

## Streszczenie

Entomopatogeniczne nicienie (EPN) z rodzajów *Heterorhabditis* i *Steinernema* (Nematoda: Rhabditida) są obligatoryjnymi parazytoidami owadów, tworzącymi mutualistyczny związek z bakteriami z rodzajów *Photorhabdus* i *Xenorhabdus* ( $\gamma$ -Proteobacteria, Enterobacteriaceae). Ze względu na swoją wysoką patogeniczność względem różnych rzędów owadów wykorzystywane są w ograniczaniu liczebności populacji owadów w ekosystemach naturalnych i użytkowanych przez człowieka.

Nicienie entomopatogeniczne nie są patogenami specyficznymi, a ich spektrum żywicielskie nie zostało w większości przypadków poznane. Wiadomo jednak, że stanowią je owady z wielu rzędów, a których przynajmniej jedno stadium rozwojowe ma kontakt z glebą. Ze względu na szerokie spektrum żywicieli, współwystępowanie w glebie oraz zachodzące na siebie zakresy preferencji termicznych, należy przypuszczać, że pomiędzy tymi nicieniami dochodzi do konkurencji o zasoby pokarmowe. Temperatura jest jednym z najważniejszych czynników abiotycznych środowiska i wpływa na większość procesów życiowych, zarówno organizmów stało-, jak i zmiennocieplnych. Temperatura gleby – naturalnego środowiska, w którym występują nicienie entomopatogeniczne – podlega ciągłym zmianom. Należy przypuszczać, że czynnik ten wpływa również na antagonistyczne oddziaływania pomiędzy nicieniami entomopatogenicznymi.

W niniejszej pracy opisałam doświadczenia nad wpływem temperatury na konkurencję pomiędzy najczęściej izolowanym na terenie Polski przedstawicielem rodzaju *Heterorhabditis* - *H. megidis* a *S. affine*, *S. kraussei*, *S. arenarium*, *S. bicornutum* i *S. carpocapsae*. Jednocześnie przeprowadziłam badania nad wpływem temperatury na infekcyjność, patogeniczność i stopień skolonizowania pojedynczych larw EPN w układzie 1 na 1 (1 larwa infekcyjna nicienia na 1 owada). W celu wyjaśnienia otrzymanych rezultatów doświadczeń zbadalam również wpływ temperatury na średni czas do zabicia połowy owadów testowych i uwalnianie przez nicienie symbiontów bakteryjnych. Określiłam ponadto wpływ temperatury na wzajemne interakcje pomiędzy *Photorhabdus temperata temperata* a *Xenorhabdus* spp. (symbionty nicieni). Przedmiotem badań było również tempo infekowania owadów żywicielskich.

Rezultaty badań wskazują, że temperatura wpływała na wynik jednoczesnej ekspozycji owadów testowych na larwy infekcyjne *H. megidis* i *Steinernema* spp. Wzrastająca temperatura zwiększała szanse *H. megidis* konkurującego z określonymi jako zimnolubne *S. affine* i *S. kraussei*. Wzrost temperatury faworyzował natomiast uznawane za ciepłolubne

*S. bicornutum* i *S. carpocapsae*. Temperatura nie wpływała natomiast na rezultat jednoczesnej ekspozycji owadów na *H. megidis* i *S. arenarium*. Uzyskane rezultaty badań wskazują ponadto, że temperatura wpływała na podstawowe aspekty biologii nicieni entomopatogenicznych, takie jak: patogeniczność ich larw infekcyjnych, czas śmierci owadów żywicielskich oraz uwalniania symbiotycznych bakterii. Wyniki eksperymentów potwierdzają sugerowane w literaturze preferencje termiczne poszczególnych gatunków EPN. Nie stwierdzono natomiast wpływu temperatury na stopień skolonizowania nicieni przez bakterie symbiotyczne. Wykazano różnice w tempie wnikania larw infekcyjnych poszczególnych gatunków nicieni do hemocelu owadów testowych. Gąsienice *Galleria mellonella* były najszybciej infekowane przez *S. carpocapsae* i *H. megidis*, najwolniej zaś przez *S. affine*. Temperatura wpływała również na interakcje pomiędzy symbiontami *H. megidis* i *Steinernema* spp. Z reguły wzrost temperatury zmniejszał szerokość stref wzajemnego hamowania wzrostu bakterii na pożywce stałej. Nie zawsze miało to jednak związek z wynikami wspólnej hodowli bakterii w pożywce płynnej. Obserwowanych wartości jednoczesnej ekspozycji żywicieli na larwy infekcyjne *H. megidis* i *Steinernema* spp. nie udało się wyjaśnić w oparciu o różnice w patogeniczności badanych gatunków nicieni. W kilku przypadkach rezultaty doświadczeń wyjaśniono w oparciu o testy patogeniczności uwzględniając jednocześnie krzywe śmiertelności owadów lub interakcje pomiędzy symbiontami nicieni.

Uzyskane wyniki badań wskazują, że temperatura modyfikuje konkurencję pomiędzy nicieniami entomopatogenicznymi, będąc jednym z czynników środowiskowych umożliwiających partycjonowanie zasobów pokarmowych. Ze względu na wieloczynnikowy i dynamiczny rodzaj układu nicienie-bakterie-owady nie da się jednak przewidzieć rezultatów koinfekcji żywicieli w oparciu o poszczególne składowe. Rezultaty przeprowadzonych doświadczeń sugerują ponadto, że interakcje między symbiontami nicieni *in vitro* i *in vivo* różnią się. Biorąc pod uwagę rezultaty przeprowadzonych przeze mnie badań, dane dotyczące bioróżnorodności i preferencji siedliskowych EPN mogą być niepełne. Można je uzupełnić modyfikując warunki termiczne izolacji nicieni entomopatogenicznych metodą „żywej pułapki”.

Magdalena Lis  
11.03.2019r.

## Summary

Entomopathogenic nematodes (EPN) of the genera *Heterorhabditis* and *Steinernema* (Nematoda: Rhabditida) are obligatory parasitoids of insects, mutualistically associated with *Photorhabdus* and *Xenorhabdus* bacteria ( $\gamma$ -Proteobacteria, Enterobacteriaceae). Due to their high pathogenicity to a wide range of insect hosts, they are widely used to reduce the insect population density in natural and managed ecosystems.

Entomopathogenic nematodes are not specific pathogens, and in most cases their host range has not been recognized yet. It is known, however, that entomopathogenic nematode hosts belong to many insect orders, and whose at least one developmental stage occurs in the soil. Due to the wide insect hosts range, cooccurrence in the soil and overlapping thermal niches, it can be assumed that these nematodes compete for food resources. Temperature is one of the most important abiotic factors in the environment. It affects the majority of life processes, in both warm-blooded and cold-blooded organisms. Temperature of the entomopathogenic nematode natural environment – the soil - is fluctuating. It can be assumed that this environmental factor is also affecting the antagonistic relationships between entomopathogenic nematodes.

In this work, I describe the influence of the temperature on the competition between *H. megidis* (the most abundant representative of the genus *Heterorhabditis* in Polish soils) and *S. affine*, *S. kraussei*, *S. arenarium*, *S. bicornutum* and *S. carpocapsae*. I also performed a laboratory studies on the influence of temperature on infectivity, colonization degree and pathogenicity of the single EPN infective juveniles in a 1-on-1 bioassays (1 infective juvenile *versus* 1 insect host). To explain the obtained results, I also examined the effect of temperature on the average time necessary to kill a half of the test insects and the release of bacterial symbionts by nematodes. I also determined the influence of temperature on the antagonistic interactions between *Photorhabdus temperata temperata* and *Xenorhabdus* spp. (nematode symbionts). The study also considered the infection rate of insect hosts.

The results of the study indicate that temperature influenced the result of simultaneous exposure of laboratory insects to infective juveniles *H. megidis* and *Steinernema* spp. As temperature increased, the chances of *H. megidis* competing with cold-active *S. affine* and *S. kraussei* rise. Increased temperature favored *S. bicornutum*

and *S. carpocapsae*, which are considered to be warm-adapted. Temperature did not affect the result of the simultaneous exposure of insects to *H. megidis* and *S. arenarium*. The obtained research results also indicate that temperature influenced the basic aspects of entomopathogenic nematode biology, such as the pathogenicity of their infective juveniles, the time of insect host death and the release of symbiotic bacteria. The results of the experiments confirmed the previously suggested thermal preferences of EPN species. However, no influence of temperature was confirmed for the colonization degree of nematodes by symbiotic bacteria. Interspecies differences in the infective juvenile infection rate into insect hemocel were demonstrated. *Galleria mellonella* larvae were infected the fastest by *S. carpocapsae* and *H. megidis*, and the slowest by *S. affine*. Temperature also influenced interactions between the bacterial symbionts of *H. megidis* and *Steinernema* spp. In general, increasing temperature reduced the width of the inhibition zones of bacterial growth on the solid medium. However, this was not always related to the results of the simultaneous bacterial growth in a liquid medium. The observed results of the host simultaneous exposure to *H. megidis* and *Steinernema* spp. infective juveniles could not be explained only on the basis the different pathogenicity of the nematode species. In a few cases, the results of the experiments were successfully explained on the basis of pathogenicity tests and insects' mortality rates or interactions between nematode symbionts.

The obtained results indicate that temperature modulate the competition between entomopathogenic nematodes, being one of the environmental factors influencing the food resources partitioning. Due to the complexity and dynamic nature of the nematode-bacteria-insect system, it is impossible to predict the results of the host co-infection based only on its individual components. Performed experiments also suggest differences between *in vitro* and *in vivo* nematode symbiont interactions. Given the results of my research, previously published data on the biodiversity and EPN habitat preferences may be incomplete. These data can be supplemented by modifying the thermal conditions of entomopathogenic nematode isolation using the "live trap" method.

Magdolena Lis  
11.03.2013r.