ROLUL MERMITIDELOR (*NEMATODA, MERMITHIDAE*) ÎN CALITATE DE AGENŢI BIOLOGICI REGLATORI AI EFECTIVULUI INSECTELOR HETEROTOPE ŞI HEMATOFAGE

THE ROLE OF MERMITIDS (*NEMATODA, MERMITHIDAE*) AS BIOLOGICAL REGULATORY AGENTS OF THE NUMERICAL EFFECTIVE OF HETEROTOPE AND HEMATOPHAGOUS INSECTS

ZU: 595.132:595.7 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.45**

Vadim RUSU,
ORCID: 0009-0002-3758-6968
e-mail: vadim.rusu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova
Ion TODERAŞ,
ORCID: 0000-0001-6159-5325
e-mail: iontoderas@yahoo.com
Universitatea de Stat din Moldova
Mihail BUDEANU,
ORCID: 0000-0002-4120-4152
e-mail: mihail.budeanu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova
Igor PÎRȚU,
ORCID: 0000-0003-4537-3364
e-mail: igor.pirtu@usm.md
Universitatea de Stat din Moldova

Summary. *The aim of the paper: elucidation of some aspects in the ,,parasite-host" system consisting of mermitids (Nematoda, Mermithidae) and heterotopic insects (Díptera, Chironomidae). In order to study the life cycles of the partners of the ,,host-parasite"system, the cultivation of chironomids in laboratory conditions was undertaken. Entomopathogenic nematodes are characterized by a wide range of hosts, high virulence, harmlessness for non-specific organisms, increased efficiency under favorable conditions. These particularities determine their importance as natural biological regulators of some harmful insects.*

Keywords: *system consisting of mermitids (Nematoda, Mermithidae), parasite-host, Entomopathogenic nematodes, heterotopic insects (Díptera, Chironomidae.*

INTRODUCERE

Problema centrală a parazitologiei ca ştiinţă este cea a interrelaţiilor în sistemul ,,parazit-gazdă". Sunt extrem de actuale cercetările parazitologice, care pot contribui la crearea unor modele experimentale de parazitoze. Se acordă o atenţie deosebită locului

paraziților în biosferă. Mecanismul de autodezvoltare și de autoperfecționare a sistemelor parazitare este considerat drept unul din cei mai importanți factori endogeni de accelerare a evoluției vieții pe Pământ. Numeroase date experimentale demonstrează că multe organisme sunt limitate în achiziționarea unor paraziți noi nu numai din cauza unor factori endogeni (specificitatea), ci și, în mare măsură, de un șir de condiții externe, înlăturarea cărora conduce la transformarea organismului respectiv în gazdă pentru noi specii de paraziți. Astfel, pe lângă fauna reală de paraziți ai unei gazde există și fauna parazitară potențială a acesteia. Aspectul practic al problemei în cauză este legat de faptul că paraziții potențiali reprezintă o amenințare permanentă pentru organismul posibilei gazde. Actualmente, o atenție deosebită este acordată impactului schimbării condițiilor mediului înconjurător asupra apariției și evoluției maladiilor parazitare. Presiunea antropică crescândă poate favoriza stabilirea unor noi conexiuni „parazit-gazdă”, ale căror apariții pot fi determinate, în primul rând, de modificarea condițiilor mediului înconjurător. Din unghiul acesta de vedere problema elucidării gradului de integrare a metabolismelor partenerilor în sistemele biologice „parazit-gazdă” este de o actualitate deosebită. Sunt necesare noi procedee de profilaxie și combatere a parazitozelor, precum și de pronosticare a evoluției faunei parazitare a gazdei respective. Actualitatea problemei este legată și de apariția, în ultimul timp, a unor noi maladii infecțioase ale omului, precum și de necesitatea crescândă de substituire a metodelor chimice de protecție prin metode biologice de combatere a dăunătorilor. *Scopul lucrării:* elucidarea unor aspecte în sistemul „parazit-gazdă” format din mermitide (*Nematoda, Mermithidae*) și insectele heterotope (*Diptera, Chironomidae*) și elucidarea, pe această bază, a unor legități ce condiționează interrelațiile în sistemele parazitare. În vederea atingerii acestui scop au fost puse următoarele *sarcini:*

- elaborarea unor metode de cultivare în condiții de laborator a partenerilor sistemului „*Chironomidae-Mermithidae*”;
- studierea biologiei parazitului *Hydromermis contorta* și a influenței acestuia asupra hironomidelor;

MATERIALE ȘI METODE

Studierea și cultivarea mermitidelor în condiții de laborator a fost efectuată conform metodelor descrise în literatura de specialitate. Durata dezvoltării embrionare a mermitidelor a fost stabilită prin realizarea infectării provocate a hironomidelor în condiții de laborator. în acest scop, mermitidele, care părăseau corpul gazdelor în mod independent, se plasau în fiole cu apă. După copulare femelele depuneau ouăle pe fundul fiolei. După terminarea perioadei de depunere a ouălor mermitidele adulte erau înlăturate, iar ouăle erau întreținute la temperatura +17 - +20°C. Larvele, ieșite din ouăle mermitidelor, erau folosite pentru infectarea gazdelor. Pentru studierea ciclurilor vitale ale partenerilor sistemului „gazdă-parazit” a fost întreprinsă cultivarea hironomidelor în condiții de laborator. Pontele de ouă au fost căpătate de la femelele prinse în natură. Femelele de hironomide erau plasate în cristalizoare sau în izolatoare speciale. În calitate de suprafețe

de cultură au fost utilizate chiuvete metalice emailate cu înălţimea de 3,5 cm şi cu laturile, respectiv, de 45 cm şi 35 cm. Chiuvetele se plasau în 5-6 niveluri în carcase speciale confecţionate din lemn. Chiuvetele, plasate vertical una faţă de alta, erau separate între ele prin intervale de spaţiu liber cu lăţimea de 15 cm. Carcasa cu chiuvete a fost plasată în interiorul izolatorului. Acesta reprezintă un suport cu laturile de 2,5 m, 0,75 m şi 1 m, pe care se întinde o plasă de tifon pentru a izola de restul încăperii spaţiul, în care zboară hironomidele adulte. Sub chiuveta de jos se plasau 1 sau 2 cristalizoare cu un strat de apă cu grosimea de 5 cm. Femelele hironomidelor depuneau pontele cu ouă la limita de separaţie dintre mediul acvatic şi cel aerian, încleindu-le de pereţii cristalizorului. Pontele de ouă ale hironomidelor erau plasate câte 6-7 în fiecare chiuvetă. Dezvoltarea ouălor de hironomide decurgea la temperatura camerei (+17-+20° C). După circa 3 zile de dezvoltare embrionară, larvele eclozionate începeau să fie hrănite cu praf de drojdii hidrolizate, din care concomitent acestea îşi construiau adăposturi. Exemplarele de hironomide adulte erau obţinute în laborator atât din larvele colectate în natură, cât şi din materialul, cultivat din ouă de hironomide în condiţii de laborator. A fost efectuat un şir de experimente pentru elucidarea procesului de infectare a larvelor de hironomide cu larve invazionare de mermitide. În calitate de material pentru experimente au servit larvele de *Ch. thummi* şi *Ch. plumosus* de vârstele 3-4. Experimentul de infectare provocată a larvelor de hironomide a fost efectuat în 5 serii. Astfel, în fiolele de sticlă se plasau câte 10 larve de hironomide de vârstele 3-4 şi câte 100 de larve invazionare ale parazitului. Larvele de hironomide, infectate cu mermitide, erau întreţinute în chiuvete cu nămol umed la temperatura de +17 - +20°C. Nămolul era în prealabil dezinfectat prin încălzire în dulapul de uscat la temperatura de +70 - +80°C. Vivisecţia gazdelor se executa în prima zi după 2 ore de la infectare, apoi în zilele 2, 3, 7, 10, 15, 20. Paraziţii extraşi şi gazdele acestora au fost utilizaţi pentru analizele biochimice ulterioare.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Cele mai favorabile temperaturi pentru dezvoltarea ouălor şi viaţa larvelor invazionare şi a nematodelor postparazitare se găsesc în diapazonul termic de la +10°C până la +25°C. Temperaturile scăzute (-2°C) şi cele ridicate (4-30°C) sunt letale pentru toate stadiile de dezvoltare a paraziţilor. Termenele de dezvoltare a mermitidelor, de regulă, sunt sincronizate cu ciclul vital al gazdei. Prezintă interes modul, în care influenţează temperatura asupra duratei perioadei de dezvoltare a mermitidelor în organismul gazdei. Astfel, durata acestei perioade pentru mermitida *Hexamermis sp.* în larvele de lăcustă de vârsta a IlI-a a constituit la temperatura de 20°C 54 de zile, la temperatura de 25°C - 23,4 zile, la temperatura de 30°C - 16,2 şi la temperatura de 35°C - 14,5 zile [1]. Un factor limitant important pentru mermitidele acvatice poate ti deplasarea apei. Încercările de a infecta larvele de simuliide cu parazitul ţânţarilor *R. culicivorax* în apa curgătoare sunt ineficiente. Relaţiile dintre gazdă şi parazit prezintă şi elemente de coadaptabilitate mutuală. Iniţial larvele infectate ale gazdei îşi continuă nutriţia, creşterea, îşi păstrează mobilitatea, nedistigându-se, sub aspect extern, de larvele neinfectate. Ulterior larvele in-

fectate prezintă modificări progresive ale metabolismului care apar în urma influenţei secretelor glandulare ale parazitului asupra sistemului nervos şi al celui humoral al gazdei. Are loc mobilizarea proceselor de hematopoeză, disocierea corpului adipos, frânarea dezvoltării gonadelor. Secretele parazitului stimulează procesele anabolice şi catabolice în toate depunerile de rezervă, în primul rând, în hemolimfa şi corpul adipos [2]. Prezenţa parazitului frânează considerabil maturizarea organelor genitale şi a produselor generative ale gazdei şi poate provoca reducerea completă a acestora chiar în cazul unei invazii singulare. Astfel, mermitidele scad ponderea femelelor fertile de flebotomuşi până la 0-7,9%. Mermitidele pot condiţiona intersexualitatea hironomidelor. Cele mai pronunţate schimbări morfologice sub influenţa mermitidelor le suferă masculii: antenele lor se scurtează, iar structura sternitului VIII al abdomenului devine similară cu cea a femelei. Astfel, infectarea cu paraziţi scade competivitatea individului în cadrul selecţiei sexuale. Sub influenţa parazitului au loc şi modificări de comportament ale gazdei. Zborul indivizilor infectaţi este febril şi haotic, la înălţime mică de asupra apei. Larvele infectate de hironomide se disting de cele neinfectate prin mobilitate redusă şi prin transparenţa învelişurilor, prin care se întrevăd paraziţii lungi. Prezenţa parazitului condiţionează scăderea pronunţată a masei corpului gazdei. Astfel, masa uscată a femelelor parazitate de *Ch. plumosus* scade faţă de cea a femelelor neparazitate cu circa 29 %. Masa uscată a masculilor parazitaţi de *Ch. plumosus* diminuează în raport cu cea a masculilor neparazitaţi cu circa 34 %. S-a constatat, că masa mermitidelor *H. contorta* depinde de sexul gazdei, în care se dezvoltă parazitul. Analiza datelor obţinute demonstrează că mermitidele extrase din corpul masculilor de *Ch. plumosus* sunt mai uşoare cu circa 55 % decât cele extrase din corpul femelelor. Extensivitatea invaziei cu mermitide oscilează în diverse puncte geografice şi în diferiţi ani, variind în diapazonul 0-100% pentru diferite sisteme „gazdă-parazit” [2]. Asupra extensivităţii şi intensităţii invaziei influenţează şi durata intervalului de timp până la întâlnirea gazdei de către mermitidele preparazitare. De exemplu, după 30 de min de păstrare a larvelor preparazitare se atestă o diminuare importantă a intensităţii de la 1,3 şi a extensivităţii de la 97 % până la, respectiv, 1,1 si 76 %. Intensitatea invaziei gazdei, în majoritatea cazurilor, constituie un parazit, mai rar - 2 şi extrem de rar 3-4 paraziţi într-o singură gazdă. Conform datelor noastre, invazia singulară a fost stabilită la 83% de larve infectate, 13% de gazde conţineau câte 2 mermitide, iar în 4% de cazuri s-au găsit 3 paraziţi într-o singură gazdă. Predominarea invaziei singulare se explică prin moartea în masă a gazdelor cu invazie multiplă. Acest model este, probabil, valabil pentru majoritatea sistemelor „mermitidă-gazdă”. Conform celor menţionate anterior, mermitidele sunt, în general, specifice pentru una sau puţine specii de insecte. În concluzie, un pericol potenţial din partea acestor paraziţi pentru mamifere ar fi foarte mic. Pentru documentare au fost efectuate studii limitate privind securitatea mamiferelor. Ignoffo et al. [3] menţionează că în urma expunerii şoarecilor adulţi, a puilor acestora şi a şobolanilor adulţi la penetrarea intranazală sau dermală cu *R. culicivorax per os,* nu s-au atestat deosebiri în ce priveşte masa corporală şi aspectul histologic în raport cu martorii. Şobolanii imunodepresaţi, la fel, nu sunt susceptibili la

mermitide. Studii similare, efectuate în China, demonstrează că nu apar semne de patologie în penetrarea dermală a puilor de şoareci, în expoziţia orală a şobolanilor adulţi sau în expunerea a 3 specii de peşti la *Romanomermis jingdeensis.* Agenţia de Protecţie a Mediului (SUA) a aprobat utilizarea mermitidelor în calitate de reglatori biologici inofensivi. Încercările de a cultiva mermitidele *in vitro,* utilizându-se medii nutritive sintetice, nu s-au soldat până acum cu succese notabile. Parazitarea mermitidelor este întotdeauna letală pentru gazdă. Acest fapt joacă un rol esenţial în reglarea efectivului populaţiilor de specii respective [4,5] şi poate, uneori, condiţiona nimicirea completă a unor populaţii aparte. Acest fapt certifică plasarea mermitidelor în grupul organismelor ce pot fi utilizate cu succes în combaterea biologică a dăunătorilor [6,7]. Nematodele entomopatogene se caracterizează printr-un cerc larg de gazde, virulenţă ridicată, inofensivitate pentru organismele nespecifice, eficienţă sporită în condiţii favorabile. Aceste particularităţi determină importanţa lor în calitate de insecticizi biologici naturali. Preparatele, elaborate pe baza nematodelor entomopatogene, fac concurenţă insecticidelor chimice. Costul economic al sistemelor de producere în masă este esenţial pentru utilizarea eficientă a agentului biologic de reglare a efectivului populaţiilor de specii dăunătoare. Mermitidele îşi primesc hrana transcuticular, producând prin aceasta dificultăţi specifice pentru propagarea prin metoda *in vitro.* Aşadar, eforturile cercetătorilor sunt direcţionate, în primul rând, spre crearea unor procedee eficiente de cultură a mermitidelor *in vivo.* Cu toate că mermitidele sunt relativ obişnuite în insectele acvatice, în special în familiile *Simuliidae*, *Chironomidae*, *Ceratopogomdae* şi *Culicidae*, majoritatea acestor specii nu au putut fi menţinute reuşit în colonii de laborator sau nu pot fi menţinute într-un număr considerabil. În plus, majoritatea speciilor de mermitide prezintă fenomenul de diapauză a ouălor sau posedă o eclozare asincronică, ceea ce creează dificultăţi pentru producţia lor în masă. *H. contorta* a fost menţinut în condiţii de laborator, deoarece una din gazdele sale - Ch. *thummi*- poate fi uşor cultivată în aceste condiţii. Totuşi, *H. contorta* nu a fost produs în masă şi aplicat în condiţii naturale. Speciile de mermitide prezintă interes în calitate de agenţi biologici reglatori ai efectivului populaţiilor de insecte hematofage, dar majoritatea lor rămân pentru moment netestate în acest sens. Continuă încercările de cultivare a mermitidelor *in vitro*. O caracteristică atractivă a mermitidelor este inofensivitatea lor pentru organismele nespecifice. Din această cauză este important de a cunoaşte specificitatea de gazdă a parazitului şi de a se asigura că gazda, ce se preconizează a fi expusă reglării biologice a efectivului, este compatibilă cu parazitul utilizat în acest scop. Mermitidele pot fi specifice la nivel de specie a gazdei, la nivel de familie sau pot avea un diapazon larg de gazde din mai multe ordine (de exemplu, *Mermis nigrescens).* Studiile au demonstrat importanţa, pe care o are perioada aplicării parazitului în condiţii naturale pentru reuşita acestei aplicări. Este esenţial ca sistemul „parazit – gazdă" să fie sincronizat în vederea unei reglări biologice eficiente a efectivului populaţiilor de insecte dăunătoare. Majoritatea cercetărilor pentru acest grup au fost petrecute în ultimii 20 de ani, fiind stimulate de interesul crescut pentru metodele biologice de combatere a dăunătorilor.

CONCLUZII

Mermitidele atrag atenţia cercetătorilor prin faptul că posedă următoarele caracteristici ale unui agent biologic reglator ideal: sunt specifice pentru una sau puține specii de gazde; parazitarea este letală pentru gazdă; sunt relativ uşor de manipulat în condiţii de laborator; unele specii pot fi reproduse în masă în condiţii de laborator; pot fi uşor diseminate în mediu, utilizându-se tehnica standard de pulverizare a pesticidelor; prezintă un potenţial sporit pentru răspândirea în masă, ceea ce permite atingerea unui nivel ridicat al extensivităţii invaziei iniţiale şi instalarea unui control ulterior parţial al efectivului populaţiei gazdei pentru o perioadă indefinită; nu prezintă pericol pentru mediu; sunt inofensive pentru organismele utile datorită ciclului lor vital.

REFERINȚE

1. HERRON G.A., BAKER G.L. The effect of host stage and temperature on the development of Hexamermis sp. (Nematoda : Mermithidae) in the australian plague locust Chortoicetes iermitifera (Walker) (Orthoptera : Acrididae). // *Nematologica*. -1994. Nr. 2. -P. 213-224.
2. ТОДЕРАШ И.К. Функциональное значение хирономид в экосистемах водоемов Молдавии. -Кишинэу, 1984. -172 с.
3. IGNOFFO, C. M., PETERSEN, J. J., CHAPMAN, H. C. F., NOVOTY, J. F. Lack of susceptibility of mice and rats to the mosquito nematode Reesimermis nielseni Tsai and Grundmann // Mosquito News. -1974. Nr. 34. -P. 425-428.
4. ABAGLI, A.Z., ALAVO, T.B.C., PEREZ-PACHECO, R., PLATZER, E.G. Efficacy of the mermithid nematode, *Romanomermis iyengari*, for the biocontrol of *Anopheles gambiae*, the major malaria vector in sub-Saharan Africa. // *Parasites & Vectors*. -2019. Nr.12. –P. 253.
5. DI BATTISTA, C.M., FISCHER, S., CAMPOS, R.E. Susceptibility of the floodwater mosquito *Aedes albifasciatus* from eggs of different dormancy times to the nematode parasite *Strelkovimermis spiculatus* // *Medical and Veterinary Entomology.* -2020, Nr. 34. –P. 432–439. 6. PAILY, K.P., CHANDHIRAN, K., VANAMAIL, P., KUMAR, N.P., JAMBULINGAM, P. Efficacy of a mermithid nematode *Romanomermis iyengari* (Welch) (Nematoda: Mermithidae) in controlling tree hole-breeding mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in a rubber plantation area of Kerala, India // *Parasitology Research*. -2013. Nr.112. –P. 1299–1304.
6. KOBYLINSKI, K. C., SYLLA, M., BLACK, W., FOY, B.D. Mermithid nematodes found in adult Anopheles from southeastern Senegal // *Parasites & Vectors*. -2012. Nr.5. –P. 131.

NOTĂ. Subprogram 010701 *„Evaluarea structurii și funcționării lumii animale și ecosistemelor acvatice sub influența factorilor biotici și abiotici în contextul asigurării securității ecologice și bunăstării populației”.*