

AKTIVATORI PATOGENIH MIKROORGANIZAMA KOD LYMANTRIA DISPAR L. I HYPHANTRIA CUNEA DRURY

U vezi s masovnim pojavama bolesti u populacijama insekata već je davno uočen značaj vanjskih faktora koji stvaraju predispoziciju individua populacija za oboljenje. Vanjski faktori djeluju i u drugom pravcu, tj. kao aktivatori latentnih, osobito virusnih bolesti. Djelovanje aktivatora varira prema njihovu intenzitetu i vremenu, a svakako ovisi i o starosti insekata, stadijima, spolu, vrsti, itd.

Aktivatori se mogu prema svom djelovanju podijeliti u dvije grupe: 1) oni, koji oslabljuju prirodenu rezistentnost domaćina prema oboljenju i 2) oni, koji sami djeluju na infektivni agens, tako da ga aktiviraju u normalnom, zdravom domaćinu. Teško je, međutim, za pojedine aktivatore ustanoviti, u kojem od ova dva pravca oni djeluju, jer se većinom radi o kombiniranom djelovanju aktivatora i genetskih faktora. Najpoznatiji su aktivatori bolesti tzv. meteorološki faktori, no za postizavanje praktičnih efekata kod umjetnih epizootija nije dovoljno poznavati samo te faktore, nego i druge aktivatore bolesti, naročito one, kojima se može izazvati na umjetan način epizootija u populacijama (neke kemikalije, subletalne doze insekticida, vrsta hrane, itd.).

Poznato je da su gubar i dudovac vrste insekata, koji u svom organizmu nose latentne viruse i prenose ih na potomstvo, te da u vrijeme njihove masovne pojave virusi prelaze u akutan oblik i tako uzrokuju pojavu epizootija. Kod gubara pojavljuje se poliedrija, koja u vrijeme njegovog masovnog namnoženja djeluju kao regulator i uspostavlja biocenotsku ravnotežu. Dok se gubar pojavljuje masovno periodično u razmacima od nekoliko godina, dudovac se redovito javlja svake godine, ali njegova II generacija strada masovno od virusne bolesti, granuloze, koja djeluje kao regulator kod uspostavljanja ravnoteže.

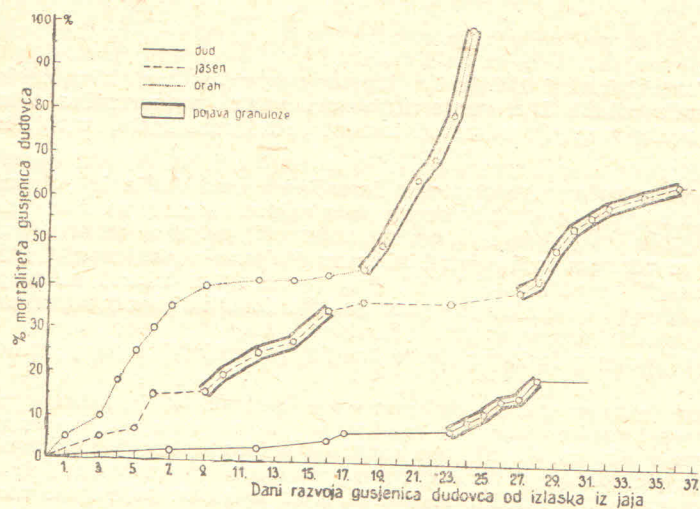
Prema našim istraživanjima patogeni mikroorganizmi u gubaru i dudovcu mogu se aktivirati na više načina: 1. kvalitetom hrane, 2. fizikalnim uslovima (temperaturom i vlagom), 3. raznim kemikalijama, 4. slabo virulentnim bakterijama, 5. mehaničkom povredom probavnog trakta, 6. nespecifičnim virusima, tj. virusima iz drugih domaćina i 7. superinfekcijom sa specifičnim virusom.

1. KVALITETA HRANE

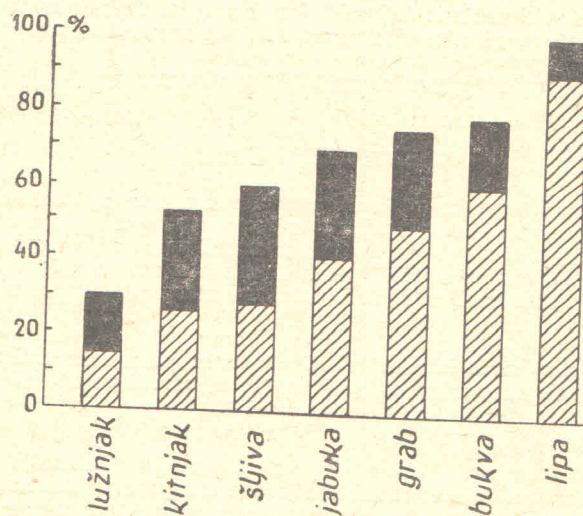
Razvoj dudovca i gubara na hrani različite kvalitete razlikuje se u jakoj mjeri u pogledu visine mortaliteta, seksualnog indeksa, plodnosti, te potencijala razmnožavanja. Ova varijabilnost prikazana je već u radovima više autora. Međutim, mi se danas više ne možemo zadovoljiti samo konstatacijama o utjecaju kvalitete hrane, ako pri tome nismo uzeli u obzir i patogene mikroorganizme, koji se namnožavaju u onim individuima gubara ili dudovca, koji su uslijed nepovoljne ishrane stekli predispoziciju za bolesti. Ova se predispozicija sastoji u fiziološkom oslabljenju organizma, pa se ovaj može lako inficirati izvjesnim patogenim mikroorganizmima i tako ugnati. U puno jačoj mjeri manifestira se u prirodi pojava virusnih oboljenja, jer se virusi nalaze već u samom organizmu u latentnom obliku, i dovoljno je da neki aktivator pokrene taj virus iz njegovog latentnog stanja.

Isključivši u eksperimentima mogućnost za vanjsku infekciju, mi smo na dudovcu i gubaru ispitali utjecaj kvalitete hrane na pojavu akutnog oblika bolesti, koje uzrokuju mikroorganizmi kao što su latentni virusi i bakterije normalne crijevne flore. Kod dudovca istražili smo utjecaj dudu, jasena i oraha kao aktivatora mi-

kroorganizama. Duda kao najpovoljnije hrane, jasena kao manje povoljne, a oraha kao nepovoljne. Ukupni mortalitet gusjenica bio je ovakav: na dudu 20%, jasenu 65% i orahu 100%. Kod dudovca na dudu počelo je ugibanje od granuloze 23. dan i trajalo do 28. dana nakon izlaska iz jaja. Na jasenu se granulaza javljala u dva perioda i to u prvom periodu od 9—16. dana i u drugom od 27—36. dana razvoja. Na orahu su gusjenice započele ugibati od granuloze 19. dan, a sve su uginule do 24. dana od izlaska iz jaja. (graf. 1.).



Graf. 1.



Graf. 2.

S obzirom na utjecaj hrane na aktivaciju virusnog oboljenja kod dudovca, možemo izvesti ovaj zaključak: kod nepovoljne hrane ugiba preko 50% gusjenica u starijim razvojnim fazama. Vrlo nepovoljna hrana uzrokuje 100% mortalitet gusjenica, kao što je to bio slučaj kod dudovca na orahu. Događa se da kod manje nepovoljne hrane kao npr. kod jasena, izvjestan postotak gusjenica preživi i uspije se razviti u leptire. Preživjeli individui vrlo su rezistentni i mogu se smatrati konkurentnim tipovima kod kojih, usprkos relativno nepovoljne ishrane, hrana ne utječe na aktivaciju latentnih mikroorganizama.

Kako djeluje kvaliteta hrane kao aktivator patogenih mikroorganizama u gubaru, najbolje nam ilustrira graf. 2, u kojem je prikazan ukupan mortalitet gusjenica gubara kod različite hrane i to: najniži kod povoljne hrane, hrasta lužnjaka — 30%, a najviši kod nepovoljne, lipe — 100%. Isti grafikon prikazuje i međusobni odnos patogenih mikroorganizama: bakterija i virusa, koji su uzrokovali mortalitet gusjenica. Taj je odnos slijedeći: bakterije: poliedrija na hrastu lužnjaku 1:1, hrastu kitnjaku 1:1, šljivi 1:1, jabuci 1:1,5 grabu 1:2, bukvi 1:3, lipi 1:9. Prema tome možemo zaključiti: što je hrana gubara nepovoljnija, to jače djeluje u pravcu aktivacije poliedrije, a manje utječe na pojavu bakterijskih bolesti.

2. FIZIKALNI USLOVI

Fizikalni uslovi, koji vladaju u vrijeme najintenzivnijeg razvoja insekata, imaju svakako važan utjecaj na insekte. Prema Vagou i Bergoldu organizam insekata može držati virusni agens neaktivnim kod optimalne temperature i vlage, povoljne aeracije i pravilne ishrane. Promjenom ovih uslova nastaju promjene fiziološkog stanja insekta tj. dolazi do oslabljenja organizma, te dolazi do aktivacije latentnog virusa u njemu. Međutim, neki drugi autori kao npr. Bird, Balch, Thompson i Steinhaus dokazuju suprotno, tj. da fizikalni uslovi ne djeluju kao aktivatori viroza, te da u izvjesnim slučajevima ne mora doći do pojave epizootije u ekstremnim fizikalnim uslovima, a drugi puta ona se javlja u optimalnim uslovima.

U našim istraživanjima utjecaja fizikalnih uslova na razvoj vubara pokazalo se da nepovoljna temperatura i vlaga zraka, koje vladaju u vrijeme prelaza gusjenica iz jedne razvojne faze u drugu, djeluju u pravcu fiziološkog oslabljenja gusjenica. Gusjenice mogu da se razvijaju i dalje na izgled normalno, ali obično pokazuju odstupanja od razvoja većine drugih, odnosno razvijaju se dulje od njih. Najčešće uginu onda, kada treba da se ponovno presvuku ili najkasnije u stadiju kukuljice. Prema ekstremnim fizikalnim uslovima najosjetljivije su gusjenice mladih razvojnih faza kao i one koje su se peti puta presvukle.

3. DJELOVANJE KEMIKALIJA

Otkako je Yamafuji 1947. g. otkrio da se pomoću vodikovog superoksida i hidrosilamina može aktivirati virus poliedrije na gubaru, u novije se vrijeme posvećuje prilična pažnja ovom problemu. Tako je Bergold aktivirao poliedriju gubara pomoću jajnog albumina i kalcijevog kazeinata, a Veneroso i Vago poliedriju dudovog svilca s natrijevim fluoridom.

Na dudovcu i gubaru izveli smo slična istraživanja pomoću nekih kemikalija kao što su: natrijev klorid, natrijev fluorid te alkaloidi: solanin, sambucin, piretrin i nikotin. Lišće, koje nam je služilo za ishranu gusjenica kontaminirali smo subletalnim dozama navedenih kemikalija. Gusjenice su uzele u svoj organizam minimalne količine kemikalija i to s jednodnevnom količinom hrane.

Natrijev fluorid, koji djeluje iritabilno na kožu primijenili smo u koncentraciji od 0,05%. Nakon kontaminacije, gusjenice su se hranile normalno netretiranom hranom, ali je između četvrtog i sedmog dana porastao % uginulih i to uglavnom od bakterija, a manje od virusnog oboljenja. Natrijev fluorid uzrokovao je intenzivni prodor bakterija crijevne flore u krv, pa je tako došlo do septikemije gusjenica. Kod malog broja gusjenica, koje su se uspjele razviti do pretkukuljica, dolazilo je do ugibanja od poliedrije, odnosno granuloze.

Natrijev klorid, u koncentraciji od 2,5% djelovao je slično kao natrijev fluorid, tj. efikasnije na aktivaciju bakterija nego virusa, ali ipak nešto drukčije, jer kod gusjenica nije dolazilo do pojave septikemije, već intestinalnog tipa infekcije.

U praksi zaštite bilja pokazali su se neki biljni alkaloidi kao efikasni insekticidi kao npr. nikotin i piretrin. Ove biljne alkaloidne kao i neke druge ispitali smo u vrlo malim količinama od 0,01—0,04% na gusjenicama gubara i dudovca. U opsežnim pokusima s ove dvije vrste insekata zapazili smo slijedeće: biljni alkaloidi u isbitnim koncentracijama djeluju 100% toksično na gusjenice prve razvojne faze ako se unesu peroralno u organizam s prvom hranom. Međutim, sa starošću gusjenica raste njihova otpornost prema alkaloidima, tako da je progresivno sve manji % uginulih u slijed toksičnog djelovanja alkaloida. — Djelovanje alkaloida pokazalo se efikasnim u drugom pravcu. Od osmog do jedanaestog dana nakon što su alkaloidi uneseni u organizam gusjenica, dolazi do masovnog ugibanja gubara od poliedrije i dudovca od granuloze. Ovo vremensko razdoblje upravo odgovara inkubacionom periodu za viroze što ukazuje na to da alkaloidi direktno aktiviraju virus u gusjenicama.

4. SLABO VIRULENTNE BAKTERIJE

Prilikom našeg rada na proučavanju patogenih mikroorganizama na gubaru i dudovcu, utvrdili smo da postoji izvjesna interakcija između bakterija i virusa. Ovu smo pojavu primijetili prvi puta u pokusima infekcije dudovca granulozom. Najprije smo inokulirali u gusjenice same inkluzije granuloze, a zatim mješavinu inkluzija i bakterija autohtona porijekla iz dudovca. Paralelno smo izvršili peroralnu infekciju gusjenica. U obadva slučaja mješovite infekcije, sve su gusjenice uginule do 2 dana nakon infekcije. Kod infekcije čistim virusom posljednja gusjenica uginula je tek 20. dan. Iz rezultata ovih pokusa zaključili smo da mikroorganizmi, bakterije i virusi, mogu djelovati znatno efikasnije, ako se zajedno razmnožavaju u istom organizmu. Ovaj zaključak potvrđuje još i činjenica da su bakterije, koje smo primijenili u pokusima, bile izolirane iz probavnog trakta dudovca, i u kontrolnim pokusima nisu uzrokovale mortalitet gusjenica.

Iako su rezultati ovih pokusa ukazali na to da postoji izvjesna veza između bakterija i virusa, koja djeluje u pravcu pojačavanja njihova aktiviteta, nismo mogli zaključiti da li bakterije aktiviraju virusni agens ili obrnuto. Zato smo izveli drugu seriju pokusa sa slabo virulentnim bakterijama cereus-grupe, izolirane iz gusjenica dudovca, koje smo našli uginule u prirodi. Istim smo bakterijama izvršili peroralno infekciju gusjenica, nakon čega smo dobili ove rezultate: Kod 5% gusjenica, koje su uginule relativno najbrže, tj. do trećeg dana iza infekcije, dobili smo čistu bakteriozu. Desetog dana iza infekcije započelo je prvo ugibanje od mješovite infekcije granulozom i istim bakterijama koje smo upotrebili kod infekcije. Dalje, do 22. dana uginule su sve gusjenice od granuloze i u njima nismo više nalazili primijenjene bakterije. U vezi ovih rezultata možemo zaključiti da slabo virulentne bakterije mogu djelovati kao aktivator latentnog virusa na taj način, što uzrokuju izvjesnu poremetnju u organizmu zadržavajući se dulje vremena u njemu, a da same nemaju uslove da se jače namnože i uzrokuju uginuće inficiranog domaćina.

Da bismo provjerili značaj interakcije bakterija i virusa u dudovcu, izvršili smo još niz pokusa s bakterijama, koje smo izolirali iz gusjenica *Euproctis chrysorrhoea* L., *Bombyx mori* L., *Orgyia antiqua* L., *Diloba caeruleocephala* L., *Pieris brassicae* L. i *Lymantria dispar* L. Zanimljivo je, da smo došli do iste konstatacije o djelovanju slabo virulentnih bakterija u pravcu aktivizacije latentnog virusa.

Na isti način kao s dudovcem, vršili smo infekcije gusjenica gubara najprije s autohtonim bakterijama, a zatim s bakterijama izoliranim iz drugih vrsta insekata. Kod gubara pokazale su se kao najpovoljniji aktivator poliedrije bakterije cereus-grupe, koje smo izolirali iz zlatokraja.

5. MEHANIČKE POVREDE PROBAVNOG TRAKTA

Tok patoloških procesa kod insekata često ovisi o mogućnosti prodora mikroorganizama kroz epidermu ili crijevni epitel. Najčešća infekcija događa se peroralnim putem, tj. kontaminiranom hranom, a s obzirom na tip oboljenja češći je

septikemijski od dizenterijskog. Poznato je iz literature da izvjesne vrste bakterija postaju patogene tek onda, kada naiđu na povređeno mjesto u probavilu, kroz koje prodru u krv i uzrokuju septikemiju.

Da bismo na umjetan način izazvali povredu crijevnog epitela, lišće duda, kojim smo hranili gusjenice dudovca, naprašili smo dolomitnim prahom. Pokuse smo izveli na gusjenicama svih razvojnih faza. Gusjenice s povređenim probavilom nisu se presvukle niti u jednom slučaju, iako su ostajale u istoj fazi i dvostruko duže, nego normalno. Usljed mehaničkih povreda nastala je poremetnja u parcijalnoj regeneraciji crijevnog epitela. Dok su mlađe gusjenice sve uginule uslijed prodora bakterija crijevne flore u krv, kod starijih se gusjenica javljalo najčešće mješovito oboljenje istim bakterijama i granulozom.

Pokuse s dolomitnim prahom kombinirali smo na više načina ne ograničujući se samo na spontanu pojavu bolesti. Izvršili smo kontaminacije lišća dolomitnim prahom, kojem smo dodavali: inkluzije, granulose, osušene i zdrobljene gusjenice dudovca, uginule od bakterioze u prirodi, te bakterije izolirane iz drugih insekata. U svakom pokusu imali smo dvije grupe pokusnih individua tako da smo na jednoj grupi promatrali tok ugibanja, a u drugoj vršili smo analizu krvne slike i mikroorganizama.

Prema rezultatima ovih pokusa dolomitni prah odigrao je važnu ulogu kao mehanički agens, kojim je izazvana poremetnja prirodne rezistentnosti gusjenica prema bakterijama, uvjetovane građom probavila. Sitne i oštre čestice praha omogućile su lakše prodiranje bakterija u krv, gdje su se relativno brzo namnožile i uzrokovale septikemiju.

6. NESPECIFIČNI VIRUSI

U našim daljnjim istraživanjima aktivatora mikroorganizama u dudovcu i gubaru izvršili smo niz pokusa unošenja nespecifičnog virusa inokulacijom i peroralno u organizam gusjenica. Za pokuse na gubaru primijenili smo poliedriju dudovog svilca, zlatokraja i granulozu dudovca, a na dudovcu poliedriju dudovog svilca i zlatokraja.

Analizom uzročnika mortaliteta gusjenica u ovim pokusima nismo ustanovili niti u jednom slučaju mogućnost infekcije gubara i dudovca nespecifičnim virusima. Međutim, sama virusna tvar, koju smo forsirano unijeli u tijelo gusjenica, aktivirala je specifičnu virozu kod obje vrste insekata. Dudovac je u tom pogledu reagirao drugačije, nego gubar. Mortalitet gusjenica dudovca kretao se između 60% i 88%, ali nikada nije dostigao do 100%. Iz preživjelih gusjenica razvili su se leptiri, među kojima je relativno visok % (iznad 60%) ženki uginuo prije ležanja jaja.

Kod gubara su nespecifični virusi u svim slučajevima aktivirali pojavu njezove specifične viroze, poliedrije, pa smo u pokusima dobili 100% mortalitet gusjenica. Peroralna primjena uzrokovala je znatno produljeni razvoj, ali su gusjenice uginule u posljednjim razvojnim fazama.

7. SPECIFIČNI VIRUSI

U vrijeme masovnog namnoženja gubara i dudovca, koji tada stradavaju od viroza, gusjenice vrlo lako podliježu superinfekciji virusnom tvari, a to pospješuje svakako naglo smanjenje broja individua u populacijama. Krieg objašnjava ovu pojavu kao »dodatni efekt«, budući da su gusjenice već latentno virotične.

Naši pokusi u tom pravcu pokazali su da je superinfekcija varijabilno uspješna, a stupanj njezine efikasnosti ovisi o raznim uslovima, koji uvjetuju fiziološku konstituciju gusjenica i u vezi s njom dispoziciju za oboljenja. Međutim, ovdje dolazi ipak na prvo mjesto količina unesene virusne tvari u organizam, koja može i kod vrlo otpornih individua izazvati bolest.

ZAKLJUČAK

Za primjenu patogenih mikroorganizama u biološkoj borbi protiv gubara i dudovca vrlo je važno poznavati faktore, koji djeluju kao aktivatori bolesti, specijalno viroza. Mikroorganizmi postoje već u samim insektima, a to dokazuju auto-

htone epizootije u prirodi, koje nisu uzrokovane unošenjem mikroorganizama u njihove populacije. Osobitu pažnju treba posvetiti virozama štetnih leptira kao što su gubar i dudovac. To su dvije vrste, u kojima postoje virusi u latentnom obliku i tako mogu da se prenose kroz više generacija, ne uzrokujući oboljenje domaćina. Međutim, u različitim uslovima s obzirom na prehranu, vremenske prilike, itd. virusi se mogu aktivirati i poprimiti akutan oblik bolesti, te dovesti do uginuća insekata. Pri tome treba uvijek voditi računa o tome, da će aktivatori bolesti biti različito efikasni, jer to ovisi o stupnju rezistentnosti individua u populacijama. U vrijeme epizootije izdvajaju se najrezistentniji individui, koji nose u sebi latentne viruse. Kao što Steinhaus navodi, ovakvi su individui mnogo jače rezistentni od zdravih individua neke populacije, koja nije pretrpjela fazu epizootije virusom. Zato oni nose u sebi najjači potencijal razmnažanja i rezistentnosti prema različitim faktorima okoline, pa uskoro dolazi do masovne pojave njihova potomstva. Ovakvim individuumima treba posvetiti naročitu pažnju, jer se njihovim uništenjem mogu spriječiti katastrofe, koje može opet prouzročiti njihovo masovno potomstvo.

FACTORS OF PATHOGENIC ORGANISM ACTIVATION IN LYMANTRIA DISPAR L. AND HYPHANTRIA CUNEA DRURY

by

Dr. Lea Schmidt

Faculty of Agriculture, Zagreb

SUMMARY

From the biological control point of view is very important to understand the relation between environmental factors and diseases which may be activate from the latency to the acute form. In the present paper we have described our results of investigations with two insect specimens in the nature very susceptible to virus diseases, the gipsy-moth and the fall-webworm. In their populations the outbreaks of epizootics are spontaneous because it is no possibility of natural transmission of microorganisms among large number of individuals ones espaced from the others in the large areas. The appearance of spontaneous diseases is not already directly provoked by the environmental factors, but also by the physiological weakening of insects, which are predisposed to the diseases. The degree of some factors may vary because of various intensity of resistance of individuals in insect populations. In our experiments the most resistant individuals against diseases were evident by feeding on favourable food and their resistance decreases almost regularly on unfavourable food.

With regard to the effect of insect diseases activating factors we studied: 1. food quality, 2. temperature and atmospheric humidity, 3. various chemicals (natrium fluoride, natrium chloride, alcaloides: solanine, sambucine, pyrethrine, nicotine), 4. bacteria with less virulence, 5. mechanical abrasives of intestinal organs, 6. infections with viruses from other specimens of insects, 7. infections with specific viruses.