# Załącznik 2

# Autoreferat

# Opis Dorobku i Osiągnięć Naukowych


## Dr inż. Dorota Tumialis

**Katedra Biologii Środowiska Zwierząt**
**Zakład Zoologii**
**Wydział Nauk o Zwierzętach**
**Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego**
**w Warszawie**
ul. Nowoursynowska 166; 02-787 Warszawa
tel. (22) 59 36630
email: dorota_tumialis@sggw.pl


Warszawa, 2019

**Spis treści**


| | | |
|---|---|---|
| 1. | Życiorys naukowy | 3 |
| 2. | Prace wskazane jako szczególne osiągnięcie, o którym mowa w art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.) pod tytułem: **Nicienie entomopatogeniczne Polski i ich wykorzystanie w biologicznej ochronie lasów przed szkodliwymi owadami** | 5 |
| 3. | Opis monotematycznego cyklu prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe | 6 |
| 4. | Opis pozostałych osiągnięć w zakresie prowadzonych badań | 23 |
| 5. | Sumaryczne zestawienie dorobku | 39 |
| 6. | Inne osiągnięcia związane z aktywnością dydaktyczną oraz organizacyjną | 42 |

## 1. Życiorys naukowy

### 1.1. Wykształcenie

**1995 – 2000** Studia na Wydziale Nauk o Zwierzętach w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie. Absolwentka na kierunku Hodowla Małych Zwierząt Użytkowych i Amatorskich w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie; Uzyskany tytuł: magister inżynier zootechniki (temat pracy mgr.: Porównanie zachowania się szympansów (*Pan troglotydes*) w Warszawskim i Wrocławskim Ogrodzie Zoologicznym, *Promotor - dr hab. Tadeusz Kaleta*)

**2000 – 2006** Studia doktoranckie na Wydziale Nauk o Zwierzętach SGGW w dyscyplinie: zootechnika

**2005 – 2006** Podyplomowe Studia Pedagogiczne - Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

**2006** Uzyskanie tytułu doktora nauk rolniczych w zakresie zootechniki (temat rozprawy doktorskiej: Wpływ czynników ekologicznych na układ nicień *Heterorhabditis megdis* – bakteria mutualistyczna *Photorhabdus luminescens* w warunkach hodowli *in vitro*. *Promotor - dr hab. Marta Kamionek)*, praca z wyróżnieniem

### 1.2. Doświadczenie zawodowe, szkolenia i staże

**09. 2006 – 09. 2008**
Analab Sp. z o.o. - firma produkująca odczynniki do diagnostyki medycznej

**11.2007 – 06.2008**
Gimnazjum nr 28 im. gen. bryg. Franciszka Sznajdego w Warszawie (nauczyciel przedmiotu biologia)

**01. 12. 2008 do chwili obecnej**
Adiunkt Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Katedra Biologii Środowiska Zwierząt, Zakład Zoologii

**Staże:**

**06.2002** Staż w Koppert Biological Systems R&D Microbials, Berkel en Rodenrijs, Holandia hodowla monokseniczna nicieni entomopatogenicznych i poznanie technologii płynnej hodowli nicieni

**02 – 03. 2005** Staż/Stypendium Unii Europejskiej finansowane przez COST 850, Koppert Biological SystemR&D Microbials, Berkel en Rodenrijs, Holandia Tytuł projektu: Extrapolation of shaking flask culturing of *Heterorhabditis megidis* to a liquid state bio-reactor.

**Szkolenia:**

**09. 2009** Szkolenie "Pracownicy SGGW wobec studentów niepełnosprawnych" w ramach projektu program unowocześniania

| | |
|---|---|
| | kształcenia w SGGW dla zapewnienia konkurencyjności oraz wysokiej kompetencji absolwentów (certyfikat) |
| **27.06.2012** | Szkolenie "Rozwój kariery naukowej w 7PR" |
| **24.05.2012** | Szkolenie "Nowe Konkursy w Priorytecie Środowisko" |
| **20. 06. 2013** | Szkolenie "How to Write a World Class Paper" |
| **26 – 30. 08. 2013**<br>**21 – 25. 10. 2013** | „Przyszłość rozwojowa żywności". Współfinansowane ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki. Termin szkolenia 2013 (Gdynia) (certyfikat) |
| **13. 05. 2014.** | Szkolenie "Wdrażanie systemu zapewnienia i doskonalenia jakości kształcenia", w ramach realizacji projektu nr KSI – POKL. 04. 01. 01 – 00 – 051/11 – 00 (zad. 1 poz. 14) „Podnoszenie jakości zarządzania zasobami SGGW" (zaświadczenie) |
| **27. 05. 2014.** | Szkolenie "Wdrażanie systemu antyplagiatowego", w ramach realizacji projektu nr KSI – POKL. 04. 01. 01 – 00 – 051/11 – 00 (zad. 7 poz. 84) „Podnoszenie jakości zarządzania zasobami SGGW" (zaświadczenie) |
| **18. 11. 2014** | Szkolenie „Praktyczne sposoby komercjalizacji wyników badań w naukach przyrodniczych, aspekty międzynarodowe", w ramach projektu „Inkubator innowacyjności SGGW". Blok tematyczny II: „Przekazywanie praw do wynalazków – negocjacje w międzynarodowym obrocie własnością intelektualną" (certyfikat) |
| **19. 11. 2014** | Szkolenie „Praktyczne sposoby komercjalizacji wyników badań w naukach przyrodniczych, aspekty międzynarodowe", w ramach projektu „Inkubator innowacyjności SGGW". Blok tematyczny III: „Pozyskiwanie funduszy na innowacyjne projekty life science w przestrzeni międzynarodowej". (certyfikat) |
| **20. 11. 2014** | „Praktyczne sposoby komercjalizacji wyników badań w naukach przyrodniczych, aspekty międzynarodowe", w ramach projektu „Inkubator innowacyjności SGGW". Blok tematyczny IV: „Określenie celu biznesu – produkt finalny czy dokumentacja na sprzedaż" (certyfikat) |
| **08.05.2015** | Szkolenie „III Warsztaty dla Młodych Naukowców „Kariera naukowa szanse i bariery ", Warszawa , 8 maja 2015 (certyfikat) |
| **09. 2009** | Szkolenie "Pracownicy SGGW wobec studentów niepełnosprawnych" w ramach projektu program unowocześniania kształcenia w SGGW dla zapewnienia konkurencyjności oraz wysokiej kompetencji absolwentów (certyfikat) |

**27.06.2012** Szkolenie "Rozwój kariery naukowej w 7PR"

**24.05.2012** Szkolenie "Nowe Konkursy w Priorytecie Środowisko"

**2. Prace wskazane jako szczególne osiągnięcie, o którym mowa w art. 16 ust. 2 z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.): pod tytułem: Nicienie entomopatogeniczne Polski i ich wykorzystanie w biologicznej ochronie lasów przed szkodliwymi owadami**

1) Skrzecz I., **Tumialis D.**, Pezowicz E., Sowińska A. 2012. Evaluation of biological activity of biopreparations containing nematodes from the genera Steinernema and Heterorhabditis used for reducing large pine weevil *Hylobius abietis* L. population in pine *Pinus sylvestris* L. stumps. Folia Forestalia Polonica. Seria A, 54 ( 3): 196-201.

***(7pkt. MNiSW; liczba cytowan 0)***

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował udział w tworzeniu koncepcji i metodyki badań, przeprowadzeniu badań terenowych i laboratoryjnych, udział w przygotowaniu manuskryptu do druku. Swój udział szacuję na* ***70%.*** *Oświadczenia pozostałych autorów w załączniku.*

2) **Tumialis D.**, Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Pezowicz E., Góral K. 2013. Wrażliwość larw *Hylobius abietis* (L.) na rodzime gatunki i szczepy nicieni entomopatogenicznych. Sylwan, 157 (10): 769-774.

***(IF = 0,295; 15 pkt. MNiSW; liczba cytowań 0)***

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował udział w tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu doświadczeń, opracowaniu wyników, przygotowaniu tekstu do druku. Pełniłam funkcję autora korespondującego z redakcją czasopisma. Swój udział szacuję na* ***75%.*** *Oświadczenia pozostałych autorów w załączniku.*

3) **Tumialis D.**, Gromadka R., Skrzecz I., Pezowicz E., Mazurkiewicz A., Popowska – Nowak E. 2014. *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) (Rhabditida: Steinernematidae) – the first record from Poland. Helminthologia, 51 (2):162 – 166.

***(IF = 0,678; 20 pkt. MNiSW; liczba cytowań 3)***

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował udział w tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, wykonaniu pomiarów morfometryczych, opracowaniu wyników, przygotowaniu tekstu do druku. Pełniłam funkcję autora korespondującego z redakcją czasopisma. Swój udział szacuję na* ***60%.*** *Oświadczenia pozostałych autorów w załączniku.*

4) **Tumialis D.**, Pezowicz E., Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Maszewska J., Jarmuł -Pietraszczyk J., Kucharska K. 2016. Occurrence of entomopathogenic nematodes in Polish soils. Ciência Rural, 46 (7): 1126-1129.

***(IF = 0,417; 15 pkt. MNiSW; liczba cytowań 3)***

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował udział w tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu badań terenowych i laboratoryjnych, opracowaniu wyników, przygotowaniu tekstu do druku. Swój udział szacuję na* ***75%.*** *Oświadczenia pozostałych autorów w załączniku.*

5) **Tumialis D.**, Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Pezowicz E. 2018. Sensitivity of caterpillars of the pine tree lappet moth *Dendrolimus pini* to native isolates of entomopathogenic nematodes. International Journal of Pest Management

***(IF = 1,090; 25 pkt. MNiSW); liczba cytowań 0)***

*Mój wkład w powstanie pracy obejmował udział w tworzeniu koncepcji przeprowadzonych badań, opracowaniu metodyki, przeprowadzeniu doświadczeń, opracowaniu wyników, przygotowaniu tekstu do druku. Swój udział szacuję na* ***75%.*** *Oświadczenia pozostałych autorów w załączniku.*

**Suma punktów**
**IF = 2,48**
**Punkty MNiSW = 82**

## 3) Opis monotematycznego cyklu prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe

### 3.1. Uzasadnienie badań

W obecnych dążeniach do ograniczania stosowania chemicznych metod w ochronie lasu przed owadami wiele uwagi poświęca się badaniom aktywności chorobotwórczych mikroorganizmów oraz parazytoidów, owadów drapieżnych i kręgowców redukujących liczebność szkodliwej entomofauny. Spośród nich na szczególną uwagę zasługują nicienie entomopatogeniczne (EPNs). Nicienie z rodzin Steinernematidae i Heterorhabditidae dzięki

wysokiej skuteczności owadobójczej, wytwarzaniu stadium larwy inwazyjno - przetrwalnikowej (IJs) oraz możliwości masowego namnażania na podłożach sztucznych stały się jednym z ważniejszych czynników biologicznego zwalczania szkodników roślin. Nicienie entomopatogeniczne mają ponadto wiele atrybutów doskonałego czynnika biologicznego zwalczania: są bezpieczne dla środowiska, mają wysoki potencjał reprodukcyjny, larwy inwazyjno - przetrwalnikowe tych organizmów mogą długo przetrwać w glebie po aplikacji w formie preparatu (Gaugler i Kaya, 1990; Ehlers i in., 2000; Adams i in., 2006).

Zabezpieczanie szkółek i upraw leśnych przed szkodliwymi owadami jest jednym z ważniejszych problemów ochrony tych ekosystemów w wielu krajach europejskich, a szczególnie istotnym w naszym kraju, ze względu na wysoką i utrzymującą się od wielu lat liczebność szkodników. Najczęściej stosowaną formą ochrony szkółek i upraw są zabiegi chemiczne polegające na dezynsekcji gleby lub na opryskiwaniu drzewostanów przy użyciu bardzo toksycznych preparatów owadobójczych. Chemiczne środki ochrony roślin ograniczają wprawdzie szybko liczebność szkodnika, ale rozwój odpornych ras owadów, problem pozostałości pestycydów i związane z tym zagrożenie środowiska, w licznych przypadkach ograniczają ich stosowanie. Nie bez znaczenia są również rosnące gwałtownie wydatki na chemiczną ochronę lasu, wynoszące każdego roku od kilku do kilkunastu milionów PLN. Jednocześnie obserwuje się stały spadek zainteresowania producentów pestycydów rejestracją środków ochrony roślin w leśnictwie, ze względu na jej wysokie koszty i skomplikowane procedury wynikające z prawa obowiązującego w krajach Unii Europejskiej (Dyrektywa 91/414, Dyrektywa 2009/128/WE, Rozporządzenie 1107/2009). Dodatkowo, certyfikacja Lasów Państwowych w systemie FSC (Forest Stewardship Council) ograniczyła możliwość stosowania większości insektycydów w ochronie szkółek i upraw leśnych przed owadami. W efekcie leśnicy dysponują obecnie nielicznymi insektycydami z grupy politoksycznych pyretroidów przeznaczonych do ochrony upraw przed szkodnikami. Z tych względów istnieje pilna potrzeba opracowania metod redukcji liczebności tych owadów bez użycia takich pestycydów. Stosowanie preparatów na bazie nicieni pozwala ograniczyć stosowanie środków chemicznych, co przyczynia się do zachowania i ochrony bioróżnorodności. Preparaty te mają wysoką jakość i skuteczność. Jednak jak dowodzą badania przeprowadzone przez Arthurts i in. (2004) w biologicznym zwalczaniu ważny jest wybór odpowiedniego gatunku, a nawet izolatu nicieni, ponieważ mają one różne optymalne temperatury aktywności i inaczej reagują na zmiany wilgotności. Stąd potrzeba ciągłej izolacji szczepów nicieni w terenie i testowania ich właściwości parazytologicznych w warunkach laboratoryjnych. Badania takie dostarczają informacji potrzebnych w określeniu

specyficzności gatunków/szczepów EPNs w stosunku do konkretnego szkodnika upraw (Lakatos i Tóth, 2006; Tóth, 2006). Prace terenowe mające na celu izolacje rodzimych szczepów zostały zaplanowane w taki sposób, żeby można było równocześnie wyjaśnić stosunkowo słabo poznane aspekty ekologii tych nicieni, takie jak: zależność występowania gatunków nicieni od typu siedliska, wysokości nad poziomem morza i pory roku. Do badań nad możliwością wykorzystania nicieni w biologicznym zwalczaniu szkodników w uprawach leśnych wybrano dwa gatunki, które powodują w Polsce duże szkody gospodarcze a ich biologia (czasowe przebywanie w glebie) pozwala na aplikację nicieni.

Badania zrealizowane w ramach projektu finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz fundusze Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie pozwoliły na analizę występowania gatunków nicieni entomopatogenicznych w Polsce oraz ocenę możliwości ich wykorzystania do zwalczania szeliniaka sosnowca *Hylobius abietis* (L.) i barczatki sosnówki *Dendrolimus pini* L. w uprawach leśnych.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w monotematycznym cyklu prac stanowiących osiągnięcie, o którym mowa w art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.): „**Nicienie entomopatogeniczne Polski i ich wykorzystanie w biologicznej ochronie lasów przed szkodliwymi owadami**".

### 3.2. Wstęp

Nicienie entomopatogeniczne są organizmami kosmopolitycznymi występującymi na całej kuli ziemskiej, za wyjątkiem Antarktydy (Hominick i in., 1996). Ze względu na preferencje siedliskowe i pokarmowe możemy wyróżnić gatunki o zasięgu globalnym, oraz takie, których występowanie potwierdzone jest tylko w niektórych rejonach bądź krajach. Jednym z najbardziej powszechnych gatunków na całym świecie jest *Steinernema feltie* (Filipjev, 1934), który preferuje klimat strefy umiarkowanej. Gatunkiem rzadziej izolowanym jest *Steinernema carpocapsae* (Weiser, 1955), jednak również o zasięgu globalnym. Występowanie pozostałych gatunków nicieni z rodziny Steinernematidae ograniczone jest to regionów zoogeograficznych, kontynentów lub ekosystemów. Przykładowo *Steinernema affine* (Bovien, 1937), jest jednym z najczęściej izolowanych gatunków, jednak tylko na kontynencie europejskim, a *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) ma zasięg holarktyczny (Sturhan i Liskova, 1999). Spośród rodziny Heterorhabditidae szerokim zasięgiem występowania i jednocześnie najczęściej izolowanym gatunkiem jest *Heterorhabditis bacteriophora* (Poinar, 1979), występujący w klimacie kontynentalnym i

śródziemnomorskim. Drugim gatunkiem izolowanym w wielu częściach świata półkuli północnej jest *Heterorhabditis megidis* (Poinar, Jackson i Klein, 1987) (Hominic, 2002). Jednak jak pokazują badania, nicienie z rodziny Heterorhabditidae są gatunkami rzadko izolowanymi na terenie Europy (Hominic i in., 1996), a niektóre mają bardzo wąskie rozmieszczenia jak np. *Heterorhabditis downesi* (Stock, Griffin i Burnell, 2002), którego zasięg obejmuje tylko tereny Irlandii gdzie występuje na obszarach wydmowych oraz na terenach Węgier (Griffin i in., 1999; Rolston i in., 2005;). Spośród rodziny Steinernematidae w Europie najczęściej izolowanym gatunkiem jest *S. feltiae* i *S. affine*. Ponadto na terenie Europy występują również *S. carpocapsae* (izolowany na terenie Portugalii, Słowacji, Niemiec, Włoch, Hiszpanii i Szwajcarii), *Steinernema glaseri* (Steiner, 1929) (Portugalia, Hiszpania), *S. kraussei* (Belgia, Czechy, Słowacja, Niemcy, Szwajcaria, Wielka Brytania), *Steinernema intermedium* (Poinar, 1985) (Czechy, Słowacja, Niemcy, Szwajcaria), *Steinernema bicornutum* (Tallosi, Peters i Ehlers, 1995), (Słowacja, Czechy, Niemcy, Szwajcaria), *Steinernema arenarium* (Artyukhovsky, 1967) (południowe Włochy). Spośród nicieni z rodziny Heterorhabditidae w Europie szeroko rozmieszczone są dwa gatunki: *H. bacteriophora* (izolowany w Portugalii, Niemczech, Węgrzech, Włoszech, Polsce, Hiszpanii i Szwajcarii) oraz *H. megidis* (Belgia, Czechy, Dania, Estonia, Niemcy, Grecja, Holandia, Szwajcaria, Wielka Brytania, Irlandia) (Hominic, 2002). Nicienie zasiedlają większość ekosystemów lądowych, a wiele gatunków wykazuje wyraźne preferencje siedliskowe. Obecność nicieni w danym typie siedliska uzależniona jest od wielu czynników, z których większość związana jest ze środowiskiem glebowym stanowiącym miejsce bytowania larw inwazyjnych. Do czynników tych należą typ i tekstura zasiedlanej gleby (Koppenhöfer i Fuzy, 2006), odczyn i zawartość materii organicznej (Stuart i in., 2006). Kluczowym czynnikiem decydującym o występowaniu nicieni w danym środowisku jest również obecność ich żywicieli (Cross i in., 1999, Mráček i Bečvář, 2000). Podczas badań środowiska życia EPNs zaobserwowano wyraźne preferencje siedliskowe kilku gatunków. Na ogół nicienie *Steinernema* spp. preferują siedliska otwarte i półotwarte, takie jak łąki, lasy, pola uprawne, sady oraz pobocza dróg. *S. kraussei* najczęściej izolowany jest z obszarów lasów iglastych, i w mniejszym stopniu z terenów łąk górskich. Szeroko rozpowszechniony *S. feltiae*, a także S. *affine* preferują lasy liściaste, tereny łąkowe, sady, ogrody, pola uprawne oraz pobocza dróg. *S. intermedium* jest ściśle związany z obszarami leśnymi, a *Steinernema weiseri* (Mráček, Sturhan i Reid, 2003) z poboczami dróg i glebami z sadów. Wiele gatunków *Steinernema* występuje na polach uprawnych określonych gatunków roślin (Hominick, 1996; Mráček i in., 2005; Adams i in., 2006; Khatri – Chhetri i in., 2010).

Nicienie *Heterorhabditis* spp. bardzo często spotykane są w glebach przybrzeżnych (głównie H. *bacteriophora* oraz *H. indica*). *H. megidis* często stwierdzany jest na terenach zachwaszczonych i bogatych w torf, a także w lasach tropikalnych (Hominick, 1996; Adams i in., 2006). Warunki środowiska, w którym bytują nicienie bardzo często ulegają chwilowym lub długotrwałym zaburzeniom. Nicienie jednak doskonale adaptują się do nowych warunków i zwiększają swoją tolerancję na stres. W sytuacji skrajnie niekorzystnych warunków środowiskowych, nowo powstałe larwy inwazyjne nie opuszczają zwłok żywiciela, a pozostają w nich do momentu ustąpienia sytuacji „zagrożenia". W martwym ciele owada, nicienie mogą przebywać nawet przez 50 dni (Stuart i in., 2006). Nicienie entomopatogeniczne od wielu lat stanowią obiekt zainteresowania zarówno z teoretycznego jak i praktycznego punktu widzenia. Pomimo to ekologia i rozmieszczenie wielu gatunków są słabo poznane. W ciągu ostatnich lat w Polsce stwierdzono występowanie następujących gatunków: *S. feltiae, S. affine, S. bicornutum S. carpocapsae, S. arenarium i H. megidis i H. bacteriophora* (Bednarek, 1990; Dzięgielewska i Kiepas-Kokot, 2004; Kreft i in., 2011; Dzięgielweska, 2012). Badania te ograniczone jednak były do niewielu rejonów Polski i dotyczyły głównie agrocenoz, terenów przemysłowych i obszarów wokół dużych miast. Z wielu rejonów Polski nie ma danych m. in. są to tereny Pomorza Wschodniego, Pojezierza Mazurskiego, obszary gór i pogórza.

Zabezpieczanie upraw drzew iglastych przed owadami szkodliwymi jest jednym z ważniejszych problemów ochrony lasu. Spośród owadów wyrządzających gospodarcze szkody w najmłodszych uprawach drzew iglastych szczególne znaczenie mają gatunki zaliczane do rodzaju *Hylobius* (Coleoptera: Curculionidae), a przede wszystkim szeliniak sosnowiec *Hylobius abietis* (L.). Gatunek ten rozpowszechniony jest na obszarach Europy, Syberii i Japonii. W Polsce szeliniak sosnowiec występuje corocznie na terenie całego kraju. Od ponad 10 lat, powierzchnia zagrożonych przez niego upraw waha się od 20 do 30 tys. ha, a kontrolą liczebności tego gatunku objęte są wszystkie uprawy leśne (Kolk i Kapuściński, 2004). Owad ten może uszkadzać praktycznie wszystkie gatunki drzew iglastych, a także drzewa liściaste. Chrząszcze żerują na strzałkach i bocznych pędach sadzonek wygryzając płatowo korę, co w konsekwencji prowadzi do deformacji i usychania drzewek. W przeciwieństwie do imago, larwy szeliniaka sosnowca nie powodują szkód gospodarczych, gdyż rozwijają się w korzeniach pniaków pozostałych po ściętych sosnach (*Pinus* spp.) i świerkach (*Picea* spp.). Oprócz poważnych strat gospodarczych spowodowanych uszkodzeniami sadzonek, szeliniak sosnowiec przenosi zarodniki grzyba *Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref. i tym samym współuczestniczy w rozprzestrzenianiu się choroby drzew –

huby korzeni (Nuorteva i Lane, 1972). Badania wykonane we Francji wykazały również, że szeliniak sosnowiec jest wektorem patogenicznych dla sosny grzybów *Leptographium procerum* i *Ophiostoma piliferum* (Levieux i Piou, 1994). W Polsce co roku zabezpiecza się przed szkodami wyrządzanymi przez chrząszcze szeliniaka wiele tysięcy hektarów upraw. Zabiegi wykonuje się przed lub w trakcie odnowień i polegają one na chemicznym zabezpieczanie sadzonek przez namaczanie nadziemnych części roślin w roztworze insektycydu. W przypadku masowych pojawów chrząszczy na uprawach w maju - czerwcu lub sierpniu, zabiegi ochronne polegają na opryskiwaniu drzewek po sadzeniu. Badania dotyczące możliwości wykorzystania w zwalczaniu tego owada nicieni entomopatogenicznych w najszerszym zakresie prowadzone są w Wielkiej Brytanii i Irlandii (Brixey i in., 2006; Dillon i in., 2006, 2007, 2008).

Kolejnym groźnym dla upraw sosny szkodnikiem jest barczatka sosnówka *Dendrolimus pini* L. (Lepidoptera: Lasiocampidae). W Polsce, Niemczech i na Litwie zaliczany jest do najgroźniejszych gospodarczo szkodników sosny (*Pinus sylvestris* L.) występujących w formie gradacji (Sierpińska 1998; Gräber i in., 2012; Gedminas i in., 2015). Najprawdopodobniej w związku z ocieplaniem się klimatu, gatunek ten powiększa areał występowania, gdyż w ciągu ostatnich 10 lat gąsienice *D. pini* znaleziono również w Szwecji i Wielkiej Brytanii (Björkman, 2013; Ray i in., 2016). W Polsce w ciągu ostatnich 10 lat szkodnik ten wystąpił na łącznej powierzchni około 300 tysięcy hektarów drzewostanów sosnowych powodując ich defoliację, często przekraczającą 50%. Kolejnym problemem jest wzrastająca odporność tego szkodnika na środki chemiczne (Gedminas i in., 2015). Dzięki temu, że gąsienice tego gatunku zimują w ściółce leśnej możliwe jest zwalczanie ich z za pomocą nicieni entomopatogenicznych. W związku z tym podjęłam badania, które są pierwszą na świecie próbą określenia wrażliwości barczatki sosnówki na nicienie entomopatogeniczne .

Na podstawie przedstawionego wyżej przeglądu literatury oraz badań własnych podjęto realizację doświadczeń, których **celem było określenie możliwości wykorzystania rodzimych szczepów nicieni entomopatogenicznych do ograniczania liczebności szkodliwych owadów w uprawach leśnych**.

W monotematycznym cyklu publikacji stanowiących główne osiągnięcie mojego dorobku naukowego określono:

- skład gatunkowy nicieni entomopatogenicznych w Polsce, w zależności od: pory roku, siedliska i wysokości nad poziomem

- skuteczność rodzimych szczepów nicieni w zwalczaniu dwóch szkodników leśnych: szeliniaka sosnowca i barczatki sosnówki (w warunkach laboratoryjnych)
- skuteczności komercyjnych preparatów na bazie nicieni w zwalczaniu szeliniaka sosnowca (w próbach terenowych)

**Podstawowym celem zrealizowanych badań było wytypowanie spośród wyizolowanych rodzimych szczepów nicieni entomopatogenicznych najbardziej patogennych w stosunku do badanych szkodników.** W badaniach wykorzystano rodzime izolaty wyizolowane w latach 2010 - 2011(**3**) z gleb w różnych rejonach i siedliskach Polski. Izolaty te są utrzymywane w stałej hodowli w Zakładzie Zoologii (Wydział Nauk o Zwierzętach, SGGW). Przynależność gatunkową wyizolowanych nicieni określono metodami genetycznymi. Wybrane izolaty testowane były pod kątem ich skuteczności w zwalczania larw *H. abietis* i .*D pini*. W przypadku *D. pini* były to pierwsze tego typu badania na świecie. W celu określenia skuteczności nicieni w zwalczaniu *H. abietis*, w warunkach naturalnych podjęto również badania z zastosowaniem preparatów komercyjnych na bazie nicieni.

**Materiał i Metody**

W badaniach do publikacji (**P2, P3, P4, P5**) wykorzystano nicienie wyizolowane z gleb Polski. Próby glebowe do oznaczenia gatunków nicieni entomopatogenicznych występujących w Polsce pobierano w latach 2010 i 2011 w sezonach: wiosennym (od kwietnia do czerwca), letnim (od lipca do września), oraz jesiennym (od września do listopada). Pobieranie prób glebowych w różnych terminach pozwoliło na ocenę sezonowej zmienności występowania nicieni entomopatogenicznych w badanych lokalizacjach. Ogółem pobrano 167 prób z gleb, w 111 lokalizacji, z obszaru Polski w transekcie północ – południe. Próby glebowe pobierano z różnych typów środowisk tj.: lasy, pola, łąki, oraz nieużytki. Z każdego stanowiska pobierano 5 prób gleby za pomocą sondy Egnera (średnica 2,5 cm) do głębokości 15-25 cm, o łącznej masie 1 kg gleby/stanowisko. Próby gleby umieszczano w foliowych workach i przewożono do laboratorium. Każdą pobraną próbę glebową przywiezioną do laboratorium dokładnie mieszano i rozdzielano do 5 pojemników o pojemności 250 $cm^3$ każdy. Nicienie izolowano metodą pułapek glebowych z żywą przynętą (larwy *Galleria mellonella* L. Lepidoptera: Pyralidae) (Bedding i Akhurst, 1975). W każdym pojemniku z glebą umieszczano pięć larw *G. mellonella,* a następnie pojemniki z owadami umieszczano w inkubatorze w temperaturze 20°C. Po pięciu dniach przeprowadzano pierwszą kontrolę wyjmując martwe owady, a na ich miejsce umieszczając żywe. Proces ten powtarzano w odstępach dwudniowych, aż do 20 dnia trwania doświadczenia. W celu

uzyskania larw inwazyjno - przetrwalnikowych nicieni zastosowano metodę pułapek White'a (White, 1927). Pułapki wkładano do inkubatora o temperaturze 25°C. Po około dwóch tygodniach z martwych owadów uzyskiwano larwy IJs, które ściągane były pipetą do butelek do hodowli tkankowej. Butelki przechowywano w lodówkach w temperaturze 4°C. Uzyskane z pułapek White'a larwy IJs były wykorzystywane do zarażenia larw *G. mellonella,* w celu utrzymania hodowli izolatów nicieni oraz w celu ich identyfikacji genetycznej. Wstępnie przynależność nicieni do gatunków określono na podstawie cech morfologicznych i morfometrycznych (Poinar, 1990; Adams i Nguyen, 2002).

**Izolacja DNA**

Izolację DNA przeprowadzono ze 100 do 1000 larw IJs, wyizolowanych z prób glebowych. Izolacja poprzedzona została przepłukaniem larw nicieni roztworem Ringera, zawieszeniem ich w 50 ul butofuTris(10 mM,pH = 7,4) i mrożeniem w -80$^0$C przez 30 min. W dalszym postępowaniu nicienie inkubowano w temperaturze 65 °C przez 2 godziny w100 µl buforze do lizy (100 mMTris-HCl pH = 7,4;100 mM NaCl; 50 mM EDTA; 1% SDS; 1% β-merkaptoetanolu;200 µg / ml proteinazy K). DNA ekstrahowano fenolem (nasycony 10 mM roztwór Tris-HCl pH = 7,4) i chloroformem, wytrącono z frakcji wodnej 2,5 objętościami etanolu i ostatecznie zawieszono w 50 µl 10 mMbuforu Tris-HCl (pH = 7,4).

**Amplifikacja i sekwencjonowanie DNA**

Do powielenia fragmentów DNA techniką PCR zastosowano zestaw starterów 18S (5'TTGATTACGTCCCTGCCCTTT-3') i 26S (5'TTTCACTCGCCGTTACTAAGG-3' komplementarnych dla sekwencji jednostki tandemowej rDNA *Caenorhabditis elegans* (Maupas, 1899) (GenBankX03680, pozycje nukleotydów odpowiednio 2503-2523 i 3774–3794) (Vrain i in., 1992). Reakcje PCR przeprowadzono zgodnie z warunkami: wstępna denaturacja 95°C, 3 min; 35 cykli amplifikacji z denaturacją DNA w 95°C przez 30 sekund, przyłączeniem starterów w temp 50°C przez 30 sekund i syntezą w 72°C przez 60 sekund oraz końcową elongacją w 72°C przez 5minut. Produkty PCR oczyszczono poprzez wytrącanie etanolem i użyto do sekwencjonowania z wykorzystaniem zestawu BigDyeTerminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v. 3.1. (Life Technologies). Do sekwencjonowania zastosowano startery 18S i 26S wskazane powyżej oraz wewnętrzne startery f-nema (5'-ATCGGAGTCGCTTTGAGTGACGG-3') i r-nema (5'-GACACCGGCGGTTGGACGAA-3') zaprojektowane w programie Primer3 v.0.4.0(http://frodo.wi.mit.edu/) (3,4) Kompletne sekwencje regionu ITS1-5.8S-ITS2 cistronu rDNA (977 pz) uzyskano dla badanych izolatów nicieni. Analizę sekwencji DNA

przeprowadzono w oparciu o oprogramowania Pregap4 iProgramy Gap4 (Staden, 1996) (**P3,P4**).

Oznaczone genetycznie izolaty utrzymywane są w hodowli ciągłej w Zakładzie Zoologii (Wydział Nauk o Zwierzętach, SGGW) i zostały one wykorzystane do badań opisanych w publiakcjach (**P2 , P5**).

Spośród uzyskanych według opisanej powyżej metodyki izolatów, do badań w publikacji **P5** wykorzystano 5 izolatów nicieni reprezentujących gatunek *S. feltiae* (*K*11, K13, ZWO4, ZWO23) i *H. megidis* (Wipsowo). Do testów laboratoryjnych opisanych w niniejszej publikacji wykorzystano gąsienice *D. pini* zebrane w 40-letnich drzewostanach sosny zwyczajnej *Pinus sylvestris* L. nadleśnictwa Grodziec (Polska centralna, współrzędne: 52.036865,18.057976), w roku 2016. Owady w stadium $L_3$ zbierano z pni drzew w drugiej połowie października w trakcie ich schodzenia do ściółki na zimowanie. Po przewiezieniu do laboratorium gąsienice umieszczano po 20 sztuk na gałązkach sosnowych umieszczanych w kolbach Erlenmeyer'a (pojemność 200 ml) z wodą. W ten sposób przygotowane hodowle z owadami umieszczano następnie w szklanych kloszach (średnica 15 cm, wysokość 30 cm) przykrytych gazą w celu uniemożliwienia ucieczki owadów. Hodowlę gąsienic prowadzono w temperaturze $15^0$C, fotoperiodzie 10 : 14 (D : N) i wilgotności 70%, co odpowiadało warunkom panującym w terenie w końcu października. Po 48 godzinach adaptacji gąsienic do warunków laboratoryjnych, do dalszych testów wybierano osobniki, które schodziły po ściankach na dno kloszy, co imitowało ich przemieszczanie się do ściółki w drzewostanach. W laboratorium, gąsienice *D. pini* umieszczano na szalkach Petriego (Ø 9cm), na wilgotnej bibule w liczbie 5 gąsienic/szalkę. Nicienie aplikowano na szalki w dawkach 50 IJs/gąsienicę i 100 IJs/gąsienicę, a następnie szalki umieszczano w komorze inkubacyjnej w temperaturach: $17^0$C i $22^0$C.

Każdym z izolatów zarażono po 120 owadów (po 30 gąsienic na każdy układ parametrów). Po 48 godzinach od zarażenia martwe larwy poddawano sekcji i przy użyciu binokularu (powiększenie × 3-5) określono:

- ekstensywność zarażenia (procent zarażonych larw w badanej próbie),
- intensywność zarażenia (liczba nicieni stwierdzona w jednej zarażonej larwie), do określenia średniej intensywności zarażenia wzięto pod uwagę tylko liczbę zarażonych larw.

Do badań w publikacji **P2** wykorzystano 2 izolaty nicieni reprezentujących gatunek *S. feltiae* (*K*11, ZAG 15) i 1 izolat *S. kraussei (*400d). Larwy szeliniaka sosnowca zostały wyizolowane z odkopanych i odciętych korzeni (średnica od 2 do 5 cm) 40 pniaków *P. sylvestris* powstałych po ścięciu 100–letnich drzew, w Nadleśnictwie Celestynów, Leśnictwo Torfy

(RDLP w Warszawie), w 2012 roku. Larwy szeliniaka sosnowca umieszczano w szalkach Petriego na bibule filtracyjnej w liczbie 10 larw/szalkę. Nicienie aplikowano na bibułę filtracyjną w dawce 100 IJs/larwę *H. abietis*, a następnie szalki umieszczano w komorze inkubacyjnej w temperaturze 20°C. Każdym ze szczepów zarażono po 50 larw szeliniaka (5 powtórzeń po 10 sztuk). Po 48 godzinach od zarażenia określano śmiertelność larw *H. abietis* (procent martwych larw). Martwe larwy *H. abietis* przenoszono do pustych szalek Petriego i umieszczano je na 24 h w komorze inkubacyjnej (20°C).

Po tym czasie larwy poddawano sekcji i przy użyciu binokularu (powiększenie×3–5) określono (podobnie jak w przypadku badań w publikacji **P5**):

– ekstensywność zarażenia (procent zarażonych larw w badanej próbie),

– intensywność zarażenia (liczba nicieni stwierdzona w jednej zarażonej larwie); do określenia średniej intensywności zarażenia wzięto pod uwagę tylko liczbę zarażonych larw.

Doświadczenia do publikacji **P1** przeprowadzono na terenie Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Warszawie, w nadleśnictwach Piotrków (N $51^0$ 22' 37''; E $19^0$ 49' 01'') i Celestynów (N $55^0$ 03' 43''; E $21^0$ 23' 16''). Do zabiegów wybrano 2 powierzchnie zrębów zupełnych o areałach powyżej 3 ha. Na każdej z powierzchni znajdowały się 1-roczne pniaki *P. sylvestris* o średnicy od 32 do 50 cm (średnio 38 ± 5,4 cm), powstałe po usunięciu 90-100-letniego drzewostanu *P. sylvestris* . Aplikacje nicieni dokonano we wrześniu 2010 i 2011 r., kiedy w korzeniach pniaków znajdowały się larwy szeliniaka sosnowca pokolenia zimującego. W doświadczeniach wykorzystano następujące biopreparaty: Capsanem zawierający nicienie *S. carpocapsae* (Koppert B.V., Holandia); Nemasys F zawierający nicienie *S. feltiae* (Becker Underwood Ltd, UK); Nemasys H zawierający nicienie *H. bacteriophora* (Becker Underwood Ltd, UK); Nemasys G zawierający nicienie *H. megidis* (Becker Underwood Ltd, UK) oraz preparat zawierający nicienie *Heterorhabditis downesi* (Koppert B.V., Holandia). Wszystkie biopreparaty zawierały larwy inwazyjne (IJs) nicieni w ilości 50 mln nicieni/opakowanie. Bezpośrednio przed zabiegiem odgarnięto ściółkę dookoła pniaków w promieniu około 1m i przygotowano wodną zawiesinę biopreparatów. Zawiesinę larw inwazyjnych nicieni w dawce 2 l/pniak (3,5 mln nicieni/pniak) aplikowano na glebę dookoła pniaków przy użyciu opryskiwacza plecakowego, a następnie opryskaną glebę przykryto ponownie ściółką. Kontrolę doświadczenia stanowiły pniaki opryskane wodą. Każdym z biopreparatów oraz w wariancie kontrolnym opryskano po 30 pniaków (3 powtórzenia × 10 pniaków), łącznie w badaniach wykorzystano 210 pniaków (przez 2 lata). Aplikacje wykonano w połowie września przy temperaturze powietrza $17^0$C i całkowicie

zachmurzonym niebie. Po około 4 tygodniach od zabiegów (w połowie października) wykonano ocenę skuteczności polegającą na wykopaniu do głębokości 0,5 m i pobraniu z wszystkich pniaków doświadczalnych po 5-10 odcinków korzeni o długości około 1m. Następnie korzenie okorowano i porównano liczby larw szeliniaka sosnowca znajdujących się w 20 cm odcinku korzenia. Po 48 godzinach od pozyskania larw, poddano je sekcji i przy użyciu binokularu (powiększenie × 3-5) określono:

- śmiertelność larw,
- ekstensywność zarażenia (procent zarażonych larw w badanej próbie),
- intensywność zarażenia (liczba nicieni stwierdzona w jednej zarażonej larwie).

Do obliczeń statystycznych w wyżej omówionych pracach używano programów: STATISTICA 8.0 and PQStat 1.4, PQStat Software, wersja 1.6.4 , IBM SPSS Statistics 21, Statistica software (StatSoft®, Inc.).

### 3.3. Omówienie wyników prac wskazanych jako szczególne osiągnięcie naukowe

**Tumialis D., Pezowicz E., Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Maszewska J., Jarmuł - Pietraszczyk J., Kucharska K. 2016. Occurrence of entomopathogenic nematodes in Polish soils. Ciência Rural, 46 (7): 1126-1129.**

**Skład gatunkowy nicieni entomopatogenicznych (EPNs):** Nicienie entomopatogeniczne wyizolowano z 53 prób ze 167 badanych prób glebowych (z 111 lokalizacji), co stanowiło 31.7% wszystkich pobranych prób. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że większość stanowiły nicienie z rodziny *Steinernematidae*, które wyizolowano w 48 próbach (90,6%). Nicienie z rodziny Heterorhabditidae wyizolowano w 4 próbach (7,5%) i w 1 próbie (1,9%) stwierdzono przedstawicieli obu rodzin. W wyniku genetycznej identyfikacji oznaczono gatunki nicieni z 16 prób. W 11 próbach stwierdzono obecność gatunku *S. feltiae,* w 4 próbach *S. kraussei,* w jednej próbie *S. carpocapsae* oraz w 2 stwierdzono obecność gatunku *H. megidis*. W jednej z prób wykazano jednoczesne występowanie trzech gatunków: *S. feltiae*, *S. carpocapsae* oraz *H. megidis*. W pozostałych 37 próbach nicienie zostały określone do poziomu rodzaju.

**Zależność występowania nicieni entomopatogenicznych od sezonu:** W przeprowadzonych badaniach nie wykazano różnic istotnych statystycznie ($p>0,05$) w występowaniu nicieni w zależności od pory roku. Nicienie entomopatogeniczne wyizolowano we wszystkich sezonach: wiosna, lato i jesień. Najwięcej prób glebowych zawierających

nicienie entomopatogeniczne zebrano wiosną – 22 próby (41,5%) i jesienią - 21 prób (39,6%). W sezonie letnim nicienie entomopatogeniczne wyizolowano w 10 próbach (18,9%).

**Zależność występowania nicieni entomopatogenicznych od typu siedliska:** Nicienie entomopatogeniczne wyizolowano we wszystkich 6 badanych typach siedlisk. Analizując zależność występowania nicieni w zależności od typu siedliska stwierdzono istotne statystycznie różnice ($p<0,05$). Nicienie najczęściej występowały w próbach izolowanych z lasów iglastych (20 stwierdzeń), następnie na polach (16 stwierdzeń), a najmniej na łąkach (2 stwierdzenia). Na nieużytkach, łąkach oraz w lasach izolowano jedynie nicienie z rodziny Steinernematidae. Nicienie z rodziny Heterorhabditidae wyizolowano jedynie z prób pobranych na polach (4 próby), z czego w dwóch stwierdzono obecność gatunku *H. megidis*.

**Zależność występowania nicieni entomopatogenicznych od wysokości nad poziomem morza:** Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnić ($p>0,05$) w występowaniu nicieni w zależności od wysokości nad poziomem morza.

**Tumialis D., Gromadka R., Skrzecz I., Pezowicz E., Mazurkiewicz A., Popowska – Nowak E. 2014. *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) (Rhabditida: Steinernematidae) – the first record from Poland. Helminthologia, 51 (2):162 – 166.**

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano nowy dla Polski gatunek - *Steinernema kraussei*, którego występowanie stwierdzono na następujących stanowiskach: Nadleśnictwo Mińsk Mazowiecki (Leśnictwo Dobre) (współrzędne geograficzne: N52° 19' 14,448", E21° 40' 42,1896") - 2 próby; Nadleśnictwo Mińsk Mazowiecki, (Leśnictwo Siennica) współrzędne geograficzne: (N52° 34' 19.4628", E20° 47' 46.6944") - 1 próba; Nadleśnictwo Celestynów (Leśnictwo Torfy) (współrzędne geograficzne: N52° 3' 49.2444", E21° 25' 20,3232") - 1 próba. Badania potwierdziły, że *S. kraussei* jest typowo leśnym gatunkiem (Hominick, 2002), który preferuje drzewostany iglaste. Stanowiska, z których wykazano ten gatunek znajdują się w siedlisku boru świeżego (wg typologii fitosocjologicznej Peucedano-Pinetum i Leucobryo-Pinetum).

Sekwencje DNA 4 izolatów *S. kraussei* zdeponowano w NCBI pod numerami: KC608621, KC608622, KC608623, KC608624. W pracy zamieszczono również dokładną charakterystykę morfometryczną larw inwazyjno - przetrwalnikowych polskich izolatów *S. kraussei*.

**Tumialis D., Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Pezowicz E. 2018. Sensitivity of caterpillars of the pine tree lappet moth *Dendrolimus pini* to native isolates of entomopathogenic nematodes. International Journal of Pest Management**

Porównanie ekstensywności zarażenia gąsienic *D. pini* izolatami *S. feltiae* (K11, K13, ZWO4, ZWO23) wykazało brak różnic statystycznych, niezależnie od zastosowanej dawki i temperatury. W wariantach z zastosowaniem izolatów *S. feltiae* ekstensywność zarażenia owadów wyniosła 86,7-100% i była statystycznie wyższa od ekstensywności zarażenia gąsienic izolatem *H. megidis* (Wipsowo), która wahała się od 20 do 100%. W przypadku tego izolatu nicieni, zastosowanie wyższych dawek larw inwazyjnych EPNs (IJs) istotnie wpłynęło na ekstensywność zarażenia *D. pini.* Nie stwierdzono wpływu temperatury na ekstensywność zarażenia gąsienic izolatami *S. feltiae,* niezależnie od zastosowanej dawki EPNs. Natomiast izolat *H. megidis* miał wyższą ekstensywność zarażania owadów w $17^0$C, niż w $22^0$C, niezależnie od dawki inicjalnej EPNs. Stwierdzono wpływ dawki na intensywność zarażenia, w większości wariantów wykazano istotne statystycznie różnice. Porównanie intensywności zarażania gąsienic w zależności od zastosowanego izolatu nicieni wykazało najniższą wartość dla izolatu *H. megidis* (Wipsowo), niezależnie od zastosowanej dawki EPNs i temperatury. Wyższymi, aczkolwiek zróżnicowanymi wartościami cechowały się izolaty *S. feltiae.* Badania wykazały, że larwy *D. pini* są bardziej wrażliwe na nicienie gatunku *S. feltiae*, niż na *H. megidis*. Przeprowadzone badania wskazują, że przy wyborze najbardziej patogennego izolatu ważnym kryterium jest również intensywność zarażania owadów. Chociaż wszystkie izolaty wykazywały podobną ekstensywność, to różniły się intensywnością zarażenia gąsienic *D. pini.* Jest to kryterium ważne przy wyborze izolatu do aplikacji terenowych, gdyż wysoki potencjał reprodukcyjny nicieni w owadach może skutkować ich dłuższym utrzymywaniem się w środowisku leśnym. Szczególnie istotne znaczenie może to mieć w przypadku ograniczania liczebności gąsienic *D. pini*, które przebywają w ściółce przez kilka miesięcy w roku. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały wysoką skuteczność izolatów *S. feltiae* co pozwala stwierdzić, że zastosowanie preparatów nicieniowych w ochronie upraw leśnych przed barczatka, na dużą skalę, jest jak najbardziej realne.

**Tumialis D., Skrzecz I., Mazurkiewicz A., Pezowicz E., Góral K. 2013. Wrażliwość larw *Hylobius abietis* (L.) na rodzime gatunki i szczepy nicieni entomopatogenicznych. Sylwan, 157 (10): 769-774.**

Nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic (p=0,715) między badanymi izolatami. Ekstensywność dla wszystkich badanych izolatów była wysoka i wahała się od 80 do 86%.W wyniku przeprowadzonych badań określających intensywność zarażenia stwierdzono istotne różnice (p<0,001) między badanymi izolatami. Stwierdzono, że izolat *S. feltiae* Zag15 charakteryzuje się istotnie wyższą średnią intensywnością(p<0,001) w porównaniu do pozostałych iolatów nicieni. W przypadku izolatów *S. kraussei* 400D i *S. feltiae* K11 nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie (p=0,215). Uzyskana w badaniach wysoka ekstensywność zarażenia larw szeliniaka była znacznie wyższa, niż uzyskana przez innych autorów przy zastosowaniu ten samej dawki nicieni.

**Skrzecz I., Tumialis D., Pezowicz E., Sowińska A. 2012. Evaluation of biological activity of biopreparations containing nematodes from the genera Steinernema and Heterorhabditis used for reducing large pine weevil *Hylobius abietis* L. population in pine *Pinus sylvestris* L. stumps. Folia Forestalia Polonica. Seria A, 54 (3): 196-201.**

Nicienie ze wszystkich przebadanych preparatów zarażały larwy *H. abietis*. Ekstensywność zarażenia larw traktowanych różnymi preparatami na bazie nicieni wynosiła od 5,9% do około 45%. Najwyższą ekstensywność zarażenia (44,2%) stwierdzono w larwach wyizolowanych z korzeni pniaków, które traktowano nicieniami *S. carpocapsae* (Capsanem) i *H. downesi* (42,5%) Znacznie niższą ekstensywność zarażenia (>15%) zanotowano w przypadku larw rozwijających się w pniakach traktowanych *S. feltiae*, *H. bacteriophora* (Nemasys H) oraz *H. megidis* (Nemasys G). Najwyższą intensywność zarażenia stwierdzono w larwach szeliniaka sosnowca zarażonych przez *H. bacteriophora* (8,4). W pozostałych przypadkach stwierdzono niską intensywność zarażenia (2-4). Uzyskane wyniki są zbliżone do podawanych z innych krajów Europy przy zastosowaniu preparatów na bazie tych samych gatunków nicieni (Irlandia, 60%; Szwecja 50 - 60%, Wielka Brytania 20%).

### 3.4. Podsumowanie

W wyniku przeprowadzonych badań po raz pierwszy w Polsce podano listę gatunków nicieni entomopatogenicznych zweryfikowaną metodami genetycznymi. Do tej pory gatunki podawane z Polski były oznaczane tylko morfologicznie i morfometrycznie. Nie jest to do końca pewna metoda, bowiem cechy te są zmienne środowiskowo i często zachodzą na siebie. Na podstawie analiz genetycznych dotyczących wyizolowanych nicieni wykazano nowy dla

Polski gatunek - *Steinernema kraussei*. Wykazano również, że w Polsce najczęściej występującym gatunkiem jest *S. feltiae* i jest to gatunek, który związany jest z terenami lasów iglastych. Uzasadnia to wykorzystanie izolatów tego gatunku do biologicznego zwalczania szkodników w uprawach leśnych. Wyniki badań wykazały wysoką skuteczność rodzimych izolatów w zwalczaniu szeliniaka i barczatki. W przypadku szeliniaka, rodzime izolaty wykazały wyższą ekstensywność zarażania niż podawana dotychczas w literaturze. W przypadku badań nad wrażliwością barczatki na nicienie należy podkreślić, że były to pierwsze tego typu badania na świecie. Wykazano różnice w intensywności zarażenia, w zależności od izolatu. W związku z tym intensywność zarażenia, powinna być jednym z kryteriów branym pod uwagę przy wyborze izolatów do aplikacji terenowych. Ma to duże znaczenia w praktyce stosowania, bowiem wysoki potencjał reprodukcyjny nicieni w owadach może skutkować ich dłuższym utrzymywaniem się w środowisku leśnym. Dzięki uzyskanym wynikom badań, można zaproponować zastosowanie rodzimych izolatów w ochronie upraw leśnych, na dużą skalę.

**Piśmiennictwo:**


1. Adams B.J., Nguyen K.B. 2002. Taxonomy and systematic. In: Gaugler R. (Ed) Entomopathogenic Nematology. Wallingford, UK, CABI Publishing, pp.1–33.

2. Adams B.J., Fodor A., Koppenhöfer H.S., Stackebrandt E., S. Stock P.,. Klein M.G. 2006. Biodiversity and systematics of nematode–bacterium entomopathogens. Biol Control, 37: 32 - 49.

3. Arthurs S., Heinz K.M., Prasifka J.R. 2004. An analysis of using entomopathogenic nematodes against above-ground pests. Bull Entomol Res, 94(4): 297-306.

4. Bedding R.A., Akhurst R.J. 1975. A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. Nematologica, 21: 109 – 110.

5. Bednarek A. 1990. Ekologiczne uwarunkowania aktywności biologicznej nicieni entomofilnych w środowisku glebowym agrocenoz. 108f. Rozprawy Naukowe i Monografie. Wydawnictwo SGGW-AR.

6. Björkman C., Lindelöw Å., Eklund K., Kyrk S., Klapwijk M.J., Fedderwitz F., Nordlander G. 2013. A rare event – an isolated outbreak of the pine-tree lappet moth (*Dendrolimus pini*) in the Stockholm archipelago. Entomologisk Tidskrift, 134(1–2):1–9.

7. Brixey J.M., Moore R., Milner A. 2006. Effect of entomopathogenic nematode (*Steinernema carpocapsae* Weiser) application technique on the efficacy and distribution of

infection of the large pine weevil (*Hylobius abietis* L.) in stumps of Sitka spruce (*Picea sitchensis* Carr.) created at different times. Forest Ecol Manag, 226: 161– 172.

8. 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. Biocontrol Sci Techn, 9: 125-149.

9. Dillon A.B., Ward D., Downes M.J., Griffin Ch.T. 2006. Suppression of the large pine weevil *Hylobius abietis* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in pine stumps by entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. Biol Control, 38: 217– 226.

10. Dillon A.B., Downes M.J., Ward D., Griffin Ch.T. 2007. Optimizing application of entomopathogenic nematodes to manage large pine weevil, *Hylobius abietis* L. (Coleoptera: Curculionidae) populations developing in pine stumps, *Pinus silvestris*. Biol Control, 40 (2): 253– 263.

11. Dillon A.B, Moore C.P., Downes M.J., Griffin C.T. 2008. Evict or infect? Managing populations of the large pine weevil, *Hylobius abietis*, using a bottom– up and top–down approach. Forest Ecol Manag, 255: 2634– 2642.

12. Dzięgielewska M.; Kiepas -Kokot A.2004. Występowanie nicieni owadobójczych w glebach na terenach przemysłowych. Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych, 501: 95-101.

13. Dzięgielewska M. 2012. Występowanie nicieni owadobójczych z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae w sadach chronionych i niechronionych chemicznie. Progr. Plant Protect, 52(.2): 415-420, 2012.

14. Ehlers R.U., Nieman I., Hollmer S., Strauch J., Jende D., Shanmugasundaram M., Mehta U.K., Easwaramoorthy S.K., Burnell A. 2000. Mass Production Potential of the Bacto-Helminthic Biocontrol Complex *Heterorhabditis indica* - *Photorhabdus luminescens*. Biocontrol Sci Techn, 10 (5): 607 - 616.

15. Gaugler R., Kaya H.K. 1990. Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press, Boca Raton, FL, 93 - 116.

16. Gedminas A., Lynikienė J., Marèiulynas A., Povilaitienė A. 2015. Effect of *Physokermes piceae* Schrank. on Shoot and Needle Growth in Norway Spruce stands in Lithuania. Baltic For, 21(1): 162–169.

17. Griffin Ch.T., Dix I., Joyce S.A., Burnell A., Downes M.J. 1999. Isolation and characterisation of *Heterorhabditis* spp. (Nematoda: Heterorhabditidae) from Hungary, Estonia and Denmark. Nematology, 1(3): 321 –332.

18. Gräber J., Ziesche T., Möller K., Kätzel R. 2012. Gradationsverlauf der Kiefernschadinsekten im Norddeutschen Tiefland. AFZ-Der Wald., 9:35–38.

19. Hominick W.M., Reid A.P., Bohan D.A., Briscoe B.R. 1996. Entomopathogenic Nematodes: Biodiversity, Geographical Distribution and the Convention on Biological Diversity. Biocontrol Sci Techn, 6: 317-3.

20. HominicK W.M. 2002. Biogeography. In: Gaugler R. (Ed.). Entomopathogenic nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing, 115-143.

21. Khatri –Chhetri H.B., Waeyenberge L., Manandhar H.K., Moens M. 2010. Natural occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) in Nepal. J Invertebr Pathol, 103: 74 –78.

22. Kolk A, Kapuscinski R. 2004. Instruction of Forest Protection (in Polish).Warsaw, Poland: Information Centre of State Forests.

23. Koppenhöfer A.M., Fuzy E.M. 2006. Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. J Invertebr Pathol, 92: 11-22.

24. Kreft A., Skrzypek H., Kazimierczak W., Lech-Pituch E., Skrabucha A. 2011. Efektywność porażania larw chrabąszcza majowego (*Melolontha melolontha* L.) przez entomopatogeniczne nicienie. Progr. Plant Protect, 51(2): 771-775.

25. Lakatos T., Tóth T. 2006. Biological control of European cockchafer larvae (*Melolontha meloontha* L.) – preliminary results. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 14: 73-79.

26. Levieux J., Piou D., 1994. Association of Phytopathogenic Fungi for the Scots pine *Pinus sylvestris* (L.) with the European pine weevil *Hylobius abietis* (L.) (Col. Curculionidae). Can Entomol, 126: 929-936.

27. Mráček Z. i Bečvář S. 2000. Insect aggregations and entomopathogenic occurrence. Nematology, 2(3): 297-301.

28. 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.

29. Nuorteva M., Laine L., 1972. Viable diaspores of *Fomes annosum* in the feaces of the *Hylobius abietis*. Ann. Ent. Fennici, 38 (3): 119-121.

30. Poinar G.O. 199. Biology and taxonomy of Steinernematidae and Heterorhabditidae. In: Gaugler R., Kaya H. K. (Eds) Entomopathogenic Nematodes in Biological Control. CRC Press Boca Raton, FL, pp. 23 – 58.

31. Ray D., Peace A., Moore R., Petr M., Grieve Y., Convery C., Ziesche T. 2016. Improved prediction of the climatedriven outbreaks of *Dendrolimus pini* in *Pinus sylvestris* forests. Forestry, 89(2):230–244.
32. Rolston A.N., Griffin Ch.T., Downes M.J. 2005. Distribution of entomopathogenic nematodes in an Irish sand dune system. Nematology, 7(2): 256-266.
33. Sierpińska A. 1998. Towards an integrated management of *Dendrolimus pini* L. USDA General Technical Report NE-247,:129–142.
34. Staden R. 1996. The Staden Sequence Analysis Package. Molecular Biotechnology, 5: 233 – 241.
35. Stuart R.J., Barbercheck M.E., Grewal P.S., Taylor R.A.J., Hoy C.W. 2006. Population biology of entomopathogenic nematodes: Concepts, issues, and models. Biol Control, 38: 80 –102.
36. Sturhan D.; Liskova M. 1999. Occurrence and distribution of entomopathogenic nematodes in the Slovak Republic. Nematology, 1(3): 273-277.
37. Tóth T. 2006. Collection of entomopathogenic nematodes for the biological control of insect
pests. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 14: 225–230.
38. Vrain T.C., Wakarchuk D.A., Levesque A.C., Hamilton R.I. 1992. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphisms in the *Xiphinema americanum* group. Fundamental and Applied Nematology, 15: 563 – 574.
39. White G.F. 1929. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. Science, 66: 302 – 303.

## 4. Opis pozostałych osiągnięć w zakresie prowadzonych badań

### 4.1. Optymalizacja hodowli nicieni Heterorhabditis w warunkach hodowli *in vitro* i *in vivo*

Płynne hodowle nicieni *in vitro* w fermentorach, choć prowadzone są od wielu lat, stwarzają jednak pewne problemy. Chociaż nicienie z rodziny Steinernematidae i Heterorhabditidae są podobne do siebie pod względem odporności na warunki płynnego środowiska hodowli (głównie w zakresie napowietrzania) to jednak w hodowli należy zwrócić uwagę na inne aspekty co wynika z różnic w ich biologii rozrodu. Amfimiktyczne pokolenia nicieni z rodziny Steinernematidae są zdolne do kopulacji w płynnych podłożach. W

przypadku nicieni z rodziny Heterorhabditidae maksymalizacja efektu kopulacji w płynnych podłożach tych gatunków nie jest możliwa, bowiem I generacja jest hermafrodytyczna i chociaż następna generacja (II) jest amfimiktyczna to samce i samice nie są zdolne do kopulacji w płynnych podłożach (Strauch i in., 1994). Zatem optymalizacja warunków hodowli w przypadku tych gatunków musi koncentrować się na liczbie larw z I generacji (hermafrodytycznej). Maksymalizacja liczby osobników hermafrodytycznych w płynnej hodowli nierozerwalnie łączy się z liczbą larw inwazyjno – przetrwalnikowych przechodzących w dalszy rozwój (z ang. *recovery*) (Jessen i in., 2000). Procent tych larw w warunkach *in vivo* utrzymuje się na poziomie bliskim 100%, natomiast w płynnych podłożach zjawisko wyjścia ze stadium inawzyjnego larw jest niestabilne i waha się od 0 do 86% (Strauch i Ehlers 1998; Ehlers i in., 2000; Jessen i in., 2000; Strauch i Ehlers, 2000; Yoo i in., 2000). Często w prowadzonych doświadczeniach stwierdzane są różnice w liczbie larw inicjujących dalszy rozwój, nawet wtedy gdy zastosowane zostaną te same parametry hodowli. Wynika z tego, że konieczne jest prowadzenie badań dotyczących fizjologicznych aspektów nicieni, bakterii i relacji bakteria – nicień jak również interakcji pomiędzy nimi oraz zdolności rozmnażania tych osobników w warunkach stresu, które panują w fermentorach. Nie poznany dla płynnych hodowli „*food signal*" może odgrywać kluczową role w procesie inicjowania dalszego rozwoju przez larwy inwazyjne w płynnych środowiskach. Stwierdzono, że bakterie dodawane do płynnego podłoża fermentorów wytwarzają sygnał, który kontroluje rozwój nicieni i stymuluje inicjowanie dalszego rozwoju przez larwy infekcyjne nicieni w sztucznych środowiskach (Strauch i Ehlers, 1998). Ponadto istotny wpływ na ten proces mogą mieć również: wzrost parametrów napowietrzania (Strauch i Ehlers, 2000), zawartość $CO_2$ w płynnym środowisku (Jessen i in., 2000), jak również zawartość komponentów podłoża. W przypadku nicieni z rodzaju *Heterorhabditis* czas, w którym larwy infekcyjne rozpoczynają dalszy rozwój jest skorelowany z czasem i liczbą osobników hermafrodytycznych I generacji. Proces ten w płynnych hodowlach nadal jest wysoce zmienny, dlatego trudne jest uzyskanie określonej liczby osobników poprzez wprowadzenie określonej liczby IJs do płynnej hodowli (Ehlers, 2001). Jednym z istotnych czynników wpływających na liczbę końcową nicieni z rodzaju *Heterorhabditis* i *Steinernema* w płynnych hodowlach jest niekontrolowana zmiana faz bakterii *Photorhabdus* sp. i *Xenorhabdus* sp. Pojawienie się fazy wtórnej w hodowli obniża liczbę końcową nicieni (Ehlers i in., 1990). Krasomil-Osterfeld (1995) stwierdzili, że faza wtórna może być wzbudzana w trakcie inkubowania bakterii fazy pierwotnej w warunkach stresu, który spowodowany jest przez: niskie ciśnienie osmotyczne płynnego podłoża hodowli, napowietrzanie (zawartość $O_2$), nagromadzenia metabolitów w zależności

od wielkości dawki inicjalnej IJs. Kiedy bakterie są inkubowane w standardowych warunkach, zawsze powracają do fazy pierwotnej. Przedłużenie czasu inkubowania bakterii w warunkach stresu powoduje, że bakterie nie wracają z fazy wtórnej w fazę pierwotną. Wysoka zawartość $O_2$ jest istotna dla początkowego wzrostu pre-inkubowanych bakterii *Photorhabdus* sp. i *Xenorhabdus* sp., jak również pierwszego okresu, w którym następuje połączenie namnożonej hodowli *Photorhabdus* sp. i *Xenorhabdus* sp. z hodowlami monoksenicznymi nicieni. Stwierdzono równocześnie, że wysoka zawartość $O_2$ utrzymująca się przez zbyt długi okres w płynnej hodowli powoduje zmniejszenie procentu larw infekcyjnych przechodzących w dalszy rozwój (Friedman, 1989; Strauch i Ehlers, 2000).

Wobec powyższych problemów podjęte zostały badania nad optymalizacją *in vivo* i *in vitro* gatunku *H. megidis*. Celem pierwszego etapu badań było ustalenie optymalnych parametrów tj. temperatura, dawka inicjalna larw inwazyjno - przetrwalnikowych i napowietrzanie w płynnej hodowli nicieni *H. megidis*. Optymalizacja tych parametrów może przyczynić sie do stabilizacji procesu, przyśpieszenia cyklu rozwojowego nicieni w warunkach *in vitro* (czas i procent larw inwazyjnych przechodzących w kolejne stadia rozwojowe) i tym samym do zwiększenia wydajności końcowej larw IJs uzyskanych z takich hodowli. W badaniach (**D.2., D.3., D.5.**) wykorzystano hodowle monokseniczne nicieni *H. megidis* (szczep KV-136) oraz 24 - godzinną hodowlę bakterii *Photorhabdus luminescens* (Thomas i Poinar, 1979), inkubowaną w ciemności w temperaturze $25^0$C w 250 ml podłoża YSE. Hodowle nicieni prowadzone były w kolbach stożkowych w płynnym podłożu. W przeprowadzonych badaniach stosowano różne zmienne parametry: temperatura ($20^0$C, $25^0$C - **D.5.**, $25^0$C - **D.2., D.3.,**); napowietrzanie (121 rpm, 160 rpm, 200 rpm - **D.5.**, **D.2.**, 160 rpm, 200 rpm - **D.3.**), dawka inicjalna IJs - 1370 IJs/ml, 2050 IJs/ml, 2561 IJs/ml, 4366 IJs/ml; 2766IJs/ml; 2060 IJs/ml, 2561 IJs/ml, 4366 IJs/ml, 4800IJs/ml). W badanych hodowlach (prowadzonych przez 26 dni) oceniano dynamikę populacji nicieni *H .megidis* określając stadia rozwojowe i ich liczebność (3, 5, 8, 10, 13, 15, 18, 21, 24, 26 dniu), jak również wydajność końcową larw IJs. Na podstawie uzyskanych danych obliczano: procent larw infekcyjnych inicjujących dalszy rozwój i wydajność końcową. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że parametrem wpływającym na przyśpieszenie cyklu rozwojowego jest napowietrzenie. Przy napowietrzaniu 160 rpm pojawienie się osobników I pokolenia (hermafrodytycznych) zaobserwowano w 3 dniu hodowli (dla napowietrzania 121 rpm odnotowano pojawienie się osobników hermafrodytycznych w 5 dniu hodowli). W hodowlach o napowietrzaniu 200 rpm podobnie zaobserwowano pojawienie się osobników hermafrodytycznych w 3 dniu, jednak analiza wydajności końcowej wykazała, że wydajność końcowa jest dwukrotnie wyższa

(58,90 X $10^{-6}$ IJs/ml) dla hodowli o parametrze napowietrzania 160 rpm. Badania wykazały, że napowietrzanie 160 rpm i 200 rpm, przyśpieszają cykl rozwojowy o 2 dni, a optymalną wartością napowietrzania jest 160 rpm (**D.3.**). W badaniach, które analizowały cały przebieg cyklu rozwojowego wykazano, że przy napowietrzaniu 160 rpm zarówno osobniki hermafrodytyczne jak i pokolenie amfimiktyczne I i II generacji pojawiają się o 2 - 3 dni wcześniej niż w przypadku hodowli o napowietrzaniu 121 rpm. W tych samych badaniach stwierdzono również, że zastosowanie niższej dawki IJs zwiększa wydajność końcową (**D.2.**). W kolejnych badaniach (**D.5.**) wykazano, że zastosowanie najniższej dawki (1370IJs) spowodowało, że większa liczba larw inwazyjnych przechodzi w kolejne stadia rozwojowe i podobnie jak we wcześniejszych badaniach wykazano, że na wydajność końcową wpływa napowietrzanie. Stwierdzono również korelację pomiędzy *recovery*, a wydajnością końcową. Przeprowadzone badania pozwoliły ustalić optymalne parametry hodowli: dawka 1370 IJs/ml, temperatura $25^0$C, napowietrzanie 160 rpm (**D.5.**).

Kolejne badania nad optymalizacją płynnych hodowli koncentrowały się na zbadaniu korelacji rozwoju nicieni *H. megidis* i bakterii mutualistycznych *P. luminescens* w warunkach hodowli *in vitro*. Badania koncentrowały sie na określeniu dynamiki populacji nicieni *H. megidis* w płynnym hodowlach, w których zastosowano rożne parametry napowietrzania (160 rpm, 200 rpm), stałą dawkę inicjalną larw inwazyjnych nicieni i liczbę kolonii bakterii wprowadzonych do hodowli. Badania wykazały, że napowietrzanie 200 rpm korzystnie wpłynęło na liczbę kolonii *P. luminescens*. Najwyższa gęstość bakterii przy napowietrzaniu 200 rpm osiągnięta została w 5 dniu hodowli i w tym samym dniu uzyskano tez maksymalny wzrost liczby osobników hermafrodytycznych. Podobny wynik zależności pomiędzy bakteriami a dynamiką populacji stwierdzono w innych badaniach, gdzie zastosowano napowietrzanie 121 rpm. (**D.4.**)

Ważnym elementem umożliwiającym poznanie procesów zachodzących w płynnych hodowlach *in vitro* jest analiza tych procesów w warunkach *in vivo*. W związku z tym przeprowadzono również badania, których celem było określenie jak różne dawki początkowe larw inwazyjnych nicieni *H. megidis* wpływają na przechodzenie larw inwazyjnych w kolejne stadia rozwojowe i na wydajność końcową i procentową w larwach barciaka większego (*G. mellonella* ). W badaniach wykorzystano: szczep nicieni *H. megidis* (IsM15/09) oraz larwy *G. mellonella*. Do określenia kolejnych stadiów rozwojowych nicieni i wydajności końcowej nicieni zastosowano 4 dawki inicjalne nicieni: 1Ijs, 50 IJs, 200 IJs, 1000IJs. W badaniach nie stwierdzono wpływu dawki początkowej na przechodzenie larw inwazyjnych w kolejne stadia rozwojowe. W badaniach nie stwierdzono istotnych różnić w wydajności końcowej larw w

zależności od zastosowanej dawki inicjalnej. Jednakże, najwyższą liczbę larw inwazyjnych uzyskano po zastosowaniu dawki 1000IJs (>60 000). Stwierdzono natomiast wpływ dawki inicjalnej na procentową wydajność końcową. Najwyższą wydajność uzyskano przy zastosowaniu dawki 50 IJs (**A.1.**).

Zoptymalizowanie badanych parametrów jest gwarancją uzyskania efektywnej hodowli pozwalającej na pozyskiwanie dużej ilości larw inwazyjnych charakteryzujących się dobrymi cechami parazytologicznymi jak i wysoka odpornością na warunki przechowywania.

**Publikacje wg Wykazu osiągnięć naukowo-badawczych, Zał. IV: A.1., D.2., D.3., D.4., D.5.**

**Piśmiennictwo:**


1. Ehlers R. U., Stoessel S., Wyss U. 1990. The influence of the phase variants of *Xenorhabdus* spp. and *Escherichia coli* (Enterobacteriaceae) on the propagation of entomopathogenic nematodes of the genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*. Revue de Nematologie,13: 417 – 424.

2. Ehlers R.-U., Niemann I., Hollmer S., Strauch O., Jende D., Shanmugasundarum M., Mehta U. K., Easwaramoortht S. K., Burnell A. 2000. Mass Production Potential of the Bacto-Helminthic Biocontrol Complex *Heterorhabditis indica* - *Photorhabdus luminescens*. Biocontrol Sci Techn, 10: 607 - 616.

3. Ehlers R. U. 2001. Mass production of entomopathogenic nematodes for plant protection. Appl Microbiol Biot, 56: 623 – 633.

4. Friedman MJ, Langston SL, Pollit S. 1989. Mass production in liquid culture of insect-killing nematodes. International Patent WO89/04602.

5. Jessen P., Strauch O., Wyss U., Luttman R., Ehlers R. U. 2000. Carbon dioxide triggers dauer juvenile recovery of entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis* spp.). Nematology, 2: 310 – 324.

6. Krasomil-Osterfeld K.C. 1995. Influence of osmolarity on phase shift in *Photorhabdus luminescens*. Appl Environ Microb, 61: 3748-3749.

7. Strauch O, Stoessel S., Ehlers R. U. 1994. Culture conditions define automictic or amphimictic reproduction in entomopathogenic Rhabditid nematodes of the genus Heterorhabditis. Fund App Nematol,17: 575 – 582.

8. Strauch O., Ehlers R. U. 1998. Food signal production of *Photorhabdus luminescens* inducing the recovery of entomopathogenic nematodes Heterorhabditis spp. in liquid culture. Applied Microbiology and Biotechnology, 50: 369 – 374.

9. Strauch O., Ehlers R. U. 2000. Influence of the areation rate on the yields of the biocontrol nematode *Heterorhabditis megidis* in monoxenic liquid culture. Appl Microbiol Biot, 54: 9 – 13.
10. Yoo S. K., Brown I., Gaugler R., 2000. Liquid media development for *Heterorhabditis bacteriophora*; lipid source and concetration. Appl Microbiol Biot, 54: 759 – 763.

## 4.2. Potencjał nicieni entomopatogenicznych do biologicznego zwalczania szkodliwych owadów w uprawach rolnych, w sadownictwie i brojlerniach

W ramach tego tematu prowadzono badania, których celem było wytypowanie najbardziej skutecznych rodzimych izolatów nicieni jak również komercyjnych preparatów na bazie nicieni do zwalczania różnych owadów o znaczeniu gospodarczym.
Podjęto badania dotyczące możliwości zwalczania larw motyli z rodzaju bielinek *Pieris* sp. (Lepidoptera: Pieridae), które mogą w znaczący sposób obniżać plony i zmniejszać wartość handlową roślin z rodziny kapustowatych (Brassicaceae) (**A.6.**). Podobnie jak inne szkodniki upraw roślin kapustowatych są one powszechnie zwalczane za pomocą insektycydów chemicznych. W Polsce szkody gospodarcze powodują głównie larwy II pokolenia bielinka kapustnika (*Pieris brassicae* L.*)* i bielinka rzepnika (*Pieris rapae* L.*)* (Boczek i Lewandowski, 2016; Kochman i Węgorek, 1997). Celem badań było określenie skuteczności dwóch rodzimych szczepów EPNs *S. feltiae* (ZAG 15 oraz K 11) do zwalczania larw trzech gatunków bielinka (*Pieris* sp.) (*P. rapae, Pieris napi* L., *P. brassicae*). Ocenę wrażliwości larw *Pieris* sp. na zarażenie tymi szczepami określono na podstawie ekstensywności i intensywności zarażenia. Badania wykazały, że oba szczepy *S. feltiae*, ZAG 15 i *S. feltiae* K 11 charakteryzowały się wysoką patogenicznością dla wszystkich trzech gatunków motyli. Najbardziej wrażliwym gatunkiem okazała sie *P. brassicae*, co jest o tyle istotne, że jest to gatunek o największym stopniu szkodliwości spośród wszystkich bielinków.
Kolejne badania dotyczyły oceny wrażliwości larw *Agrotis exclamationis* L. na 8 rodzimych szczepów reprezentujących 2 gatunki: *S. feltiae* i *H. megidis* w warunkach laboratoryjnych (**A.5.**). Rolnice (Noctuinae) pomimo dość dobrze poznanej biologii, ciągle stanowią duże wyzwanie dla skutecznego ich zwalczania w uprawach warzyw. Najgroźniejszymi gatunkami dla upraw roślin korzeniowych są rolnica zbożówka (*Agrotis segetum* Den i Schiffermüller, 1775) i rolnica czopówka (*A. exclamationis*). Ze względu na ukryty tryb życia tych szkodników i rozciągnięty w czasie okres składania jaj i wylęgu młodych larw, są one trudne do zwalczania, a proponowane metody chemiczne, nie zawsze przynoszą spodziewane efekty

(Kowalska i Jakubowska 2006). W testach laboratoryjnych użyto gąsienice rolnicy czopówki (*A. exclamationis*), w różnych stadiach rozwojowych od stadium $L_4$ do $L_6$ i wykorzystano 8 szczepów EPNs reprezentujących 2 gatunki *S. feltiae* i *H. megidis* (*S. feltiae* ZAG11, *S. feltiae* K13, *S. feltiae* K10, *S. feltiae* ZWO21, *H. megidis* Wipsowo, *S. feltiae* ZAG15, *S. feltiae* ZWO4, *S. feltiae* ZWO23. W badaniach uzyskano wyższą skuteczność izolatów Steinernematidae, nad izolatem *H. megidis*. Najwyższe wartości w ekstensywności uzyskano dla izolatów *S. feltiae* ZWO 21 i K 13, gdzie ekstensywność wynosiła odpowiednio, 100 % i 92,6%. W badaniach wykazano istotne różnice w ekstensywności pomiędzy badanymi izolatami, przy zastosowaniu 2 temperatur ($17^0$C, $21^0$C). Najbardziej patogenicznymi izolatami w obu badanych temperaturach były izolaty: *S. feltaie* ZWO 21 oraz *S. feltiae* K 13. W pracy zbadano również wpływ dawki (30 IJs, 50 IJs) na ekstensywność i intensywność zarażenia i stwierdzono różnice istotne statystycznie dla wszystkich badanych izolatów. Wyższa dawka (50 IJs) spowodowała większą ekstensywność zarażenia. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że w próbach zwalczania *A. exclamationis* znaczenie mają zarówno wybór szczepu, jak i dawka nicieni zastosowana w odpowiedniej temperaturze.

Kolejnym gatunkiem nad którym podjęto badania była skrzypionka zbożowa (*Oulema melanopus* (L.)) **(A.7.)**. Gatunek ten jest w wielu krajach, jak również w Polsce, najważniejszym szkodnikiem pszenicy (Karic, 2003). W Europie skrzypionka zbożówka, oprócz pszenicy ozimej i jarej, atakuje również uprawy jęczmienia, owsa i pszenżyta, w których też powoduje duże szkody (Dimitrijević i in., 1999; Meindl i in., 200; Ulrich i in., 2004; Malschi, 2009). Największe szkody powodują larwy skrzypionek, pojawiające się od początku do końca strzelania w źdźbło i żerujące aż do końca dojrzałości mlecznej zbóż. Straty powodowane inwazją skrzypionek mogą być wysokie i wynoszą do 30-40% plonu głównego. Dorosłe chrząszcze żerują krótko (żer uzupełniający) i nie powodują dużych uszkodzeń roślin, natomiast mogą być wektorami wirusów (Trzmiel i in., 2015). Badania dotyczyły wrażliwości zarówno larw jak i chrząszczy na rodzime izolaty nicieni. W doświadczeniu wykorzystano 5 rodzimych izolatów EPNs reprezentujących gatunki *S. feltiae* (ZWO 23, ZAG 15, K 13, ZWO 4*)* i *H. megidis* (Wipsowo). Stwierdzono stosunkowo wysoką wrażliwość zarówno owadów dorosłych jak i larw *O. melanopus* na rodzime izolaty nicieni entomopatogenicznych. Spośród przebadanych izolatów najbardziej skutecznym okazał się izolat *S. feltiae* ZAG15, który powodował 100% ekstensywność zarażenia, w przypadku zarówno larw jak i owadów dorosłych. Wrażliwość larw okazała się znacznie większa niż dorosłych. Już po 48 godzinach ekstensywność dla wszystkich izolatów, z wyjątkiem *H. megidis* Wipsowo, wahała się od 79,3% do100%. Przeprowadzone testy laboratoryjne

wskazały, że rodzime izolaty EPNs są obiecującym czynnikiem w biologicznym zwalczaniu tego szkodnika w uprawach. Prowadzono również badania nad określeniem wrażliwości misecznika tarninowego *Sphaerolecanium prunastri* (Boyer de Fonscolombe, 1834) (*Coccinea*) na nicienie Steinernematidae i Heterorhabditidae, w warunkach laboratoryjnych (**D.8.**). Czerwce (*Coccinea*) w skali światowej zajmują pierwsze miejsce jako szkodniki drzew owocowych, ozdobnych, leśnych i innych. Powodowane przez nie szkody polegają na wysysaniu asymilatów i wywoływaniu u roślin patologicznych zmian histologicznych (Boczek, 1996). Czerwce zwalczane są głównie za pomocą chemicznych insektycydów Boczek, 2001). W warunkach laboratoryjnych zbadano wpływ nicieni Heterorhabditidae i Steinernematidae na misecznika tarninowego. Owady, wraz z fragmentami gałązek, pobrano z drzew śliwy. Do doświadczeń użyto larwy inwazyjne 5 gatunków nicieni: *H. megidis*, *H. bacteriophora*, *S. affinis*, *S. feltiae*, *S. carpocapsae*. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że najbardziej skutecznym gatunkiem do zwalczania S. *prunastri* okazał sie *H. megidis,* który spowodował 53% śmiertelność owadów. Stwierdzono również, że nicienie Steinernematidae nie wykazują zdolności penetracji do ciała miseczników. Kolejne badania dotyczyły możliwości zastosowania nicieni do zwalczania pleśniakowca lśniącego *Alphitobius diaperinus* (Panzer, 1797) (Tenebrionidae) w brojlerniach (**D.13.**). Chrząszcz ten jest gatunkiem o szerokim zasięgu występowania i notowany jest w Europie, Azji Północnej i Południowej Ameryce, Australii i Afryce. Owad ten w warunkach naturalnych występuje na korze drzew (Burakowski, 2000). Występuje także w magazynach i przechowalniach, gdzie żeruje na kaszach i ziarnach zbóż (Lorenzo, 1990). Jest też owadem, który licznie występuje w fermach kur, w kurnikach gdzie znajduje optymalne warunki rozwoju i wzrostu (Rueda i Axtell, 1997). *A. diaperimus* jest wektorem wielu czynników chorobotwórczych, takich jak grzyby (*Aspergillus* sp., *Fusarium roseum*), wirusów wywołujących u drobiu chorobę Mareka, Gumboro, ptasią grypę, bakterii wywołujących zapalenie jelit (głównie z rodzaju *Escherichia*, *Salmonella*, *Bacillus*, *Streptococcus*), pierwotniaków (*Eimeria* sp.) i larw tasiemców (*Raillietina* sp., *Choanotaenia* sp.) (De la Casas i in., 1976; Leffer i in., 2010). Ponadto owady, podczas ich migracji i przepoczwarczenia, przynoszą znaczne straty gospodarcze niszcząc izolacje poliuretanowe kurników (Despins 1991, Steelman 1996). Zwalczanie pleśniakowca lśniącego insektycydami nie przynosi oczekiwanych wyników, ponadto owady bardzo szybko uodporniają się na stosowane insektycydy. W badania nad próbą biologicznego zwalczania tego owada, w brojlerniach, zastosowano nicienie należące do gatunku *S. feltiae* pochodzące z preparatów Ovinema i Nemaplus, oraz izolaty *S.affinis*, *S. carpocapsae* i *H. bacteriophora.* W wyniku badań stwierdzono, że *S. feltiae* pochodzący z

preparatu Owinema okazał się najbardziej skuteczny na chrząszcze *A. diaperimus*. Zbadano przeżywalność stadiów rozwojowych owadów w cyklu produkcyjnym hodowli kurcząt. Stwierdzono, że wraz ze wzrostem stężenia amoniaku pochodzącego z odchodów kurcząt maleje inwazyjność nicieni entomopatogenicznych. Nicienie żyły tylko do trzeciego tygodnia cyklu produkcyjnego kurcząt. Najbardziej skutecznym gatunkiem w stosunku do larw i imago pleśniakowca okazał się *S. feltiae* z biopreparatu Ovinema.

**Publikacje wg Wykazu osiągnięć naukowo-badawczych, Zał. IV: A.5., A.6., A.7., D.8., D.13**

**Piśmiennictwo:**


1. Boczek J. 1996. Diagnostyka szkodników roślin i ich wrogów naturalnych, t. 2, SGGW, Warszawa.
2. Boczek J. 2001. Nauka o szkodnikach roślin uprawnych. Wyd. SGGW, Warszawa.
3. Boczek J., Lewandowski M. 2016. Nauka o szkodnikach roślin uprawnych (Study on crop pests). University of Life Sciences (SGGW), Warsaw.
4. Burakowski B., Mroczkowski M., Stefańska J. 2000. Katalog Fauny Polski. Cześć XXIII, tom 2. Chrząszcze Coleoptera. Uzupełnienia tomów 2-21. PWN, Warszawa, 252 pp.
5. Leffer A.M., Kuttel J., Martins L.M, Pedrosco A.C., Astolfi-Ferreira C.S, Ferreira F., Ferreira A.J., 2010. Vectorial competence of larvae and adults of *Alphitobius diaperinus* in the transmission of *Salmonella enteritidis* in chickens. Vector-Borne Zoonot, 10. 481–487.
6. De La Casas E., Harein P.K., Deshmukh D.R., Pomeroy B.S., 1976. Relationship between the lesser mealworm, fowl pox, and Newcastle disease virus in poultry. J Econ Entomol, 69: 775–779.
7. Despins J.L., Turner E.C., Pfeiffer D.G., 1991. Evaluation of methods to protect poultry house insulation from infestation by lesser mealworm (Coleoptera: Tenebrionidae). J Agr Entomol, 8, 209–217.
8. Dimitrijević B., Jelić M., Lomović S. 1999. The effect of mineral nutrition on thedamage degree of spring wheat by *Lema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Acta entomologica Serbica, 4: 49–55.
9. Karić N. 2003. Effects of temperature on the development of *Oulema melanopus* L. (Coleoptera: Chrysomelidae). Works of the Faculty of Agriculture University of Sarajevo 48: 57–68.

10. Kochman J., Węgorek W. (eds) 1997. Ochrona Roślin (Plant protection). Plantpress, Cracow
11. Kowalska J., Jakubowska M. 2006. Ocena wrażliwości Agrotis exclamationis L. na wybrane gatunki nicieni entomopatogenicznych. Progr. Plant Protect, 46(2): 349 - 351.
12. Lorenzo P. 1990. Aplication of 60 Co gamma radiation to control insects in stored rice. Part IV. *Lasioderma serricorne* (Anobiidae: Coleoptera), *Alphitobius diaperinus* and *Tenebrionido* sp. (Tenebrionidae: Coleoptera). Cien. Tec. Agric. Arroz. 13, 67–76.
13. Malschi D. 2009. Integrated pest management in relation to environmental al sustainability. Part I, Ecological management of wheat pests Course notes and practical applications. Bioflux Publishing House Cluj-Napoca.
14. Meindl P., Kromp B., Bartl B., Ioannidou E. 2001. Arthropod natural enemies of the cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* L.) in organic winter wheat fields in Vienna, Eastern Austria. IOBC Bull. 24: 79–86.
15. Rueda L.M., Axtell R.C. 1985. Guide to common species of pupal parasites (Hymenoptera: Pteromalidae) of the house fly and other muscoid flies associated with poultry and livestock manure. North Carolina Agricultural Research Service Bulletin, 278: 1–88.
16. Steelman D. 1996. Darkling beetles are costlu pests. Poult. Digest, 55: 22–23.
17. Trzmiel K., Wielkopolan B., Lewandowska M. 2015. Using RT-PCR assay for the detection of *Brome mosaic virus* (BMV) in cereal leaf beetle (*Oulema melanopus* L.). Zastosowanie techniki RT-PCR do wykrywania wirusa mozaiki stokłosy (*Brome mosaic virus*, BMV) w skrzypionce zbożowej (*Oulema melanopus* L.). Progr. Plant Protect, 55: 494- 497.
18. Ulrich W., Czarnecki A., Kruszyński T. 2004. Occurrence of pest species of the genus *Oulema* (Coleoptera: Chrysomelidae) in cereal fields in Northern Poland. Electronic J. Polish Agric. Univ. 7: 1-6.

### 4.3. Wykorzystanie grzybów etomopatogenicznych oraz zabiegów mechanicznych i chemicznych do zwalczania szkodliwych owadów leśnych

Jak już wspomniano w rozdziale 2 "Prace wskazane jako szczególne osiągnięcie" zabezpieczanie upraw leśnych oraz pozyskanego drewna przed szkodliwymi owadami jest jednym z ważniejszych problemów ochrony ekosystemów w wielu krajach europejskich, a szczególnie istotnym w naszym kraju, ze względu na wysoką i utrzymującą się od wielu lat liczebność szkodników. W ramach tego tematu prowadzono badania we współpracy z Instytutem Badawczym Leśnictwa i Uniwersytetem Kardynała Stefana Wyszyńskiego

Celem badań wykonanych w latach 2010-2011 było określenie struktury gatunkowej i liczebności grzybów entomopatogenicznych w naturalnych siedliskach występowania szeliniaka sosnowca (*Hylobius abietis* L.) (**A.4.**). W Polsce dotychczas nie wykonywano badań dotyczących możliwości zastosowania grzybów entomopatogenicznych do redukcji liczebności *H. abietis*. W związku z tym nie analizowano składu gatunkowego tych patogenów w glebach na uprawach leśnych, gdzie pozostawione pniaki stanowią bazę rozwojową, a młode drzewa pokarm dla szeliniaka sosnowca. Badania tego typu mogą przyczynić się do wyizolowania szczepu grzyba owadobójczego, którego patogeniczność będzie na tyle wysoka, aby zastosować go w biologicznym preparacie, który mógłby być wykorzystywany w ograniczaniu liczebności tego owada. Na terenie Polski najczęściej występującymi grzybami owadobójczymi w glebach pól i lasów są gatunki: *Boveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Isaria farinosa* (syn. *Paecilomyces farinosus*), *Isaria fumosorosea* (syn. *Paecilomyces fumosoroseus*) i *Verticillium lecanii* (Bajan, Kmitowa 1997). Należą one do rzędu strzępczaków, gromady *Fungi imperfecti* i są potencjalnie najbardziej efektywne w procesach ograniczania szkodliwych owadów w Polsce (Bałazy, 2000). Powierzchnie badawcze zlokalizowano na 1-5 letnich zrębach (w nadleśnictwach na terenie Polski północnej, centralnej oraz południowej) gdzie wiosną (na przełomie kwietnia i maja) oraz jesienią (na przełomie września i października) każdego roku pobierano próby gleby. W laboratorium grzyby entomopatogeniczne z pobranej gleby izolowano metodą owadów pułapkowych z użyciem larw barciaka większego *G. mellonella* (Zimmerman, 1986). Uzyskane wyniki wykazały, że gleby 1-3-letnich upraw leśnych są miejscem bytowania 5 gatunków grzybów owadobójczych (*M. anisopliae*, *I. fumosorosea*, *B. bassiana*, *I. farinosa* oraz *V. lecanii*), które należą do powszechnie spotykanych w środowisku glebowym (Bajan i Kmitowa, 1997; Bałazy, 2000). Zdecydowanie więcej izolatów grzybów stwierdzono w glebach pobranych wiosną niż jesienią. Gatunkami grzybów owadobójczych, które zwłaszcza wiosną najczęściej występowały w glebach upraw leśnych są *M. anisopliae* i *I. fumosorosea*. Prezentowane w pracy wyniki są pierwszym w kraju doniesieniem dotyczącym składu gatunkowego grzybów owadobójczych w glebach upraw leśnych założonych na zrębach zupełnych.

W kolejnych badaniach określono aktywność owadobójczą grzybów *B. bassiana* w stosunku do smolika znaczonego (*Pissodes castaneus*, De Geer, 1775) (**D.19.**). Owad ten jest jednym z groźniejszych szkodników w uprawach sosny zwyczajnej (*P. sylvestris*). Dla drzew bardziej szkodliwe są larwy smolika zwyczajnego, niż chrząszcze, ponieważ drążą pod korą tunele, powodując zamieranie porażonych drzewa (Kapuściński, 1950; Panzavolta i Tiberi, 2010).

Jedyną z metod stosowanych w praktyce ochrony lasów zmierzających do zmniejszenia populacji tego szkodnika jest usuwanie i niszczenie drzew zasiedlonych przez niego. Brak środków owadobójczych zarejestrowanych do zwalczania eliminuje zastosowanie metod chemicznych podczas masowego występowania *P. castaneus* w młodych drzewostanach. Brak skutecznych i jednocześnie bezpiecznych dla środowiska metod było powodem podjęcia badań, dotyczących laboratoryjnej oceny aktywności biologicznej grzybów entomopatogenicznych *B. bassiana* (Bals.-Criv.) i przeprowadzenie zabiegów polowych określających możliwość wykorzystania tego patogenu do ograniczenia liczby *P. castaneus* na obszarach jego występowania.

W badaniach laboratoryjnych wykorzystano izolat *B. bassiana* wyizolowany z gleby w południowej części Polski (Nadleśnictwo Węgierska Górka) oraz chrząszcze zebrane w kwietniu 2011 z 3 - 5 letnich upraw sosny zwyczajnej, położonych w południowo-wschodniej Polsce (Nadleśnictwo Mielec). Zabiegi w terenie przeprowadzono w centralnej Polsce w 2012 r. (Nadleśnictwo Celestynów) na 4-letnich uprawach sosny zwyczajnej, o powierzchni 3 ha. Zabiegi polegały na opryskiwaniu drzew *P. sylvestris* dwoma preparatami zawierającymi konidia *B. bassiana* (1. izolat wykorzystany w badaniach laboratoryjnych; 2. biopreparat BoVeril (producent Bioved 2005 Kft, Słowacja). Skuteczność zabiegów oceniano po 6 miesięcach (druga połowa września) na podstawie liczby drzew z objawami kolonizacji przez *P. castaneus*. W wyniku przeprowadzonych badań, w testach laboratoryjnych stwierdzono wysoką aktywność owadobójczą *B. bassiana,* patogen spowodował śmierć 14–94% chrząszczy *P. castaneus*. Zabiegi polowe nie spowodowały zmniejszenia uszkodzeń *P.sylvestris* przez *P. castaneus*.

Podjęto także badania mające na celu określenie, czy okorowanie świeżych pniaków zmniejszy ich kolonizację przez owady z rzędu Coleoptera (**A.3.**). Pniaki drzew i ich korzenie zapewniają schronienie i siedlisko różnych gatunków owadów. Pniaki ściętych drzew iglastych są często kolonizowane przez wiele gatunków owadów uważanych za szkodliwe dla zdrowia lasu. Owady są przyciągane przez lotne substancje wydzielane ze świeżej żywicy (Nordlander i in. 1997; Byers 2004; Schlyter 2004). Korowanie naziemnej części podstawy pniaków (zwane dalej korowaniem pniaków) natychmiast po wycince drzew po raz pierwszy zalecano w Niemczech pod koniec XIX wieku (Elton i in. 1964) jako metodę zmniejszenia populacji szkodników owadów w uprawach sosny zwyczajnej *P. silvestris*. Sądzono, że taki zabieg, powodujący wysuszenie drewna, zapobiegnie kolonizacji pniaków przez chrząszcze kambiofagi czyniąc pnie nieatrakcyjnymi dla owadów. Jednak pomimo tego, że korowanie pni świerkowych było zalecane, dotychczas nie prowadzono badań oceniających skutki

korowania w terenach górskich. Podjęto zatem badania celem weryfikacji hipotezy, czy okorowanie świeżych pniaków zmniejszy kolonizację przez owady z rzędu Coleoptera. Trwające 3 lata badania miały na celu porównanie składu gatunkowego owadów i ich liczby na okorowanych i nieokorowanych świeżych pniach *P. abies*. W badaniu oceniono również przydatność tej metody, jako powszechnie stosowanej na terenach górskich. Badanie były prowadzone w Masywie Śnieżnika na wysokości 600 i 100 m n.p.m. Po roku od korowania pobrano próbki z owadami i oznaczono je do poziomu rodziny, rodzaju i gatunku. Wyniki badań wykazały, że pniaki *P. abies* zostały skolonizowane przez owady z 18 rodzin należących do 2 rzędów: Coleoptera 98,5%) i Diptera (1,5%). Rząd Coleoptera był najczęściej reprezentowany przez owady należące do rodziny Cerambycidae (52% wszystkich zebranych owadów) i Curculionidae (41%), w tym podrodziny Scolytinae (15%). Większą o 40% kolonizację owadów zaobserwowano w próbkach pobranych z okorowanych pniaków *P. abies*. Korowanie zwiększyło intensywność kolonizacji pniaków przez Cerambycidae i Scolytinae, ale nie miało wpływu na kolonizację przez Curculionidae (wyłączając Scolytinae). Korowanie pniaków *P.abies* nie zmniejszyło kolonizacji owadów w związku z tym należy unikać tego zabiegu w gospodarce leśnej, na terenach górskich.

Jednym z najważniejszych problemów dotyczących świerka pospolitego (*P. abies*) jest ochrona przetworzonego i przechowywanego w lesie drewna przed owadami, które atakują korę, łyko i drewno. Do najważniejszych gatunków niszczących drewno należą drwalnik paskowany *Xyloterus lineatus* (Olivier, 1795) i kornik drukarz *Ips typographus* (L.) (Linnakoski et al. 2012). Całkowitą powierzchnię lasów w Europie zagrożoną przez kornika drukarza szacuje się na około 8 milionów ha (Grégoire i Evans 2004). Do ochrony przechowywanego w lasach drewna stosowane są opryski konwencjonalymi, chemicznymi insektycydami (Wermelinger 2004; Koleva i in. 2012; Lubojacký and Holuša 2014). W Europie Środkowej preparaty owadobójcze, w tym alfa-cypermetryna w ochronie świerka pospolitego i drewna sosny zwyczajnej są stosowane od ponad 25 lat (Zahradník i in. 1996; Novotny i Zúbrik 2000). W Polsce zgodnie z przepisami Lasów Państwowych, stosowanie środków owadobójczych jest bardzo ograniczone; a w górach nie jest dozwolone z powodu ochrony wód (Instrukcja ochrony lasu 2012). Z drugiej strony, ze względu na ograniczenia ekologiczne, a także kosztowne oraz długie procedury związane z rejestracją środków owadobójczych do ochrony drewna, liczba ich z roku na rok maleje. Stosowanie środków owadobójczych nie jest również rekomendowane przez urzędy certyfikacji, takie jak Forest Stewardship Council (FSC). Ochrona składowanego w drzewostanach świerkowych drewna przed kornikiem jest skomplikowana i czasochłonna, zwłaszcza w warunkach gradacji

szkodnika, a szczególnie trudniejsza w górach. Trudność w terenach górskich związana jest z krótszym sezonem wegetacyjnym, ochroną działów wodnych i zróżnicowanym ukształtowaniem (Szabla, 2013). W związku z tym istnieje potrzeba poszukiwania nowych metod, które zwiększą skuteczność kontrolowania szkodników zasiedlających drewno, przy równoczesnym ograniczeniu pracy i ilości stosowanego środka chemicznego. Podjęto badania, których celem było oszacowanie skuteczności zastosowania sieci nasączonej alfa-cypermetryną, do owijania drewna świerkowego celem ochrony przed kornikami (**D.17.**). Obszar badań znajdował się na terenach Regionalnej Dyrekcji Lasów Państwowych w Katowicach i w Krakowie, w Nadleśnictwach Jeleśnia i Krościeńko, gdzie dominującym gatunkiem jest świerk pospolity. Badania prowadzono na stanowiskach szczególnie zagrożonych przez korniki. Do ochrony kłód drewna użyto produktu o nazwie Storanet® (producent BASF SE) Jest to siatka poliestrowa, która zawiera 100 mg/m$^2$ alfa-cypermetryny. Dodatkowo wewnątrz siatki zastosowano polimerowe sieci ze środkiem, który zapobiegał ługowaniu środka owadobójczego przez wodę i tym samym zapewniał działanie owadobójcze przez 6 miesięcy. Zastosowano również syntetyczny feromonem Pheroprax Ampoule® (BASF), w celu zwabienia chrząszczy *I. typographus*. Wyniki wykazały wysoką skuteczność siatki pokrytej alfa-cypermetryną stosowanej do ochrony drewna świerka pospolitego przed kornikami. Jednocześnie stwierdzono, że sieć ma negatywny wpływ na entomofaunę niebędącą przedmiotem zwalczania, głównie *Hylobius* spp., *Thanasimus formicarius* (L.) i *Tetropium castaneum* (F.). Użycie sieci nie miało wpływu na inne drapieżne (Carabidae) i pasożytnicze (Ichneumonidae i Tachinidae) owady.

**Publikacje wg Wykazu osiągnięć naukowo-badawczych, Zał. IV: A.3., A.4., D.17., D.19**

**Piśmiennictwo:**

1. Bajan C., Kmitowa. K. 1997. Thirty year studies on entomopathogenic fungi in the Institute of Ecology, PAS. Polish Ecological Studies, 23(3-4): 133-154.

2. Balazy S. 2000. The diversity of functional groups of entomopathogenic fungi. Biotechnologia, 50: 11-32.

3. Byers J.A. 2004. Chemical ecology of bark beetles in a complex olfactory landscape. In: Lieutier F, Day KR, Gre´goire J-C, Evans HF, editors. Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis. Berlin, Germany: Springer, pp 89–134.

4. Elton ETG, Blankwaardt HFH, Burger HC, Steemers WF, Tichelman LG. 1964. Insect communities in barked and unbarked pine stumps, with special reference to the large pine weevil (*Hylobius abietis* L., Col., Curculionidae). J Appl Entomol, 1:1–54.

5. Grégoire J.C., Evans H.F. 2004. Damage and control of BAWBILT organisms, an overview. p. 19–38. In: "Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis" (F. Lieutier, K.R. Day, A. Battisti, J.-C. Grégoire, H.F. Evans, eds.). Kluwer Academic Publishers, 570 pp.

5. Instrukcja ochrony lasu. (Forest Protection Instruction). 2012. Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa, 276 pp. (in Polish)

6. Kapuściński S. 1950. Weevils (in Polish). PWRiL, Warsaw, Poland.

7. Koleva P., Kolev N., Schopf A., Wegensteiner R. 2012. Untersuchungen zur Effizienz von insektizidbehandelten Fanghölzern gegen den Buchdrucker *Ips typographus* (Coleoptera, Curculionidae). (Investigations of the efficacy of insecticide-treated wood against the spruce bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera, Curculionidae)). Forstschutz Aktuell, 54: 16–21.

8. Linnakoski R., de Beer Z.W., Niemelä P., Wingfield M.J. 2012. Associations of conifer-infesting bark beetles and fungi in Fennoscandia. Insects, 3 (1): 200–227.

9. Lubojacký J., Holuša J. 2014. Effect of insecticide-treated trap logs and lure traps for *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae) management on nontarget arthropods catching in Norway spruce stands. J Forest Sci, 60 (1): 6–11.

10. Nordlander G., Nordenhem H, Bylund H. 1997. Oviposition patterns of the pine weevil *Hylobius abietis*. Entomol Exp Appl, 85:1–9.

11. Novotny J., Zúbrik M. (eds.). 2000. Biotickí škodcovia lesov slovenska. (Biotic Pests of Slovakia Forests0. Lesnickasekcia Ministerstva pôdohospodárstva SR, 206 pp. (in Slovak)

Panzavolta T., Tiberi R. 2010. Observations on the life cycle of *Pissodes castaneus* in central Italy. B Insectol, 63 (1): 45–50.

12. Schlyter F. 2004. Semiochemicals in the life of bark feeding weevils. In: Lieutier F, Day KR, Gre´goire J-C, Evans HF, editors. Bark and Wood Boring Insects in Living Trees in Europe, a Synthesis. Berlin, Germany: Springer, pp 351–364.

13. Szabla K. 2013. Praktyczna realizacja strategii ograniczania liczebności kornika drukarza na przykładzie świerczyn Beskidu Śląskiego i Żywieckiego w latach 2007–2010. (The practical implementation of the strategy for limiting the number of spruce bark beetle on the example of spruce forests in Silesian and Żywiecki Beskid in 2007–2010.) p. 161–178. In: „Kornik drukarz *Ips typographus* (L.) i jego rola w ekosystemach leśnych". ("Spruce bark

beetle *Ips typographus* (L.) and its role in forest ecosystems"). (W. Grodzki, ed.). Centrum Informacyjne Lasów Państwowych, Warszawa, Poland, 213 pp. (in Polish)
14. Wermelinger B. 2004. Ecology and management of the spruce bark beetle *Ips typographus* – A review of recent research. Forest Ecol Manag, 202: 67–82.
Zahradník P., Švestka M., Novák Knížek M. 1996. Podkorní škůdci. (Bark pests). p. 118–144. In: "Praktické metody v ochraně lesa" (M. Švestka, R. Hochmut, V. Jančařík, eds.) Nakladelství Silva Regina, Praha, Czech Republic, 186 pp. (in Czech)
15. Zimmerman A. 1986. The „*Galleria* bait method" for detection of entomopathogenic fungi in soil. J Appl Entomol, 102: 213-215.

Ponadto prowadziłam badania wspólnie ze studentami, które dotyczyły optymalizacji hodowli świerszcza bananowego *Gryllodes sigillatus* (Walker) (Orthoptera: Gryllidae) (**D.15.**). W pracy analizowano wpływ zagęszczenia początkowego w hodowli świerszczy bananowych na ich przeżywalność oraz szybkość wzrostu przy dostępie do pokarmu *ad libitum*. Na podstawie badań stwierdzono, że objętość początkowa świerszczy nie wpływa na przeżywalność owadów, jednak świerszcze hodowane w większym zagęszczeniu miały mniejszą długość ciała. Uzyskane wyniki mogą przyczynić się do zoptymalizowania hodowli tego gatunku świerszcza. Prowadzono również badania faunistyczne dotyczące inwentaryzacji Microlepidoptera, na obszarze łąk sąsiadujących z planowanym wówczas portem lotniczym Warszawa-Modlin których efektem jest praca *" Nowe stanowiska rzadkich gatunków Microlepidoptera w Kotlinie Warszawskiej."* (**D.14.**). W wyniku badań stwierdzono na tym terenie występowanie 165 gatunków reprezentujących 26 rodzin. Wśród nich było 37 gatunków po raz pierwszy wykazanych z województwa mazowieckiego. Do gatunków zasługujących na szczególną uwagę ze względu na niewielką liczbę znanych w Polsce stanowisk zaliczono: *Depressaria pimpinellae* (Zeller, 1839), *Scythris seliniella* (Zeller, 1839), *Schiffermuelleria schaefferella* (Linnaeus, 1758), *Pseudatemelia flavifrontella* (Denis et Schiffermüller, 1775), *Nothris verbascella* (Denis et Schiffermüller, 1775), *Ptocheuusa inopella* (Zeller, 1839), *Epinotia rubiginosana* (Herrich - Schäffer, 1851), *Lobesia artemisiana* (Zeller, 1847), *Phtheochroa pulvillana* (Herrich - Schäffer, 1851), *Anania verbascalis* (Denis et Schiffermüller, 1775), *Epascestria pustulalis* (Hübner, 1823).

## 5. Sumaryczne zestawienie dorobku

Tabela 1. Sumaryczne zestawienie **całkowitego dorobku** publikacyjnego **przed uzyskaniem stopnia doktora.**

| *Lp.* | **Rodzaj publikacji** | **Liczba prac** | **Zgodnie z datą publikacji** | |
|---|---|---|---|---|
| | | | **Punkty MNiSW** | ***IF*** |
| *1.* | **Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).** | **0** | **0** | **0** |
| *2.* | **Monografie i publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie o której mowa w punkcie II.A. (JCR)** | **2** | **10** | **0** |
| *3.* | **Doniesienia i abstrakty** | **3** | **0** | **0** |
| *4.* | **Łącznie** | **5** | **10** | **0** |

Tabela 2. Sumaryczne zestawienie **całkowitego dorobku** publikacyjnego **po uzyskaniu stopnia doktora bez dorobku stanowiącego osiągnięcie.**

| *Lp.* | **Rodzaj publikacji** | **Liczba prac** | **Zgodnie z datą publikacji** | |
|---|---|---|---|---|
| | | | **Punkty MNiSW** | ***IF*** |
| *1.* | **Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JCR).** | **7** | **125** | **4,983** |
| *2.* | **Monografie i publikacje naukowe w czasopismach międzynarodowych lub krajowych innych niż znajdujące się w bazie o której mowa w punkcie II.A. (JCR)** | **22** | **140** | **0** |
| *3.* | **Doniesienia i abstrakty** | **19** | **0** | **0** |
| *4.* | **Łącznie** | **48** | **265** | **4,983** |

**Podsumowanie działalności naukowej**

Całkowita liczba publikacji łącznie z listy A i B MNiSW, rozdziałów w monografii i oryginalnych prac twórczych opublikowanych w innych recenzowanych czasopismach naukowych: **36 (357 pkt. MNiSW)**

- liczba publikacji i rozdziałów w monografii po uzyskaniu stopnia doktora: **34 (347 pkt. MNiSW)**
- liczba publikacji, rozdziałów w monografii i oryginalnych prac twórczych opublikowanych w innych recenzowanych czasopismach naukowych po uzyskaniu

stopnia doktora z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe: **29** ***(265 pkt. MNiSW)***

Liczba publikacji z listy Web of Science: **11** ***( 200 pkt. MNiSW)***

- liczba publikacji po uzyskaniu stopnia doktora: **11** ***(200 pkt. MNiSW)***
- liczba publikacji po uzyskaniu stopnia doktora z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe: ***7(125 pkt. MNiSW)***

Sumaryczny IF: **7,463**

- IF po uzyskaniu stopnia doktora: **7,463**
- IF po uzyskaniu stopnia doktora z wyłączeniem prac stanowiących osiągnięcie naukowe: **4,983**

Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science: **12** (stan na dzień 24. 04. 2019)

Indeks Hirscha według bazy Web of Science: **3** (stan na dzień 24.04.2019)

Liczba publikacji z listy **B MNiSW,** rozdziałów w monografii i oryginalnych prac twórczych opublikowanych w innych recenzowanych czasopismach naukowych **24** ***(150pkt. MNiSW)***

- liczba publikacji, rozdziałów w monografii i oryginalnych prac twórczych opublikowanych w innych recenzowanych czasopismach naukowych po uzyskaniu stopnia doktora: **22** ***(140 pkt. MNiSW)***

Doniesienia i abstrakty: **19 (po uzyskaniu stopnia doktora 16)**

W **11** pracach oryginalnych jestem pierwszym autorem odpowiedzialnym za stworzenie koncepcji badań, dobór metod badawczych, realizację badań oraz opracowanie.

W **10** pracach byłam autorem korespondującym, przyjmując odpowiedzialność za wszystkie aspekty pracy, staranność i integralność każdej części pracy oraz korespondencję z recenzentami i wydawcą.

Byłam recenzentem **4** publikacji w czasopismach międzynarodowych (**2** publikacje w czasopiśmie z **IF**) oraz 2 prac w czasopismach krajowych.

Byłam kierownikiem 1 grantu naukowego, kierownikiem zadania w 1 grancie i w 5 wykonawcą badań.

Realizując zadania badawcze współpracuję z: firmą Roleko w zakresie oceny skuteczności działania preparatów nicieniowych w uprawach pieczarek i uprawach szklarniowych, z firmą Koppert Biological Systems w badaniach nad wykorzystaniem nicieni entomopatogenicznych do biologicznego zwalczania szkodników w różnych uprawach, z Instytutem Ochrony Roślin (Państwowy Instytut Badawczy Poznań) nad metodami biologicznego zwalczania szkodników w uprawach rolnych z wykorzystaniem rodzimych izolatów nicieni entomopatgenicznych, z Uniwersytetem Kardynała Stefana Wyszyńskiego nad możliwością

wykorzystania grzybów entomopatogenicznych do zwalczania szkodliwych owadów w uprawach leśnych i brojlerniach, z Instytutem Badawczym Leśnictwa nad możliwością wykorzystania nicieni entomopatogenicznych do zwalczania szkodliwych owadów w uprawach leśnych.

Po wyłączeniu pięciu prac stanowiących szczególne osiągnięcie naukowe **(82 pkt. MNiSW, IF = 2,48)**, oraz prac z okresu przed uzyskaniem stopnia doktora **(10 pkt. MNiSW)** mój dorobek naukowy wynosi **265 pkt. MNiSW, IF = 4,983**

## 6. Inne osiągnięcia związane z aktywnością dydaktyczną oraz organizacyjną

### 6.1. Działalność dydaktyczna

Pracę na stanowisku nauczyciela akademickiego podjęłam na Wydziale Nauk o Zwierzętach w grudniu 2008 roku. Przygotowanie pedagogiczne zdobyłam w czasie studiów doktoranckich, jak również uczęszczając na Podyplomowe Studia Pedagogiczne w Szkole Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie w latach 2005 - 2006. W ramach działalności dydaktycznej realizuję wszystkie formy zajęć dydaktycznych: ćwiczenia, ćwiczenia terenowe, seminaria i wykłady. W czasie studiów doktoranckich w latach 2000-2006 opracowałam programy i prowadziłam ćwiczenia z **Zoologii i** ćwiczenia terenowe **z Ekologii** na kierunku Zootechnika (Wydział Nauk o Zwierzętach) i ćwiczenia z **Zoologii bezkręgowców** na kierunku Biologia (Wydział Rolnictwa i Biologii). W latach 2008-2019 opracowałam tematykę: ćwiczeń z przedmiotu **Zoologia** dla studentów studiów stacjonarnych i niestacjonarnych (Wydział Nauk o Zwierzętach) na kierunku Zootechnika; ćwiczeń z przedmiotu **Zoologia ogólna** dla studentów studiów stacjonarnych na kierunku Bioinżynieria; ćwiczeń i wykładów z przedmiotu **Zoologia bezkręgowców** dla studentów studiów stacjonarnych i niestacjonarnych na kierunku Hodowla i Ochrona Zwierząt Towarzyszących i Dzikich; ćwiczeń z przedmiotu **Zoologia bezkręgowców** dla studentów studiów stacjonarnych (Wydział Rolnictwa i Biologii) na kierunku Biologia, ćwiczeń terenowych z przedmiotu **Inwentaryzacja i waloryzacja przyrodnicza** na kierunku Ochrona Środowiska (Wydział Budownictwa i Inżynierii)

Podczas pracy na Wydziale Nauk o Zwierzętach byłam promotorem 5 prac magisterskich i 8 prac inżynierskich bądź licencjackich. Wykonałam recenzje 23 prac magisterskich/inżynierskich.

W trakcie pracy zawodowej odbyłam dwa staże naukowe, uczestniczyłam w 13 szkoleniach dotyczących rozwoju umiejętności zawodowych.

**6. 2. Działalność organizacyjna**

W latach 2014 - 2016 byłam Pełnomocnikiem Dziekana Wydziału Nauk o Zwierzętach ds. Współpracy ze Szkołami Średnimi.

Od roku akademickiego 2016/2017 pełnię funkcję opiekuna roku na kierunku Hodowla i Ochrona Zwierząt Towarzyszących i Dzikich - studia stacjonarne stacjonarnych $I^0$. Byłam członkiem komitetu organizacyjnego 2 krajowych konferencji naukowych, członkiem Komisji Naukowej podczas XLIII Przeglądu Dorobku Kół Naukowych SGGW i członkiem komisji egzaminującej z praktyk studenckich. Pełniłam funkcję koordynatora zajęć dydaktycznych w Zakładzie Zoologii w latach 2009 - 2010. Organizowałam również, w ramach Dni SGGW pokazy w laboratorium nematologicznym Zakładu Zoologii.

**6.3. Nagrody i wyróżnienia**

- Dyplom uznania za wyróżniającą pracę doktorską pt. Wpływ czynników ekologicznych na układ nicień *Heterorhabditis megdis* – bakteria mutualistyczna *Photorhabdus luminescens* w warunkach hodowli *in vitro*. (2006)
- Wyróżnienie projektu pt. "Produkcja preparatu biologicznego na bazie nicieni owadobójczych", w konkursie ogłoszonym przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, objętym patronatem honorowym Ministra Gospodarki (2013)
- Wyróżnienie projektu "Preparat do ochrony roślin przed szkodnikami na bazie nicieni owadobójczych" w ramach projektu "Inkubator innowacyjności SGGW" (flagowe rozwiązanie wdrożeniowe - przeprowadzono analizę *proof of concept* i opracowano raport komercjalizacji tego projektu przez audyt technologiczny SGGW) (2015)
- Nagroda zespołowa II stopnia za osiągnięcia organizacyjne Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2016)
- Nagroda zespołowa II stopnia za osiągnięcia naukowe Rektora Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie (2017)
- Dyplom gratulacyjny za uzyskanie wysokich ocen w ankiecie przeprowadzonej wśród studentów oceniających poziom i sposób prowadzenia zajęć dydaktycznych (2017)

Szczegółowe zestawienie osiągnięć naukowych, organizacyjnych i dydaktycznych znajduje się w załączniku 4 do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego.

D. Tumialis

Warszawa, 25.04.2019 dr inż. Dorota Tumialis