

Objawy chorobowe występujące u gąsienic *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera) zakażonych przez niektóre grzyby

ZOFIA MACHOWICZ-STEFANIAK

Zakład Fitopatologii Akademii Rolniczej w Lublinie

Machowicz-Stefaniak Z.: (Department of Phytopathology, Agricultural Academy, Akademicka 15, 20-033 Lublin, Poland). *Disease symptoms occurring in caterpillars of *Malacosoma neustria* L. (Lepidoptera) infected by some fungi.* Acta Mycol. 15 (1): 145-149, 1979.

The infection of *M. neustria* caterpillars by *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Paecilomyces farinosus* (Dicks. ex Fr.) Brown et Smith, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas causes the decrease of their viability, paralysis and mummification of the body. Only in the case of *B. bassiana* the character distinguishing infection by this fungus are black spots on the surface of the cuticle. The easy development and abundant spore formation of the above-mentioned hyphomycetous fungi on *M. neustria* facilitate the determination of the causes of the disease.

WSTĘP

W warunkach Polski choroby infekcyjne owadów często powodują grzyby z rzędów *Entomophthorales* oraz *Moniliales*. Grzyby z rzędu *Entomophthorales* porażają zasadniczo owady należące do tej samej rodziny (Batkó 1974). Natomiast przedstawiciele rzędu *Moniliales*, a zwłaszcza *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok., *Paecilomyces farinosus* (Dicks. ex Fr.) Brown et Smith, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas są polifagami. Wymienione strzępczaki owadobójcze mogą zakażać wiele gatunków owadów, i to w różnych stadiach rozwojowych (Bałazy 1965, Kolesničenko 1974).

Przy porażeniu owadów przez niektóre grzyby występują charakterystyczne oznaki chorobowe, jak np. nienormalne zabarwienie oskórka ułatwiające rozpoznanie przyczyny schorzenia. Najpewniejszą jednak cechą diagnostyczną są ciała strzępkowe lub strzępki grzybni w hemolimfie owada oraz mumifikacja ciała w końcowym okresie choroby (Schaeffer-

berg 1957; Broome i in. 1976; Vey, Farques 1977). Przeprowadzone w latach 1972—1976 badania własne (Machowicz-Stefaniak 1976, 1977) pozwoliły ustalić fakty, które umożliwiają rozpoznanie porażenia gąsienic *M. neustria* przez niektóre strzępczaki owadobójcze.

MATERIAL I METODY BADAŃ

Do badań posłużyły cztery gatunki grzybów: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *Verticillium lecanii*, o pochodzeniu których poinformowano wcześniej (Machowicz-Stefaniak 1977). Wybrane szczepy tych grzybów użyto do sztucznego zakażenia gąsienic *M. neustria* w stadium L_1 , L_2 , L_3 , L_4 , L_5 stosując wodne zawiesiny infekcyjne zarodników konidialnych w stężeniu $6 \times 10^7/1$ ml i $3 \times 10^7/1$ ml. Od momentu zakażenia do obumarcia gąsienic obserwowano dokładnie przebieg choroby, a osobniki martwe pobierano do makroskopowych i mikroskopowych badań mikologicznych.

OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Gąsienice *Malacosoma neustria* opryskane zawiesiną infekcyjną złożoną z zarodników konidialnych *Beauveria bassiana* traciły zdolność ruchu, chęć żerowania i nie reagowały na dotyk. Takie reakcje wystąpiły bardzo gwałtownie u gąsienic L_1 , L_2 , L_3 już w osiemnaście godzin po infekcji. Natomiast zainfekowane gąsienice starsze, tj. L_4 i L_5 , poruszały się i odżywiały jeszcze w trzecim dniu po zakażeniu. Ponadto w początkowej fazie choroby obserwowano paraliż ciała u gąsienic zainfekowanych zawiesiną o stężeniu 6×10^7 zarodników/1 ml. Takie gąsienice unosiły często do góry tułowiową część ciała, przylegając jednocześnie mocno do podłoża odnóżami odwłokowymi. U niektórych gąsienic występowały drgania mięśni odwłokowych, powłóczenie odnóżami, a w końcu tylko nieznaczne ruchy częścią gębową. Ponadto na grzbietowej części ciała gąsienic obserwowano często występowanie brązowo-czarnych plam o średnicy od 2 do 3 mm. Jednocześnie obserwowano szybkie sztywnienie ciała i masowe zamieranie gąsienic.

Gąsienice w stadium L_3 , L_4 , L_5 , wyprostowane, pałkowato zgięte lub z odchyleniem do góry tułowiem, zamierały pojedynczo na powierzchni liści. Takie gąsienice twardniały po 24 godzinach od śmierci, a ich jamę ciała wypełniała białokremowa, zbita grzybnia. Na zmumifikowanych gąsienicach w warunkach stuprocentowej wilgotności pojawiały się delikatne, białe strzępki grzybni wegetatywnej *B. bassiana*. Początkowo strzępki grzybni patogena wyrastały w okolicach odnóży i między pierścieniami, a następnie całe ciało gąsienic pokrywał watowaty nalot (ryc. 1b). Po trzech lub czterech dniach grzyb zarodnikował obficie, a liczne konidia o średnicy 1,9–3,2 μ m, (ryc. 1a) tworzyły na zbitej grzybni kredowo-mączysty nalot.

Proces chorobowy u gąsienic *Malacosoma neustria*, zainfekowanych przez *Metarrhizium anisopliae*, przebiegał znacznie wolniej. W drugim dniu po infekcji gąsienice L₁, L₂, L₃, a w trzecim dniu gąsienice L₄ i L₅ zachowywały się jeszcze normalnie. Zwolnione poruszanie się gąsienic L₁, L₂, L₃ wystąpiło w trzecim dniu po infekcji, a u gąsienic L₄ i L₅ w czwartym dniu. Ponadto w tym czasie gąsienice zatracaly żarłoczność; wystąpiły u nich słabe skurcze poszczególnych segmentów, bezwład odnóży i głowy. U zamierających gąsienic skóra zatracila jaskrawą barwę, a ciało, początkowo wiotkie i lekko spłaszczone, zaczynało twardnieć. Porażenie przez *M. anisopliae* spowodowało, że gąsienice dające oznaki życia jeszcze dziesiątego lub dwunastego dnia od infekcji zamierały zawsze podczas procesu linienia. Grzybnia wegetatywna *M. anisopliae* pojawiała się na powierzchni obumarłych gąsienic dopiero po trzydziestogodzinnym ich przetrzymywaniu w warunkach stuprocentowej wilgotności względnej i w miarę rozwoju tworzyła ona wojłokowaty, biały nalot. Tworzenie zarodników konidialnych, o wymiarach 4,8-6,6 × 1,6-3 μm, następowało po pięciu lub sześciu dniach. Nadawały one zielone zabarwienie patogenowi rozwijającemu się na całej powierzchni ciała gąsienic (ryc. 1c, d).

Gąsienice *Malacosoma neustria* zainfekowane przez *Paecilomyces farinosus* zatracaly zdolność ruchu na drugi dzień po infekcji, a chęć żerowania w trzecim dniu. Piątego dnia od zabiegu gąsienice nie żerowały zupełnie, jakkolwiek niektóre z nich utrzymywały się przy życiu nawet do czternastego dnia. U gąsienic potraktowanych stężeniem zarodników 6 × 10⁷/1 ml obserwowano w przeddzień śmierci nerwowe skurcze przedniej części ciała. Gąsienice unosiły głowę wraz z kilkoma segmentami tułowiowymi i w takiej pozycji obumierały. Martwe gąsienice sztywniały i twardniały w dwa lub trzy dni po śmierci. W warunkach stuprocentowej wilgotności, z różnych części ciała martwych gąsienic wyrastały pęczki białej grzybni *P. farinosus* (ryc. 2a). Po czterech lub pięciu dniach grzyb zarodnikował, przy czym konidia o wymiarach 2-3,2 × 1-1,8 μm (ryc. 2b) tworzyły białokremowy, prószysty nalot na ciele gąsienic.

Gąsienice *Malacosoma neustria* zainfekowane *Verticillium lecanii* reagowały na porażenie stopniową utratą czynności ruchowych. Zdolność przyjmowania pokarmu zatracaly one w piątym lub szóstym dniu po infekcji. Chore i wygłodzone gąsienice nie reagowały na dotyk i po przewróceniu się lub zgięciu ciała nie powracały do normalnej pozycji. Skóra takich gąsienic była matowa, a ciało nieco skrócone i pogrubiałe. Gąsienice przejawiające jeszcze oznaki życia często zupełnie sztywniały, a na powierzchni ich ciała pojawiały się delikatne strzępki *V. lecanii*. Początkowo wyrastały one z wnętrza ciała gąsienic między grzbietowymi segmentami,

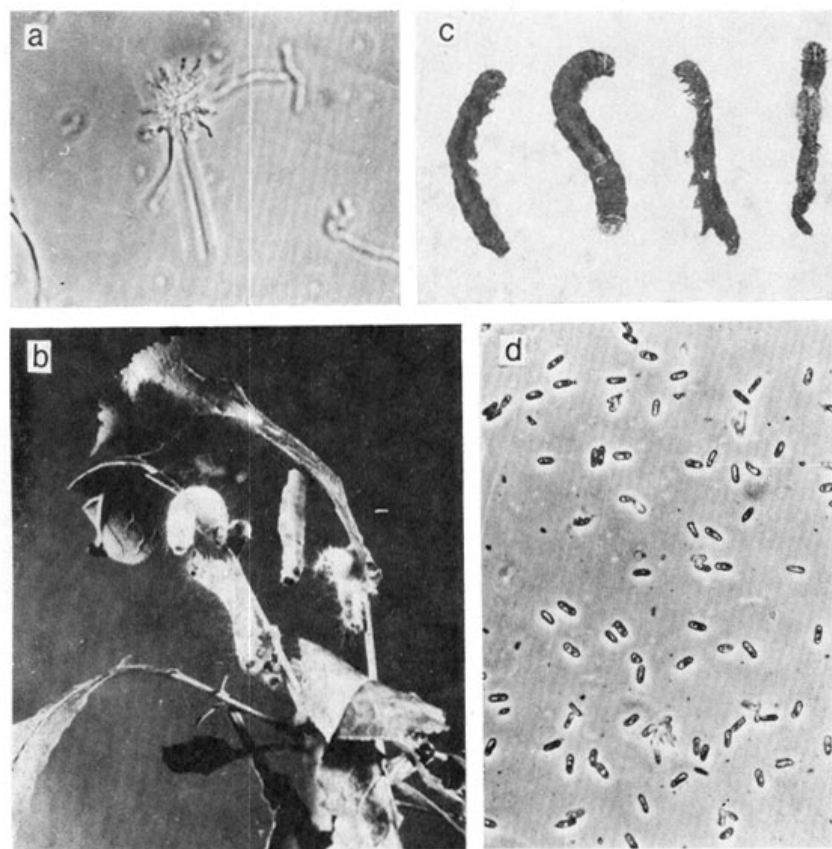
a następnie biała grzybnia rozrastała się na całym ciele gąsienic (ryc. 2c). Zarodniki konidialne o wymiarach $2,4-4,8 \times 1-1,8 \mu\text{m}$ (ryc. 2d) tworzyły aksamitny, biały nalot.

DYSKUSJA

Najbardziej typowym objawem bez względu na badany gatunek entomopatogena było obniżenie żywotności gąsienic *Melacosoma neustria*. Słaba żywotność połączona z utratą chęci żerowania wystąpiła najwcześniej u gąsienic zakażonych *Beauveria bassiana*, co wskazuje na przewagę owadobójczą tego grzyba nad innymi strzępczakami (Kalviš 1970; Gafurova 1972). Obniżenie aktywności wystąpiło wcześniej u gąsienic L_1 , L_2 , L_3 aniżeli u gąsienic starszych. Wiąże się to zapewne z większą wrażliwością młodych gąsienic *M. neustria* na porażenie przez testowane grzyby. Spośród innych, tzw. dużych gąsienic, larwy *Lymantria dispar* L. okazały się bardzo wrażliwe na *B. bassiana* również we wczesnym stadium wzrostu (Kalviš 1970).

Paraliż ciała jest następstwem toksyn wydzielonych przez grzyby chorobotwórcze do hemolimfy owadów (Schaerffenberg 1957, 1959; Wojciechowska 1973). U testowanych gąsienic *M. neustria* objaw ten wystąpił szczególnie wyraźnie przy zastosowaniu zarodników *B. bassiana* w stężeniu $6 \times 10^7/\text{ml}$. Wydaje się, że zdolność toksynotwórcza tego grzyba jest znacznie większa od zdolności toksynotwórczej *Metarrhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *Verticillium lecanii*. Wcześniej wykazano, że w przesączach pochodzących z *B. bassiana* toksyny występowały już po pięciu dniach wzrostu grzyba. Natomiast *P. farinosus* wydzielal toksyny do podłoża po dziesięciu dniach, a *P. fumoso-roseus* po dwudziestu dniach (Wojciechowska 1973). Ponadto wyniki obecnych badań sugerują, że przy silnym rozcieńczeniu zawiesiny infekcyjnej, przygotowanej z zarodników *B. bassiana*, wytwarza on niewielkie ilości toksyn w fazie pasywnego rozwoju.

Nekrotyczne plamy na powierzchni chorych gąsienic *M. neustria* były charakterystyczną oznaką w początkowej fazie choroby spowodowanej przez *B. bassiana*. Takie plamy występują przy infekcji kontaktowej, a także peroralnej, i są one następstwem rozwoju grzybni tego patogena w ścianach jamy ciała owadów (Schaerffenberg 1957). Wydaje się, że miejscowych zmian zabarwienia oskórka nie można uznać za oznakę chorobową tylko dla gąsienic *M. neustria*. Występują one bowiem również u larw *Leptinotarsa decemlineata* Say. porażonych przez *B. bassiana* oraz przez *M. anisopliae* (Schaerffenberg 1957, 1959), u larw *Agrotis vestigialis* Rott. porażonych przez *B. bassiana*, *P. farinosus* i *V. lecanii* (Głowacka-Pilot 1973), a także larw *Agrotis segetum* Schiff. porażonych

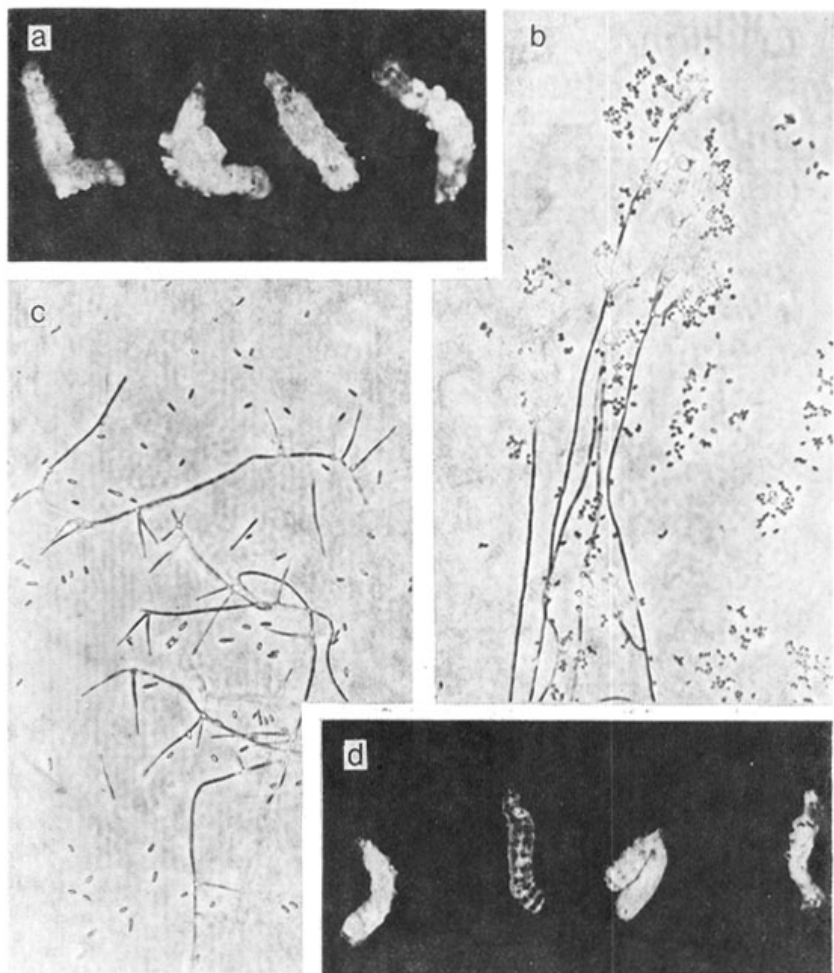


Ryc. 1. Strzępki konidialne *Beauveria bassiana* (a) i gąsienice *Malacosoma neustria* porażone przez ten grzyb (b) oraz gąsienice *Malacosoma neustria* porażone przez *Metarrhizium anisopliae* (c) i konidia *M. anisopliae* (d)

(a-d — fot. J. Pacewicz)

Fig. 1. Conidial hyphae of *Beauveria bassiana* (a) and *Malacosoma neustria* caterpillars infected by this fungus (b) and *M. neustria* caterpillars infected by *Metarrhizium anisopliae* (c) and conidia of *M. anisopliae* (d)

(a-d — photos by J. Pacewicz)



Ryc. 2. Gąsienice *Malacosoma neustria* porażone przez *Paecilomyces farinosus* (a), obok jego trzonki konidialne i konidia (b), oraz fialidy i konidia *Verticillium lecanii* (c), porażającego gąsienice *Malacosoma neustria* (d)

(b, c — fot. J. Paeciewicz)

Fig. 2. *Malacosoma neustria* caterpillars infected by *Paecilomyces farinosus* (a), its conidial stalks and conidia (b), and phialides and conidia of *Verticillium lecanii* (c) infecting caterpillars of *Malacosoma neustria* (d)

(b, c — photos by J. Paeciewicz)

przez *Tarichium megaspermum* Cohn (Herold 1923 wg Głowackiej-Pilot 1973).

Podobne zachowanie się gąsienic *M. neustria* porażonych przez różne strzępczaki owadobójcze utrudnia ustalenie przyczyny choroby. Tylko w przypadku *Beauveria bassiana* cechą wyróżniającą porażenie przez ten grzyb są czarne plamy na powierzchni oskórka. Łatwy natomiast rozwój i obfite zarodnikowanie wszystkich omawianych strzępczaków na obumarłych gąsienicach *M. neustria* ułatwiają ustalenie przyczyny choroby.

Składam serdeczne podziękowanie Prof. dr hab. Barbarze Łacicowej, Kierownikowi Zakładu Fitopatologii Akademii Rolniczej w Lublinie, za pokierowanie i pomoc, którą otrzymałam w czasie wykonywania pracy.

LITERATURA

- Bałaży S., 1965, Grzyby owadobójcze z rzędu *Hyphomycetes* na szkodliwych owadach leśnych w Polsce, Roczn. WSR Pozn. 27: 21-30.
- Batko A., 1974, Filogeneza a struktury taksonomiczne *Entomophthoraceae* (w: Ewolucja Biologiczna) Ossolineum, 209-305.
- Broome J. R., Sikorowski P. P., Norment B. R., 1976, A Mechanism of Pathogenicity of *Beauveria bassiana* on Larvae of the Imported Fire Ant, *Solenopsis richteri*, J. Invert. Path. 28: 87-91.
- Gafurova V. L., 1972, Entomopatogennyye gryby izolirovannyye s jablonnoj plodożorki, Izv. A. N. Tadż. SSR, Otd. Biol. 2: 89-92.
- Głowacka-Pilot B., 1973, Spostrzeżenia nad chorobami grzybowymi gąsienic rolnicy szkółkówek (*Agrotis vestigialis* Rott.), Sylwan, 2: 63-67.
- Kalviš T. K., 1970, Vozbuditeli mikozov nekotorych poleznych i vrednych nasekomych Sibiri, Izv. Gib. Otd. A. N. SSR 10: 93-98.
- Kolesničenko O. W., 1974, Nekotorye gribnye bolezni vrednych nasekomych na juche Ukrainy, Trudy Kišinev s.-ch. Un-ta 124: 75-79.
- Machowicz-Stefaniak Z., 1976, Występowanie owadobójczych strzępczaków (*Hyphomycetales*, *Mycophyta*) na szkodnikach sadów w okolicach Lublina ze szczególnym uwzględnieniem prządki pierścienicy *Malacosoma neustria* L., Ann. UMCS, ser. C, 15: 171-181.
- Machowicz-Stefaniak Z., 1977, Patogeniczność strzępczaków owadobójczych (*Hyphomycetales*, *Mycophyta*) względem prządki pierścienicy *Malacosoma neustria* L. (*Lepidoptera*), Roczn. Nauk rol. ser. E. (w druku).
- Schaerffenberg B., 1957, Infektions- und Entwicklungsverlauf des insekten-tötenden Pilzes *Beauveria bassiana* (Vuill.) Link, Z. angew. Ent. 41: 395-402.
- Schaerffenberg B., 1959, Zur Biologie Und Ökologie des insekten-tötenden Pilzes *Metarrhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Z. angew. Ent. 44: 262-271.
- Vey A., Fargues J., 1977, Histological and Ultrastructural Studies of *Beauveria bassiana* Infection in *Leptinotarsa decemlineata* Larvae during Ecdysis, J. Invert. Path. 30: 207-215.
- Wojciechowska M., 1973, Preliminary Observations on the Production of Toxins by the Insect Pathogenic Fungi, Ekol. Pol. 21: 699-703.