

## **BARTOSZ PIECHOWICZ, KINGA STAWARCZYK, MICHAŁ STAWARCZYK**

Zakład Ekotoksykologii, Zamiejscowy Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski  
e-mail: *bpiechow@univ.rzeszow.pl*

### **DOBOWE ZMIANY WRAŻLIWOŚCI NA INSEKTYCYDY STONKI ZIEMNIACZANEJ (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY) ANALIZOWANE W WARUNKACH LABORATORYJNYCH I PÓLNATURALNYCH**

*W latach 2004-2005 w Zakładzie Toksykologii Zwierząt UMK w Toruniu oraz 2007-2008 w Zakładzie Ekotoksykologii UR w Kolbuszowej, przeprowadzono analizę dobowych zmian wrażliwości stonki ziemniaczanej na insektycydy z dwóch grup: pyretroidów (substancja czynna:  $\beta$ -cyflutryna) i oksadiazyn (s.a.: indoksakarb). Badania przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych (UMK) i polowych (UR) intoksykując zwierzęta o czterech kluczowych porach doby - o wschodzie słońca, w południe, o zachodzie słońca i w środku nocy. Otrzymane w obu typach badań wyniki wskazują, że stonka ziemniaczana cechuje się statystycznie istotną, zmienną w rytmie dobowym podatnością na insektycydy.*

**Słowa kluczowe:** stonka ziemniaczana, *Leptinotarsa decemlineata*, pyretroidy, oksadiazyny, rytm dobowy

#### **I. WSTĘP**

Stonka ziemniaczana *Leptinotarsa decemlineata* Say, gatunek obecny w Polsce od 1949 roku, należy do najważniejszych szkodników roślin uprawnych. W naszym klimacie potrafi wydać nawet dwa pokolenia w sezonie [3]. Owad ten uważany jest za szczególnie trudny w zwalczaniu, ponieważ cechuje się bardzo szybkim nabywaniem odporności na obecnie stosowane chemiczne środki owadobójcze [12].

Jedną z metod poprawienia efektywności tego rodzaju środków bez konieczności zwiększania ich dawek jest połączenie toksycznych właściwości substancji aktywnych z naturalnymi dobowymi rytmami odporności szkodników na działanie ksenobiotyków. Niniejsze badania miały na celu sprawdzenie w jakim stopniu pora doby, w jakiej nastąpił kontakt stonki ziemniaczanej z indoksakarbem (związek z grupy oksadiazyn) i  $\beta$ -cyflutryną (związek z grupy pyretroidów), może modyfikować siłę działania tych dwóch przeciwstawnie działających insektycydów.

---

\* *Pracę recenzował:* dr hab. Zbigniew Czerniakowski, prof. Uniwersytetu Rzeszowskiego

## II. MATERIAŁ I METODY

### *Materiał badawczy:*

#### Zwierzęta:

W badaniach wykorzystano formy imaginalne stonki ziemniaczanej obu płci zebrane w okolicach Białegostoku (badania laboratoryjne) i Jarosławia (badania polowe) z pól nie poddawanych w roku pozyskiwania zwierząt żadnym zabiegom ochronnym z wykorzystaniem środków ochrony roślin. Łącznie do badań wykorzystano 2304 osobniki.

#### Środki owadobójcze:

Testowano dwa preparaty nowszej generacji:

Steward 30 WG (s.a.: 30% indoksakaru) - preparat owadobójczy o działaniu kontaktowym i żołądkowym z grupy oksadiazyn. Stężenie cieczy użytkowej - 0,2%; i

Bulldock 025 EC (s.a.:  $\beta$ -cyflutryna - 25 g w litrze środka) - preparat owadobójczy o działaniu kontaktowym i żołądkowym z grupy syntetycznych pyretroidów. W badaniach zastosowano wodny roztwór preparatu o stężeniu 0,02%.

### *Warunki prowadzenia badań:*

Laboratoryjne badania nad działaniem insektycydów na przeżywalność stonki ziemniaczanej przeprowadzono w sierpniu 2004 i 2005 roku w stałych warunkach termicznych 23°C, z wykorzystaniem naturalnego rytmu słonecznego oraz przy nieograniczonym dostępie zwierząt do pokarmu i wody.

Badania polowe przeprowadzono w sierpniu 2007 i 2008 roku na owadach umieszczonych na losowo wybranych i oddzielonych od środowiska siatką z PCV roślinach rosnących w uprawach ziemniaków w okolicy Jarosławia na Podkarpaciu. Temperatura w trakcie cyklu badawczego wahała się w zakresie 13°C - 28°C.

#### Metoda intoksykacji:

Zarówno w badaniach laboratoryjnych, jak i polowych posłużono się tą samą metodyką intoksykacji materiału badawczego. Kroplę preparatu (w próbie kontrolnej - wody) nanoszono na brzuszną stronę ciała owada w okolice obrączki podprzelykowej. Po upływie 20 sekund za pomocą bibuły niewchłoniętą część substancji usuwano.

#### Czas prowadzenia badań:

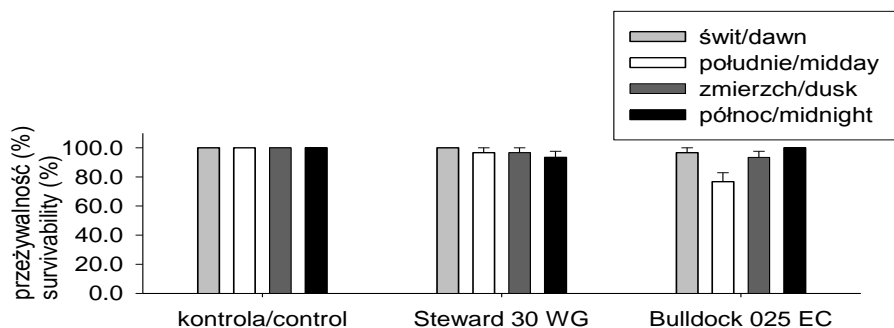
Założony okres trwania każdego cyklu pomiarowego wynosił trzy doby.

## III. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Na rycinach 1-6 przedstawiono wpływ pory doby intoksykacji (świt, środek dnia, zmierzch, środek nocy) i warunków środowiskowych (laboratoryjne i polowe) na przeżywalność stonki ziemniaczanej w okresie trzech dób od kontaktu zwierząt z badanymi insektycydami.

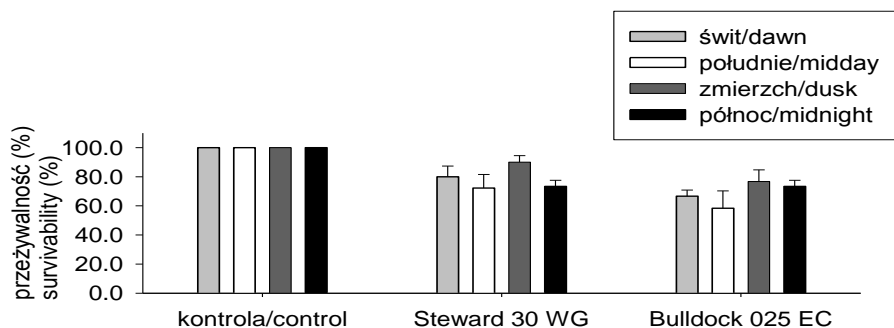
Tak w warunkach laboratoryjnych, jak i polowych, zwierzęta z próby kontrolnej cechowały się najwyższą przeżywalnością w stosunku do wszystkich badanych grup organizmów. W żadnym przypadku pora rozpoczęcia badań kontrolnych nie wpłynęła w sposób statystycznie istotny na przeżywalność zwierząt z tej grupy.

W przypadku owadów traktowanych indoksakarem (ryc. 1, 2, 4 i 5) wrażliwość stonki na insektycyd okazała się bardzo zmienna bez wyraźnego zaznaczenia, która z zastosowanych pór intoksykacji jest lepsza do zwalczania szkodnika. Po 72 godzinach badania (ryc. 3) uwidoczniła się jednakże statystycznie zwiększona wrażliwość stonki na insektycyd Steward 30 WG po intoksykacji w środku dnia.



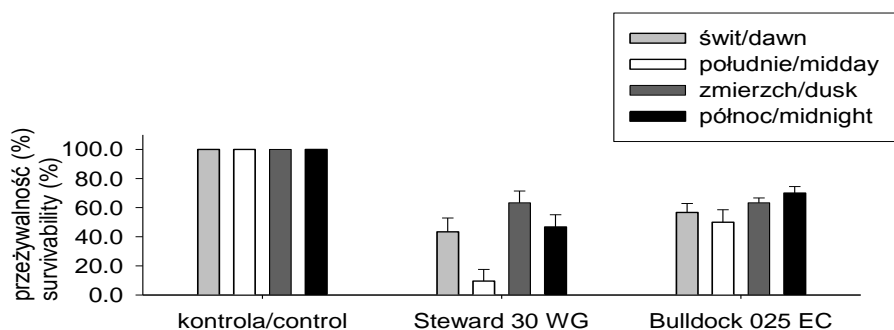
**Ryc. 1.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach laboratoryjnych w pierwszym dniu eksperymentu

**Fig. 1.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in laboratory condition in first day of experiment



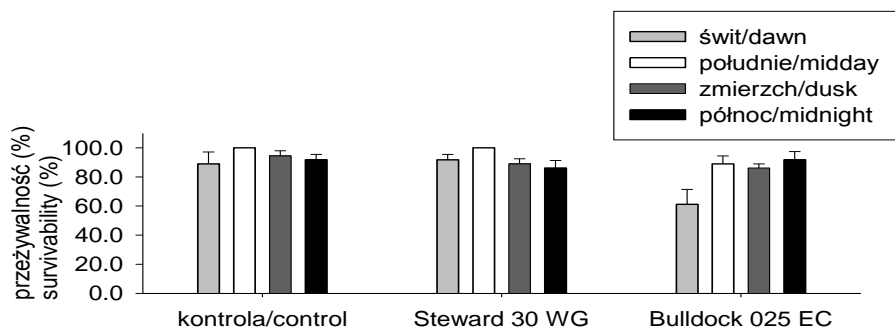
**Ryc. 2.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach laboratoryjnych w drugim dniu eksperymentu

**Fig. 2.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in laboratory condition in second day of experiment



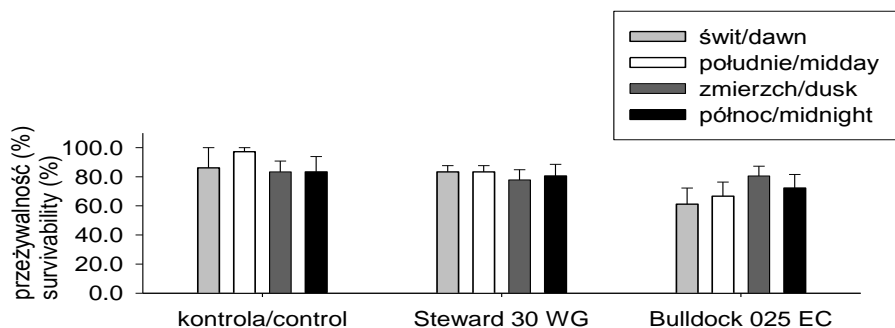
**Ryc. 3.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach laboratoryjnych w trzecim dniu eksperymentu

**Fig. 3.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in laboratory condition in third day of experiment



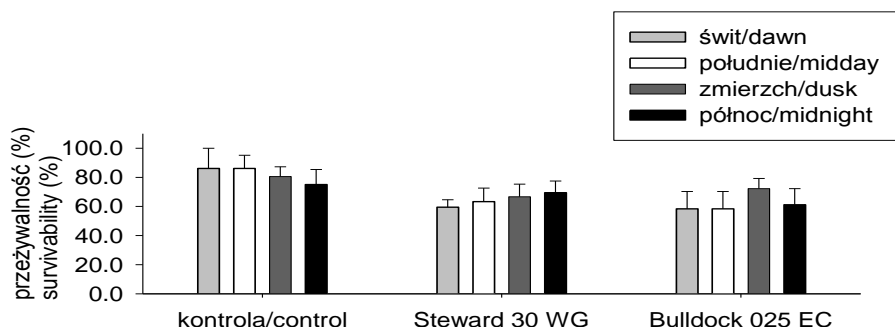
**Ryc. 4.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach polowych w pierwszym dniu eksperymentu

**Fig. 4.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in field condition in first day of experiment



**Ryc. 5.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach polowych w drugim dniu eksperymentu

**Fig. 5.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in field condition in second day of experiment



**Ryc. 6.** Dobowe zmiany wrażliwości na insektycydy u *Leptinotarsa decemlineata* Say obserwowane w warunkach polowych w trzecim dniu eksperymentu

**Fig. 6.** Circadian changes of susceptibility to insecticides in *Leptinotarsa decemlineata* Say observed in field condition in third day of experiment

Wrażliwość stonki na  $\beta$ -cyflutynę okazała się zmienna tak w zależności od pory doby intoksykacji, jak i od warunków prowadzenia badania. W przypadku zwierząt badanych w laboratorium największa śmiertelność obserwowana była po intoksykacji w środku dnia, w przypadku badań polowych - o świcie. Duża część z wykazanych w pomiarach różnic w przeżywalności zwierząt jest statystycznie istotna.

#### IV. PODSUMOWANIE

Rytmy biologiczne, występujące praktycznie już u najpierwotniejszych istot żywych [11], wpływają na bardzo różnorodne procesy zachodzące w organizmach - od zmian aktywności węglowodanów i lipidów [10], cAMP [6], enzymów [5], rytmiki funkcjonowania narządów [8,9], aż do wpływu na cykl aktywności i spoczynku całych organizmów [1,14]. Wydaje się, że w mniejszym lub większym stopniu wszystkie te zmiany mogą współtworzyć efekt cyklicznych zmian drażliwości stonki ziemniaczanej na zastosowane w niniejszych badaniach insektycydy, które, prócz modyfikowania funkcjonowania kanałów jonowych błon pobudliwych [2,13,15] wpływają na wiele innych struktur i funkcji komórki [13,7].

Uzyskane u obu badanych populacji stonki ziemniaczanej wyniki wykazują, że zarówno indoksakarb, jak i  $\beta$ -cyflutryna cechują się zmienną w zależności od pory intoksykacji skutecznością owadobójczą w stosunku do badanego zwierzęcia, przy czym wiele z uzyskanych w tych badaniach różnic w przeżywalności okazało się statystycznie istotnych. Część z uzyskanych danych wydaje się także zaprzeczać często przyjmowanemu założeniu o ujemnym współczynniku temperaturowym pyretroidów [4].

Na podstawie otrzymanych wyników można założyć, że okres, w jakim następuje kontakt stonki ziemniaczanej z insektycydem, determinuje podatność tego owada na biocydy. Przeprowadzone badania pilotażowe jednakże nie dają możliwości jednoznacznego stwierdzenia, która konkretnie pora intoksykacji jest lepsza do prowadzenia oprysków przeciw stonce. Zagadnienie to wymaga dalszych badań zarówno pod względem szczegółowego opracowania mapy rytmu dobowej podatności na środki owadobójcze u omawianego szkodnika, jak i przeprowadzenia molekularnych analiz nad działaniem każdej z badanych substancji na jego organizm.

#### V. LITERATURA

1. Devlin P. F., Kay S. A.: Circadian photoperception. Annual Review of Physiology 63. s. 677-694. 2001.
2. Lapied B., Grolleau F., Sattelle D.: Indoxacarb, an oxadiazine insecticide, blocks insert neuronal sodium channels. British Journal of Pharmacology 132. s. 587-595. 2001.
3. Lipa J. J., Sosnowska D., Pruszyński S.: Advances in biological control of *Leptinotarsa decemlineata* in Poland. Bulletin OEPP 28. s. 463-469. 1998.
4. Malinowski H.: Wpływ temperatury na aktywność owadobójczą fotostabilnych pyretroidów. Roczniki Nauk Rolniczych 12 (1). s. 245-253. 1982.
5. Manteuffel-Cymborowska M.: Biochemiczne aspekty biologicznych rytmów dobowych. Postępy Biochemii. 22. s. 143-171. 1976.
6. Mohabir G., Edmunds L. N.: Circadian clock regulation of the bimodal rhythm of cyclic AMP in wild-type euglena. Cellular Signalling 11 (2). s. 143-147. 1999.

7. Narahashi T.: Nerve membrane ion channels as the target site of insecticides. *Mini Reviews of Medicinal Chemistry* 2. s. 419-432. 2002.
8. Nicolau G. Y.: Circadian rhythms of RNA, DNA and protein content in the rat thyroid, adrenal and testis in chronic pesticide exposure. I. Effects of fungicide (mancozeb). *Endocrinologie* 20 (4). s. 249-257. 1982.
9. Nicolau G. Y.: Circadian rhythms of RNA, DNA and protein content in the rat thyroid, adrenal and testis in chronic pesticide exposure. III. Effect of insecticides (dichlorvos and trichlorphon). *Physiologie* 20 (2). s. 93-101. 1983.
10. Piccione G., Asenza A., Costa A., Fazio F., Grasso F., Caola G.: Daily rhythms of the body temperature and some haematochemical parameters in donkey. *Slovenian Veterinary Research* 40 (2). s. 71-76. 2003.
11. Pittendrigh C. S.: Temporal organization: reflections of a Darwinian clockwatcher. *Annual Review of Physiology* 55. s. 17-54. 1993.
12. Pruszyński S., Węgorok P., Mrówczyński M., Dutton R., Pawińska M., Przybysz E.: Zapobieganie wykształcaniu odporności stonki ziemniaczanej na insektycydy zalecane w Polsce. *Instytut Ochrony Roślin. Poznań*. s. 22. 2002.
13. Soderlund D., Clark J. M., Sheets L. P., Mullin L. S., Piccirillo V. J., Sargent D., Stevens J. T., Weiner M. L.: Mechanism of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 171. s. 3-59. 2002.
14. Someren van E. J. W., Raymann R. J. E. M., Scherder E. J. A., Daanen H. A. M., Swaab D. F.: Circadian and age-related modulation of thermoreception and temperature regulation: mechanisms and functional implications. *Ageing Research Reviews* 1. s. 721-778. 2002.
15. Wang S-Y., Wang G. K.: Voltage-gated sodium channels as primary targets of diverse lipid-soluble neurotoxins. *Cellular Signalling* 15. s. 151-159. 2003.

**CIRCADIAN CHANGES OF SUSCEPTIBILITY TO INSECTICIDES  
IN COLORADO POTATO BEETLE (*LEPTINOTARSA DECEMLINEATA* SAY)  
OBSERVED IN LABORATORY AND HALF-NATURAL CONDITIONS**

Summary

*In 2004 in the Department of Animal Toxicology UMK (Toruń) and in 2008 in the Department of Ecotoxicology UR (Kolbuszowa) analysis of the circadian changes in the susceptibility of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) was made for two groups of insecticides: pyrethroids ( $\beta$ -cyfluthrin) and oxadiazine (indoxacarb). The research was conducted under both laboratory (UMK) and field conditions (UR) intoxicating animals during the four key times of the day - at sunrise, noon, at sunset and in the middle of the night. Obtained in both types of research results show that Colorado potato beetle is characterized with a statistically important, variable in the daily rhythm, susceptibility to insecticides.*

**Key words:** colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, pyrethroids, oxadiazine, circadian rhythm