ZOOLOGIA

DEVIERI ANOMALICE ÎN PROCESUL DE ECLOZIUNE A LARVELOR LA FITONEMATODE

[1]Melnic Maria, [1]Toderaş Ion, [1]Erhan Dumitru, [1]Rusu Ştefan, [2]Rusu Vadim, [3]Chihai Nina

[1]Institutul de Zoologie, or. Chişinău, Republica Moldova,
[2]Universitatea de Stat din Moldova, or. Chişinău, Republica Moldova,
[3]Liceul ”Lucian Blaga”, or. Bălţi, Republica Moldova

Rezumat

În articol sunt prezentate date despre devierile anomalice de ecloziune a larvelor, care au loc în uterul femelelor fitonematodelor. Fenomenul ”*ecloziune intrauterină*” a fost stabilit pentru prima dată în Republica Moldova la speciile de nematode din genurile *Ditylenchu*s (*D. destructor, D. dipsaci*) şi *Pristionchus* (*P. lheritieri*). Procentul femelelor cu larve intrauterine este mai mare la specia *P. lheritieri* (2,0-3,0%), comparativ cu speciile din genul *Ditylenchus* (1,0-1,5%). Larvele vii, în număr de până la 3 exemplare (L_2), din cavitatea uterului macerat pătrund activ în cavitatea corpului femelelor moarte, apoi în exterior prin partea anterioară sau posterioară a acestora. Asemenea fenomen are loc, probabil, din cauza condiţiilor care s-au creat în habitatul nematodelor - neajuns de hrană, precum şi din cauza femelelor degradate de vârstă, care nu au putere de a depune ouăle în exterior.

Abrevieri: **Lp** – larve a speciilor parasite; **Ls**- larve a speciilor saprofite.

*Cuvinte cheie***:** fenomen, ecloziune intrauterină, nematode *Pristionchus lheritieri, Ditylenchus destructor, D. dipsaci.*

Depus la redacţie 19 februarie 2018

Adresa pentru corespondenţă: Melnic Maria, Institutul de Zoologie, str. Academiei, 1, MD 2028 Chişinău, Republica Moldova; e-mail: mariamelnic232@gmail.com; tel. (+373 22) 73-75-11

Introducere

Ciclul evolutiv al nematodelor fitoparazite şi libere din sol se realizează în două etape: în prima etapă are loc procesul de dezvoltare embrionară în ou, iar în a doua etapă - dezvoltarea post-embrionară, însoţită de ecloziune şi apariţia larvei din ou L_2 şi se finalizează cu maturizarea ei.

Unii autori (Mopa, 1900) au constatat că la femelele de nematode din ordinul *Rhabditida*, speciile *Caenorhabditis elegans* şi *Pristionchus robustus,* pot fi devieri anomalice de ecloziune a larvelor din ou, în momentul când acestea sunt încă în interiorul uterului [după 13]. Sera (1920) descrie dezvoltarea larvelor speciei de nematode *Heterodera schachtii*, din cavitatea uterului hipertrofiat al organismului femelei, ceea ce duce la moartea acesteia şi numeşte acest fenomen ”*endotokia matricida*” [după 3]. Ulterior alţi autori (Luc, Taylor, Netscher, 1979) au numit acest fenomen „*ecloziune intrauterină*” (L_2 , eclozionate în corpul femelei, care tind de a eşi în exterior) sau o simplă „*dezvoltare intrauterină*” (L_2 formă intermediară din uterul femelei) [3]. Aceşti autori propun de a înlocui termenul „*endotokia matricida*” cu termenul „*ecloziune matricidală*” pentru tipul de dezvoltare intrauterină, urmată de destrugerea femelei de către formele larvare. Ulterior, cazuri de dezvoltare intrauterină a larvelor sunt observate şi de alţi autori, la speciile de nematode din genurile: *Aphelenchus, Aphelenchoides, Anguina, Paranguina, Helicotylenchus, Pratylenchus, Radopholus, Meloidogyne, Xiphinema* [2, 3, 4, 7, 8, 10].

Scopul cercetărilor noastre a fost de a determina infestarea cu nematode parazite primare şi parazite secundare (saprofite) la culturile *Solanaceae* (cartofi) şi *Allium* (usturoi).

Materiale şi metode

Experienţele s-au realizat pe tuberculi de cartofi infestaţi în fazele 3 şi 4 de ditilenhoză, când *Ditylenchus destructor* parazitează în asociere cu specii de nematode saprofite, majoritatea fiind din ordinul *Rhabditida*. Tuberculii de cartofi au fost colectaţi din depozite în perioada de toamnă-iarnă-primăvară. Paralel s-au cercetat bulbii de usturoi infestaţi de *Ditylenchus dipsaci* în asociere cu specii saprofite de nematode. Bulbii infestaţi au fost colectaţi, de asemenea, în perioada de depozitare. Extragerea nematodelor s-a efectuat după metoda Baermann, modificată de Nesterov [12]. Nematodele vii au fost cercetate la microscopul stereoscopic. Fotografiile sau efectuat la microscopul Novex Holland B-series. S-au cercetat complexele de nematode parazite (*D.destructor, D.dipsaci*) şi saprofite (majoritatea din ordinul *Rhabditida*), asociate cu tuberculii de cartofi, precum şi cu bulbii de usturoi din depozite. Densitatea populaţiilor de nematode parazite şi saprofite a fost calculată cu ajutorul camerei de Grisse.

Rezultate şi discuţii

S-a studiat nivelul de infestare a culturilor *Solanaceae* (cartofi) şi *Allium* (usturoi) cu specii de nematode parazite, caracteristice acestor culturi. În procesul cercetărilor au fost stabilite anomalii ale ciclului evolutiv de dezvoltare la speciile de nematode fitoparazite din genul *Ditylenchus – D.destructor*, parazit al tuberculilor de cartofi şi *D.dipsaci* – parazit al culturilor de usturoi, precum şi la speciile parazite secundare ale acestor culturi, din ordinul *Rhabditida*, genul *Pristionchus – P.lheritieri*. În condiţii normale, reproducerea nematodelor din genurile *Ditylenchus* şi *Pristionchus,* se realizează pe cale sexuală. Ciclul evolutiv include 2 etape de dezvoltare - embrionară

şi postembrionară [6, 11]. Dezvoltarea embrionului începe cu divizarea oului imediat după fecundare, după ce acesta a fost depus în exterior, trecînd prin 2 faze: topogeneza, în care se evidenţiază conturul embrionului şi organogeneza, când are loc formarea diferitelor organe interne (diferenţierea histologică) cu individualizare morfologică şi funcţională. Dezvoltarea postembrionară, după ecloziune, la apariţia larvei L_2 din ou se termină odată cu maturizarea ei. În mod normal, femelele speciilor de nematode parazite şi saprofite depun în exterior ouă fecundate (Figura 1).

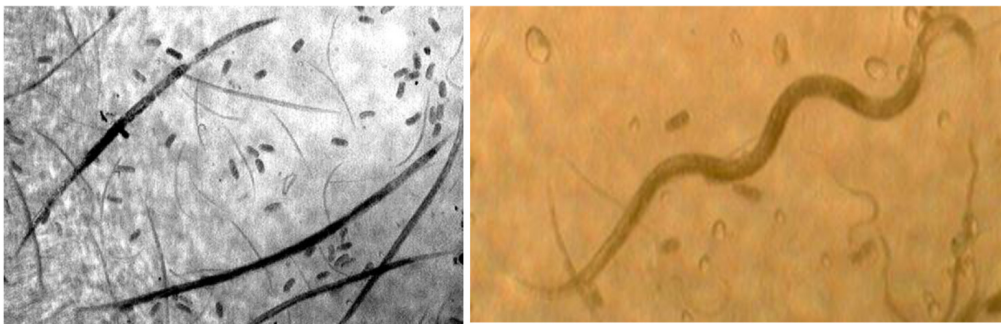


Figura1. Femele *D.destructor* cu ouă depuse în mediul exterior.

O singură femelă de *D.destructor*, în toată perioada de activitate, depune în mediu 250 de ouă, iar o femelă de *D.dipsaci* depune de la 200 pînă la 480 de ouă [11]. Ciclul evolutiv de dezvoltare începe după 4-6 ore, după ce acestea au fost depuse.

Datorită protecţiei de către înveliş, în ou, practic se realizează toată organogeneza nematodelor, precum şi prima năpârlire a larvei L_1, un proces care coincide cu ecloziunea acesteia în mediul înconjurător. Momentul ecloziunei din ou este însoţit de a doua năpârlire a larvei L_1 şi transformarea acesteia în larvă L_2 (Figura 2).

Mulţimea de ouă depuse poate fi observată în suspensiile de nematode obţinute din tuberculi de cartofi infestaţi de *D.destructor* şi din bulbi de usturoi infestaţi de *D.dipsaci*. Paralel, se observă ecloziunea larvelor L_2**.** În suspensia de nematode extrase din cartofii cercetaţi (fazele 3, 4 de ditilenhoză) au fost observate populaţii de *D. destructor* în asociere cu nematode saprofite, majoritatea fiind din ordinul *Rhabditida.*



Figura 2. Unele stadii de topogeneză (1, 2) şi organogeneză (3, 4) a speciei *Ditylenchus destructor*; 5 – larvă L_1 în ou înainte de ecloziune; 6 - larva L_2, după ecloziune din ou şi prima năpârlire (orig., 2014).

Densitatea nematodelor *D.destructor* împreună cu speciile saprofite a fost calculată cu ajutorul camerei de Grisse. Rezultatele obţinute au demonstrat că totalul nematodelor a constituit 9224,8 unităţi/gram de ţesut (100%); dintre care - larve (Lp + Ls) – 5725 ind./gram (62%); femele – 550 (*D. destructor*) ind./gram (6%); masculi (*D. destructor*)

– 825 ind./gram (9%); ouă – 1000 unităţi/gram (11%); nematode saprofite (indivizi maturi) – 1125 ind./gram (12%) (Figura 3).

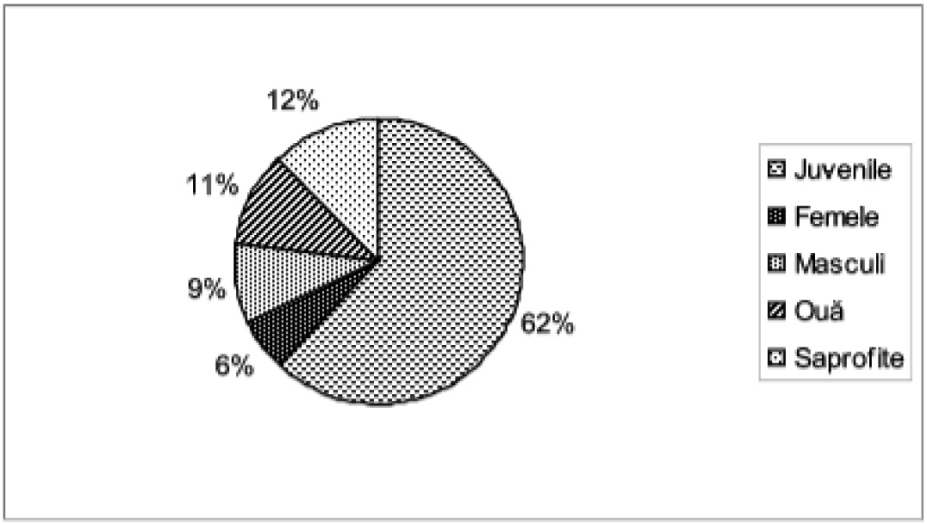


Figura 3. Repartizarea procentuală a nematodelor în porţiunile de ţesut infestat de *D. destructor* în asociere cu nematode saprofite la cartofii de soi Irga.

Din figura 3 observăm, că cel mai mare procent din suspensia de nematode cercetată, care a fost extrasă din cartofi infestaţi în fazele 3-4 de ditilenhoză, le revin formelor larvare (Lp+Ls) cu dominanţa L_2 - larve eclozionate din ou, după care urmează speciile saprofite din ordinul *Rhabditida* (genurile *Panagrolaimus, Pristionchus, Rhabditis*), cărora le revine 12%; ouăle - 11%; masculii – 9% şi femelele – 6%.

Larve intrauterine la speciile din genul *Ditylenchus*

În suspensia de nematode de diferite specii, care a fost extrasă din tuberculii de cartofi infestaţi, a fost observată prezenţa femelelor mature moarte ale speciei *D.destructor*, care conţineau în cavitatea corpului larve intrauterine - L_2 (Figura 4).

Organele din cavitatea corpului: gonada, intestinul median, uterul şi a esofagului (glandele esofagiene, bulbul esofagian, etc.) s-au dovedit a fi completamente distruse, ca rezultat al nutriţiei de către larve. Din corpul femelelor s-a mai păstrat doar cuticula. Printre rămăşiţele organelor macerate din cavitatea corpului, larvele vii se mişcau foarte activ, căutând ieşire în exterior.

În majoritatea cazurilor la o femelă moartă au fost stabilite 2-3 larve L_2 (Figura 4). Unele dintre ele tindeau să iasă prin extremitatea anterioară (cavitatea bucală), iar altele – prin extremitatea posterioară (prin vârful cozii) (Figura 5).

Rezultatatele investigaţiilor au pus în evidenţă că numărul de femele cu larve intrauterine a constituit circa 1,0 – 1,5% din totalul de femele. Astfel de cazuri au fost observate şi la specia *D. dipsaci*, care a fost extrasă simultan cu speciile saprofite, majoritatea fiind din ordinul *Rhabditida*, din bulbi de usturoi infestaţi în stadii avansate de ditilenhoză.

Ulterior, după ce larvele intrauterine au pătruns din corpul mort al femelelor în exterior, acestea au continuat să se dezvolte normal. Asemenea fenomen a fost observat în Republica Moldova pentru prima dată.



1 **2** **3**

Figura 4. *D. destructor*: 1 – femelă tînără, aspectul exterior; 2, 3 – femele moarte, degradate, cu larve matricidale L_2 în cavitatea corpului (orig.,2017).

Larve intrauterine la speciile din genul *Pristionchus*

În procesul cercetărilor s-a observat că fenomenul de ecloziune intrauterină este mai frecvent stabilit la speciile din ordinul *Rhabditida*, în special la specia saprofită *Pristionchus lheritieri* (Figura 6). În suspensia de nematode cercetată, s-a observat prezenţa femelelor acestei specii în uterul cărora se conţineau larvele L_2 (Figura 7). Asemenea femele erau deja moarte. Organele interne ale acestora erau distruse completamente, iar formele juvenile L_2, în număr de 2-3 indivizi/femelă, se mişcau vioi prin corpul femelelor, din care s-a mai păstrat doar cuticula, căutând modalitatea de a pătrunde în exterior. S-a stabilit, că numărul de femele din genul *Pristionchus*, care conţin larve intrauterine, este mai mare (2,0 – 3,0%) decât la speciile din genul *Ditylenchus* (1-1,5%).

Este necesar de menţionat, că specia *P. lheritieri* (familia *Neodiplogasteridae*) *este* prezentă în tuberculii de cartofi infestaţi cu *D. destructor* în stadii avansate de ditilenhoză (3, 4) la soiurile cercetate anterior (Agata, Albăstriu-mov, Albi, Asterix, Bella rosa, Concorde, Kondor, Desiree, Irga, Iagodca, Romano, Rokko, Sprinter, Veneta), precum şi la culturile *Allium* (usturoi) infestate cu *D. dipsaci* [5]. Conform observațiilor noastre, la specia *P. lheritieri*, formele juvenile, aveau posibilitate de a se deplasa prin cavitatea corpului, doar până la cardie. Ca şi la speciile din genul *Ditylenchus*, în cazul *P. lheritieri*, organele din cavitatea corpului - uterul, gonada, intestinul median, erau completamente distruse.



Figura 5. *D. destructor* - femele moarte cu larve L_2: 1, 2, 3 – larve care tind să iasă prin partea anterioară; 4, 5, 6 - prin partea posterioară (orig., 2017).

Mortalitatea femelelor, în cazul ecloziunii intrauterine, are loc la degradarea de vârstă, când acestea nu sunt apte de a depune ouă în mediul exterior. Ca rezultat, larvele (în număr nu mai mare de 3) eclozionează din ou în cavitatea uterului, iar ulterior, din uterul distrus, formele juvenile L_2 pătrund activ în cavitatea corpului femelei, unde se hrănesc cu organele interne. După ce au pătruns în exterior, larvele continuă să se dezvolte normal până la stadiul adult.



1 2

Figura 6. Specia *Pristionchus lheritieri* (aspectul exterior):1 - femela cu ouă în cavitatea uterului, înainte de a fi depuse în exterior (cazul de dezvoltare normală) şi masculul; 2 – partea posterioară a femelei (orig., 2015).



Figura 7. Femele moarte de *Pristionchus* sp.(aspectul exterior) cu larve L_2 în cavitatea corpului (orig. 2017).

Cercetările noastre, au pus în evidenţă cazuri frecvente, când indivizii maturi de *P. lheritieri*, care au fost extraşi concomitent cu alte specii de nematode saprofite din cartofii infestaţi, atacă activ larve de nematode din suspensie şi le devorează. Cazuri asemănătoare au fost observate şi de alţi autori [1], care menţionează că specia *P. lheritieri* este paralel şi bacteriovoră, şi un potenţial prădător.

Conform clasificării trofico-ecologice, propuse de către Yeates et al. [9], această specie a fost introdusă şi în grupa a 3(a) a bacteriovorelor şi în grupa a 5(a), a nematodelor prădătoare, consumatoare de protozoare, nematode, rotifere, enhitreide prin ingerare.

Concluzii

1. S-au stabilit cazuri de ecloziune intrauterină la speciile de nematode din genul *Ditylenchu*s (*D .destructor, D. dipsaci*) şi din genul *Pristionchus* (*P. lheritieri*).
2. Procentul femelelor cu larve intrauterine este mai mare la specia *P. lheritieri* (2,0-3,0%), comparativ cu speciile de *D. destructor şi D. dipsaci* (1,0-1,5%);
3. Acest fenomen are loc, probabil, din cauza condiţiilor, care se creează în habitatul nematodelor (neajuns de hrană, femele degradate de vârstă, care nu sunt apte de a depune ouă în exterior).

Bibliografie

1. *Anderson R.V., Coleman D.C.* Population development and interactions between two species of bacteriophagic nematodes //J. Nematologica, 1981, vol. 27, 6-19.E.J. Brill, Leiden, p.6-19.

2. *Loof P.A.A.* Uber das Vorkommen von «Endotokia matricida» bei Tylenchida //J. Nematologica, 1959, 4 (3), p. 238-240.

3. *Luc M., Taylor D.P., Netscher C.* On «endotokia matricida» and intrauterine development and hatching in nematodes //J. Nematologica, 1979, № 25, 268-274. E.J. Brill, Leiden.

4. *Martin M. J., Riedel R.M.* Observation of matricidal hatching and intrauterine egg development in five species of *Pratylenchus* from monoxenic culture //J. Nematologica, 1982, vol. 28, № 2, p. 257-259.

5. *Melnic M., Toderaş I., Erhan D., Rusu Ş., Onofraş L., Todiraş V.* Metode de combatere şi profilaxie a nematodelor parazite la cultura cartofului. Chişinău: I.E.P. Ştiinţa, 2014, 40 p.

6. *Romaşcu E.M.* Nematozii plantelor agricole şi combaterea lor. Bucureşti, editura «Cereş», 1973, 157 p.

7. *Santos M.S.N.* Matricidal hatching in *Meloidogyne incognita* race 2 //Cienc. Biol. Ecol. Syst., 1983, vol. 5, № 1, p. 1-3.

8. Wehunt E.J., Edwards D.I. Intrauterine egg development of *Pratylenchus coffeae* (Zimmerman). Filipjev et Schurmans Stekhoven. //J. Nematologica, 1971, vol. 3, p. 422-423.

9. *Yeates G.W.,Bongers T., de Goede R.G.M., Frecman D.W. and Georgieva S.S.* Feeding habits in soil nematode families and genera - an outline for soil ecologists //Journal of Nematology. 1993. № 25, p. 315-331.

10. *Губина В.Г.* Нематоды растений и почвы. Род Дитиленхус. Москва : Наука, 1982, 248 с.

11. *Кирьянова Е.С., Краль Э.* Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними. Ленинград: Наука, 1971, 522 с.

12. *Нестеров П.И.* Фитопаразитические и свободноживущие нематоды юго-запада СССР. Кишинев: Штиинца, 1979, 277 с.

13. *Теплоухова Т.Н.* Явление „endotokia matricida" у *Ditylenchus dipsaci* (Kuhn) // Паразитология, 1968, № 1, с.75-76.

Investigaţiile au fost realizate în cadrul proiectului 15.817.02.12 F, finanţat de Consiliul Suprem pentru Ştiinţă şi Dezvoltare Tehnologică al Academiei de Ştiinţe a Moldovei.