacterial Symbionts” (K.B. Nguyen, D.J. Hunt, eds.). *Nematology Monographs and Perspectives*, Vol. 5. Brill Leiden-Boston, 816 pp.
- Nguyen K.B., Smart G.C. Jr. 1997. Scanning electron microscope studies of spicules and gubernacula of *Steinernema* spp. (*Nematoda: Steinernematidae*). *Nematologica* 43 (6): 465–480.
- Reardon R.C., Kaya H.K., Fusco R.A., Lewis F.B. 1986. Evaluation of *Steinernema feltiae* and *S. bibionis* (*Rhabditida: Steinernematidae*) for suppression of *Lymantria dispar* (*Lepidoptera: Lymantridae*) in Pennsylvania, USA. *Agriculture, Ecosys. Envir.* 15: 1–19.
- Sturhan D. 1999. Prevalence and habitat specificity of entomopathogenic nematodes in Germany. p. 123–132. In: Proc. workshop held at Todi, Perugia, Italy, 16–29 May, 1995. Luxembourg: European Commission, COST 819, 132 pp.
- Tomalak M. 2006. Potencjał nicieni owadobójczych w biologicznym zwalczaniu szkodliwych błonkówek atakujących drzewa owocowe i parkowe. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 46 (1): 249–255.
- Vincent C., Bélair G. 1992. Biocontrol of the apple sawfly, *Hoplocampa testudinea*, with entomogenous nematodes. *Entomophaga* 37 (4): 575–582.
- White G.F. 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science* 66: 302–303.
- Williams R.N., Fickle D.S., Grewal P.S., Meyer J.R. 2002. Assessing the potential of entomopathogenic nematodes to control the grape root borer *Vitacea polistiformis* (*Lepidoptera: Sesiidae*) through laboratory and greenhouse bioassays. *Biocontrol Sci. Technol.* 12: 35–42.