
ZOFIA CIESIELSKA, ANNA CHRZAN, MARIA WORŁOWSKA

Laboratoryjna hodowla wybranych grup glebowych larw Diptera

WSTĘP

W literaturze naukowej niewiele jest informacji dotyczących sposobu prowadzenia laboratoryjnych hodowli bezkręgowców glebowych. Metody prowadzenia tych hodowli są bardzo zróżnicowane, nawet w obrębie poszczególnych grup fauny glebowej. Badania nad nimi są w zasadzie dopiero zapoczątkowane. Poszukiwanie skutecznych metod ich prowadzenia jest jednak niezbędne, bowiem często jest to jedyna droga umożliwiająca identyfikację gatunków żyjących w glebie w postaci larwalnej. W odpowiednio prowadzonej hodowli można uzyskać dane dotyczące sposobu odżywiania się larw poszczególnych gatunków i w oparciu o nie ustalić ich związki troficzne oraz wynikającą z nich rolę w procesach rozkładu materii organicznej w glebie.

Sposób pobierania pokarmu można określić w oparciu o budowę narządu gębowego larwy. Natomiast analiza przewodu pokarmowego dostarcza tylko fragmentarycznych danych dotyczących składu pobranego pokarmu, ponieważ różne jest tempo i stopień rozkładu poszczególnych jego składników. W przewodzie pokarmowym form drapieżnych można zidentyfikować wyłącznie drobne stawonogi o schitynizowanym oskórku. Dokładniejszą ocenę związków troficznych stanowią stosowane w ostatnich latach metody izotopowe i serologiczne (Striganova 1987).

W wielu pracach stwierdza się, że glebowe larwy Diptera spełniają dużą rolę w procesach dekompozycji martwej ma-

terii organicznej. Wynika ona zarówno z faktu, że larwy Diptera stanowią znaczący ilościowo składnik zespołu fauny glebowej, jak i różnorodnych związków troficznych tej grupy (Ciesielska 1983, Paplińska 1983). Należą tu zarówno fitofagi, saprofagi, mykofagi, koprofagi, algofagi, jak i formy drapieżne oraz semaforontyczne.

Kurcheva (1960) podkreśla ogromną rolę larw Sciaridae, Scatopsidae, Bibionidae i Tipulidae w dekompozycji szczątków roślinnych w ściółce. Uczestniczą one w aktywnym mieszaniu martwej materii organicznej z glebą mineralną. Autorka stwierdza, że licznie występujące w glebie Tipulidae i Bibionidae wywierają wpływ na tempo rozkładu ściółki leśnej i na tworzenie próchnicy.

Poważny udział w pierwotnym rozkładzie martwej materii roślinnej na torfowiskach mają występujące skupiskowo larwy Bibionidae (*Dilophus* sp.) oraz Tipulidae i Lycoridae (Ciesielska 1983). Perel, Karpačevskij, Jegorova (1971) stwierdzają intensywniejszy rozkład ściółki przy udziale larw Tipulidae. Badania laboratoryjne pozwoliły autorom stwierdzić, że larwy *Tipula peliostigma* Schumm. są odpowiedzialne za rozkład 75% ściółki brzozonej, natomiast pozostałe 25% rozkładają inne organizmy glebowe. Tipulidae uczestniczą również w procesie tworzenia próchnicy. Aktywność larw warunkuje rozwój mikroorganizmów oraz sprzyja ich przenikaniu w głąb gleby. Wydalane przez larwy resztki nie strawionego pokarmu są miejscem intensywnego rozwoju mikroflory. Rolę *T. peliostigma* w dekompozycji martwej materii roślinnej podkreśla również Striganova (1975), stwierdzając, że gatunek ten jest okresowym dominantem w zespole fitosaprofagów w ekosystemach leśnych. Odżywia się głównie opadłymi liśćmi dębu i brzozy.

Glebowe larwy Diptera uczestniczą więc bezpośrednio w mechanicznym rozdrabnianiu martwej materii organicznej, mieszaniu jej z mineralną częścią gleby, przyczyniając się w ten sposób do przyśpieszenia procesu humifikacji (Gilarov 1965, Brauns 1968). Enzymy trawienne występujące w przewodzie po-

karmowym larw przedostają się wraz z ekskrementami do gleby, co może wpływać na przyspieszenie rozpadu substancji organicznych.

Dostępne w piśmiennictwie dane dotyczące roli larw Diptera są na ogół fragmentaryczne. Niezbędne jest zatem prowadzenie badań szczegółowych, opartych na laboratoryjnych hodowlach tej grupy zwierząt.

METODY PROWADZENIA HODOWLI

Trudności w opanowaniu metod prowadzenia hodowli glebowych larw muchówek są podobne do tych, które napotyka się przy prowadzeniu hodowli innych bezkręgowców glebowych. Sprowadzają się one głównie do możliwości zapewnienia w laboratorium odpowiednich dla tej grupy, specyficznych warunków ekologicznych przy jednoczesnym zapewnieniu możliwości prowadzenia obserwacji hodowanych osobników. Nie zawsze wiadomo, czym odżywiają się poszczególne gatunki, a zwłaszcza saprofagiczne i semaforontyczne larwy muchówek. Dlatego też dostarczenie im odpowiedniego pokarmu w warunkach laboratoryjnych jest poważnym problemem. Trudności są szczególnie duże, gdy celem hodowli jest porównanie składu chemicznego podawanego pokarmu, a następnie ekskrementów dla ustalenia roli badanych zwierząt w procesie rozkładu materii organicznej. Pewne podobieństwa sposobu prowadzenia hodowli dotyczą szeregu grup bezkręgowców glebowych.

Murphy, Doncaster (1957) podają, że najprostszym pomieszczeniem dla hodowli stawonogów glebowych, a w szczególności Collembola i Acarina jest zakręcane naczynie szklane z warstwą gipsu na dnie. Jednym z najbardziej uniwersalnych urządzeń do hodowli drobnych zwierząt glebowych może być plastikowy lub szklany cylinder o średnicy i wysokości ścianek dostosowanych do wielkości hodowanych zwierząt. W cylindrach takich dobudowuje się dno z mieszaniny gipsu i węgla drzewne-

go (Jenkins 1947), górę zaś przykrywa szczelnie doszlifowanym wieczkiem. Schaller (1953) hodował Chilognatha, Acarina i Collembola w komorach wykonanych całkowicie z gipsu, o krawędziach obłożonych plasteliną, do której przylegały wieczka szklane. Gere (1958) hodował Chilognatha i inne większe stonogi w miseczkach z gliny, które wciskane były do 2/3 głębokości w wilgotny piasek. Do hodowli Collembola lub Acarina można stosować także niewielkie drewniane klocki umieszczane w probówkach. Christensen (1956) proponował zakładanie w ten sposób hodowli Enchytreidae, by umożliwić bezpośrednią obserwację ich pod mikroskopem.

Na ogół badania nad sposobem odżywiania się i rozwojem glebowych bezkręgowców oraz wynikające stąd różnorodne badania eksperymentalne wymagają długotrwałego ich hodowania. Szereg bezkręgowców glebowych wytrzymuje w odpowiednio dostosowanych do ich wymogów warunkach kilka miesięcy, a według Striganovej (1975) nawet kilka lat. Wszystkie hodowle muszą spełniać takie podstawowe warunki, jak: odpowiednio utrzymana temperatura w granicach od 10^o do 20^oC, w zależności od hodowanej grupy zwierząt, wilgotność względna powietrza powyżej 60%, stała wilgotność podłoża, odpowiedni pokarm oraz substrat służący im za schronienie - tj. gleba, liście czy rozkładające się drewno.

Glebowe larwy muchówek można hodować według Górnego (1975) w szklanych słojach z piaskiem, na który nakłada się warstwę ściółki stanowiącej substrat i pokarm saprofitów. Strenzke (1966) zaleca przed rozpoczęciem hodowli larw muchówek podgrzewanie substratu przez 6 godzin w temperaturze 45^oC, w celu zabicia innych znajdujących się tam organizmów. Perel, Karpačevskij, Jegorova (1971) prowadzili hodowlę larw Tipulidae w trzylitrowych cylindrach szklanych napełnionych przesianym piaskiem. Piasek przykrywano 10 gramami suchych gałązek brzozy, w każdym cylindrze umieszczając po 25 sztuk larw Tipulidae. Każdą hodowlę nawilżano równą ilością wody destylowanej. Striganova (1987) za podstawowy wa.unek udanej

hodowli glebowych larw muchówek uważa odpowiednio utrzymywaną wilgotność i temperaturę. Autorka stwierdza, że temperatura około 25°C przyspiesza przeobrażenie larw, które jednakże w końcowych stadiach nie osiągają właściwej dla nich masy ciała.

W toku prac własnych prowadzono dwa warianty hodowli larw Diptera. Zróżnicowanie głównych parametrów hodowli wynikało z różnych celów prowadzenia badań. Cel pierwszego wariantu to wciąż trwające próby utrzymania długotrwałych hodowli larw, dla określenia ich roli w procesach glebowych. Wariant drugi miał na celu hodowlę larw aż do osiągnięcia postaci imaginalnej umożliwiającą identyfikację gatunku.

Materiał do rozpoczęcia hodowli można uzyskiwać dwiema drogami - drogą ekstrakcji larw z gleby oraz przez wstępną hodowlę imagines, a następnie zakładanie hodowli doświadczalnych z jaj złożonych przez samicę.

Żywe larwy muchówek do rozpoczęcia hodowli uzyskiwano przez ręczne przebieranie ściółki i gleby lub przez wypłaszanie ich w zmodyfikowanym aparacie Tullgrena. Modyfikacja polegała na tym, że na dno naczynia przytwierdzonego do lejka zamiast próbówki z płynem konserwującym wkładano wilgotną bibułę filtracyjną, skąd żywe osobniki mogą być przenieszone do naczyń hodowlanych. Przeglądu próbek należy dokonywać codziennie, by nie dopuścić do wyschnięcia i wyginięcia wyizolowanych w ten sposób larw.

Jaja owadów glebowych w okresie embrionalnym wymagają do prawidłowego rozwoju wysokiej wilgotności, którą absorbują całą powierzchnią. Najlepiej więc po złożeniu jaj przez samicę ostrożnie zebrać je pędzelkiem i umieścić na bibule filtracyjnej w szalce Petriego, po czym przenieść w zacienione miejsce. Stała wilgotność bibuły może być podtrzymywana przez zanurzanie jednego jej końca w próbówce z wodą lub przez położenie na niej małej próbówki zatkanej watą wypełnionej wodą. Zarówno bibułę, jak i watę należy wymieniać co kilka dni.

W celu uzyskania danych dotyczących sposobów odżywiania się glebowych larw Diptera oraz ich udziału w rozkładzie materii organicznej, materiał wyjściowy do zakładania hodowli można uzyskać opisanymi wyżej sposobami. Hodowle można prowadzić grupowo lub osobniczo. W miarę posiadania dużego ilościowo materiału hoduje się je w odpowiednio dobranych wielkością szklanych naczyniach z przykrywkami lub w krystalizatorach. Powierzchnia dna naczyń musi być dostosowana do liczebności hodowanych larw, bowiem sprawą ważną jest ustalenie optymalnego zagęszczenia. Wywiera ono widoczny wpływ na aktywność pokarmową larw. Zarówno zbyt niskie, jak i zbyt wysokie zagęszczenie jest niekorzystne. Szczególnie dotyczy to roślinożernych Bibionidae występujących skupiskowo wokół korzeni traw. Jest więc konieczne przy prowadzeniu hodowli uwzględnienie obserwacji terenowych dotyczących naturalnego rozkładu przestrzennego badanych form.

Na dno naczyń hodowlanych wprowadzano glebę z miejsca pobrania prób lub wyprażony piasek z domieszką gleby, który przykrywano podwójną warstwą bibuły filtracyjnej. Następnie umieszczano suche liście lub trawę o ilości określonej wagowo, tj. około 3-5 g na osobnika. Larwy Tipulidae preferują pokarm mieszany, złożony z liści i traw różnych gatunków. Całość zwilżano wodą destylowaną, a następnie co dwa lub trzy dni zraszano powietrze. Jest sprawą ważną, by nie dopuścić do gromadzenia się kropli wody na liściach, bowiem wpływa to hamująco na pobieranie pokarmu przez fito- i saprofagi. Podłoże powinno być nawilżane określoną, stałą ilością wody destylowanej - 2 razy w tygodniu. Liście i trawa oraz ekskrementy znajdujące się na górnej warstwie bibuły powinny być usuwane co 5-7 dni i poddawane dalszej analizie wagowej - dla określenia ilości zjedzonego pokarmu, oraz chemicznej - dla określenia stopnia jego rozkładu. Na miejsce usuniętego wprowadza się nowy materiał roślinny, o określonej wadze. Naczynia hodowlane winny być przetrzymywane w miejscach zaciemnionych, ale przewietrzanych.

Hodowle pojedynczych larw oznaczonych przyżyciowo co najmniej do rodziny umieszczano w odpowiednio oznakowanych szklanych naczyniach o średnicy 3-5 cm. Na dno wprowadzano warstwę wyprażonego piasku o grubości około 2 cm, który przykrywano dwoma krążkami bibuły. Podłoże zwilżano wodą destylowaną. Stałą jego wilgotność utrzymywano wstawiając do naczynia odwróconą do góry dnem probówkę z wodą destylowaną, zatkaną watą. (Naczynie hodowlane zamknięte szklanym wieczkiem przechowywane być powinno w zaciemnionym, ale przewietrzanym pojemniku).

W ten sposób prowadzono hodowle saprofagicznych larw z rodzin: Phryneidae, Lonchaeidae, Limoniidae oraz saprofitofagicznych i fitofagicznych Tipulidae i Bibionidae. Pokarm dla nich stanowiły drobne korzenie traw oraz fragmenty liści. Wprowadzano go w nadmiarze, by mógł również stanowić schronienie dla larw. W celu określenia ubytków pokarmu i jego przemian porawano jako pokarm wysuszone i zważone porcje trawy, np. kupkówki, a następnie co kilka dni analizowano zarówno pokarm, jak i zebrane z bibuły ekskrementy.

Drapieżne larwy Dolichopodidae i Tabanidae karmiono drobnymi nicieniami i skoczogonkami wyekstrahowanymi z gleby. Jako pokarm dla drapieżnych larw może służyć również Tubifex. W hodowli drapieżnych larw należy skrupulatnie usuwać co dwa dni nie zjedzone resztki, by nie dopuścić do ich rozkładu. Zebrane wraz z górną warstwą bibuły ekskrementy również mogą być poddane analizie chemicznej czy ewentualnie mikrobiologicznej.

W hodowlach służących do identyfikacji gatunków materiałem wyjściowym były zawsze larwy wyodrębnione z prób glebowych pobranych w terenie. Przeprowadzono hodowle larw muchówek z rodzin: Tabanidae, Limoniidae, Chironomidae i Tipulidae. Larwy oznaczone przyżyciowo do rodzin wraz z częścią gleby pobranej w terenie umieszczano w naczyniach szklanych o wymiarach podstawy 20x12 cm oraz wysokości 28 cm. Naczynia te przykrywano gazą. Wysokość naczynia zapewniała wylęgają-

cym się formom dorosłym swobodny lot. Dno naczynia wyście-
lano mchem i glebą, dla zapewnienia odpowiedniej wilgotno-
ści podłoża. Ponadto co 2-3 dni rozpylano w naczyniach oko-
ło 50 ml wody destylowanej. (Temperatura takich hodowli nie
powinna przekraczać 23°C).

W hodowlach Tabanidae dodatkowo można w glebie umiesz-
czać małe probówki z wodą, w celu utrzymania stałej wilgotno-
ści. W hodowlach rozpoczętych od II stadium larwalnego wy-
lot imagines *Chrysozoma bigoti monspellensis* (Villen) nastę-
pował średnio po upływie około 80 dni, natomiast rozpoczą-
tych od III stadium larwalnego po upływie około 65 dni.

W hodowlach Limoniidae rozpoczętych od II stadium larwal-
nego pojawianie się imagines z rodzaju *Dicranomyia* miało
miejsce po upływie około 40 dni.

Hodowle Chironomidae prowadzono począwszy od I, II i III
stadium larwalnego. Wylot imagines z rodzaju *Pseudosmittia*
(Goetgh) następował w zależności od stadium, od którego roz-
poczęto hodowlę, kolejno po około 100, 80 i 65 dniach.

W hodowlach Tipulidae, rozpoczynanych od II stadium lar-
walnego do form imaginalnych doprowadzono *Tipula paludosa* Mg.
Wylot imagines następował po upływie średnio ok. 104 dni.
Po dwóch dniach po przeobrażeniu miała miejsce kopulacja,
a po dalszych dwóch dniach składanie jaj.

PODSUMOWANIE

Praca zawiera analizę piśmiennictwa oraz wstępne badania
własne dotyczące metod prowadzenia hodowli niektórych glebo-
wych larw Diptera. Rozważono trudności w ich prowadzeniu
oraz opracowano warianty hodowli w zależności od celu badań.
Celem tym może być identyfikacja gatunku, często niemożliwa
w stadium larwalnym, lub szczegółowa ocena roli poszczegól-
nych grup troficznych w procesie rozkładu martwej materii
organicznej.

Opracowano metody hodowli larw należących do następujących rodzin: Tabaniidae, Limoniidae, Chironomidae, Tipulidae, Phryneidae i Lonchaeidae.

LITERATURA

1. Brauns A., 1968, *Praktische Bodenbiologie*, Stuttgart, s. 470.
2. Christensen B., 1956, *Studies on Enchytraeidae*, 6 Technique for culturing Enchytraeidae with notes on cocoon types. *Oikos*, 2, 7, 302-307.
3. Ciesielska Z., 1983, Trophic interrelations in the communities of Diptera larvae on peatbogs, *Verh. SIECC X Budapest*, 111-114.
4. Ciesielska Z., 1985, Zespoły larw muchówek na torfowiskach niskich. *Prace Kom. Nauk. PTG 90*. 132-142.
5. Gere G., 1958, Methode zur Lebendhaltung und Zucht von Arthropoden der Waldböden. *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* 3, 3/4, 225-231.
6. Gilarov M.S., 1965, Zoologičeskij metod diagnostiki počvennyh nasekomyh, Moskwa Nauka, pp. 275.
7. Górny M., 1975, Zoekologia gleb leśnych, PWRiL, Warszawa.
8. Jenkins D.W., 1947, A laboratory method of rearing chiggers affecting man (Acarina: Trombiculidae), *Ann. Ent. Soc. Amer.* 40, 56-68.
9. Kurchewa G.F., 1960, Role of invertebrates in the decomposition oak litter, *Sov. Soil Sci.* 4, 360-365.
10. Murphy P.W., Doncaster C.C., 1957, A culture method for soil meiofauna and its application to the study of Nematode predators, *Nematologica*, 2, 202-214.
11. Paplińska E., 1983, Udział larw muchówek w procesach glebowych, *Wiad. Entomol.*, t. 3, nr 3-4, 127-142.
12. Perel T.S., Karpaczevskij L.O., Jegorova E.V., 1971, The role of Tipulidae (Diptera) larvae in decomposition of forest litter-fall, *Pedobiol.* 11, 1, 66-70.

13. Schaller F., 1953, Untersuchungen zur Forstpflanzungsbiologie arthropoleoner Collembollen, Z. Morphol. Okol. Tiere, 41, 265-277.
14. Strenzke K., 1966, Empfohlene Methoden zur Aufzucht und Präparation terrestrischen Chironomiden. Gewässer u. Abwasser. 41/42, 163-168.
15. Striganova B.R., 1975: Piščevaja aktivnost počvennych ličinek dožgonozek (Diptera, Tipulidae), Zool. Zurn. T. LIV, 3, 377.
16. Striganova B.R., 1987, Količestvennyje metody v počvennoj zoologii, Moskva, pp. 287.

Zofia Ciesielska, Anna Chrzan, Maria Worłowska

LABORATORY INVESTIGATIONS ON CULTIVATING METHODS
OF SELECTED DIPTERA LARVAE

S u m m a r y

This work contains the analysis of literature as well as the authors' own experiments concerning methods of cultivating some soil Diptera larvae.

All the difficulties in soil fauna cultivating have been considered and various types of larvae raising in relation to the aim of experiments have been presented. One of the aims can be the identification of species which is often impossible in the larval stage. Another aim is the necessary evaluation of the role and trophic interrelations in the process of decomposition of organic matter.

Methods of larvae cultivating belonging to the following families: Tabanidae, Limoniidae, Chironomidae, Tipulidae, Phrynaeidae and Lonchaeidae have been elaborated.