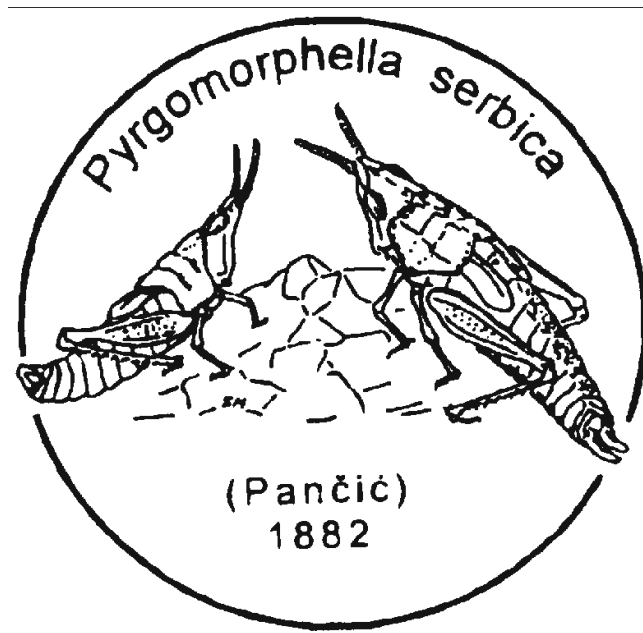


**SIMPOZIJUM
ENTOMOLOGA
SRBIJE 2013**

**SYMPOSIUM OF
ENTOMOLOGISTS
OF SERBIA 2013**

**TARA
SEPTEMBER 18-22, 2013**

ENTOMOLOŠKO DRUŠTVO SRBIJE
ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF SERBIA



SIMPOZIJUM ENTOMOLOGA SRBIJE 2013
sa međunarodnim učešćem

SYMPOSIUM OF ENTOMOLOGISTS OF SERBIA 2013
with international participation

PLENARNI REFERATI I REZIMEI
PLENARY LECTURES AND ABSTRACTS

TARA
SEPTEMBER 18-22, 2013

Organizatori skupa - Organizers:

**ENTOMOLOŠKO DRUŠTVO SRBIJE
ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF SERBIA**

**MINISTARSTVO ZA NAUKU I TEHNOLOŠKI RAZVOJ REPUBLIKE SRBIJE
MINISTRY OF SCIENCE AND TECHNOLOGICAL DEVELOPMENT OF
SERBIA**

Organizacioni odbor - Organization Committee:

Dr Dušanka Jerinić-Prodanović, predsednik
Dr Anđa Vučetić
Dr Biljana Vidović

Naučni odbor - Scientific Committee:

Dr Marko Anđelković, predsednik
Dr Božidar Ćurčić
Dr Smiljka Šimić
Dr Radmila Petanović
Dr Vera Nenadović
Dr Olivera Petrović-Obradović
Dr Snežana Pešić
Dr Ljiljana Protić
Dr Željko Tomanović
Dr Dušanka Jerinić-Prodanović

Izdavač - Publisher:

**ENTOMOLOŠKO DRUŠTVO SRBIJE
ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF SERBIA**

Urednik - Editor:

Dr Dušanka Jerinić-Prodanović

Priprema - Computer Layout:

Dr Dušanka Jerinić-Prodanović
Srboljub Čkrkić

Štampa - Printed by:

T.R. Spirit, Zemun

ZAHVALJUJEMO

**MINISTARSTVU PROSVETE, NAUKE I
TEHNOLOŠKOG RAZVOJA REPUBLIKE SRBIJE**

**ZA FINANSIJSKU PODRŠKU U REALIZACIJI
SIMPOZIJUMA ENTOMOLOGA SRBIJE 2013**

ENTOMOLOŠKO DRUŠTVO SRBIJE

WE THANK TO

**MINISTRY OF EDUCATION, SCIENCE AND
TECHNOLOGICAL DEVELOPMENT OF SERBIA**

**FOR FINANCIAL SUPPORT IN REALIZATION OF THE
SYMPOSIUM OF ENTOMOLOGISTS OF SERBIA 2013**

ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF SERBIA

INVAZIVNE VRSTE INSEKATA U BIOMONITORINGU

MILENA VLAHOVIĆ, VESNA PERIĆ MATARUGA, MARIJA MRDAKOVIĆ

Odeljenje za fiziologiju i biohemiju insekata,
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“, Univerzitet u Beogradu
Bulevar despota Stefana 142, Beograd
e-mail: minavl@ibiss.bg.ac.rs

Antropogene aktivnosti su uzrok dramatičnih ireverzibilnih promena u ekosistemima. Dolazi do povećanja koncentracije ksenobiotika (teških metala, pesticida, polihlorovanih bifenila, policikličnih aromatičnih ugljovodonika), ugljen dioksida, azotnih gasova, metana, globalnog zagrevanja, promene vlažnosti i intenziteta elektromagnetnog zračenja. Sve ove promene utiču na rasprostranjenost autohtonih vrsta insekata, i dovode do invazije novih, štetnih vrsta čiji poremećaji u vremenskoj i prostornoj sinhronizaciji utiču na njihovo ubrzano razviće, prenamnoženje i produkciju većeg broja generacija u toku jedne sezone, što ih čini još većom pretnjom biljnim vrstama. Osim toga, male, subletalne količine toksikanata izazivaju hormezis i bolju adaptaciju invazivnih vrsta na stresne uslove sredine. Invazivne, dobro adaptirane vrste insekata u uslovima stresa mogu potisnuti izvorne (nativne) vrste, promeniti strukturu staništa i uticati na populacionu strukturu nove zajednice.

Proučavanje entomofaune, njenog diverziteta i fiziološkog stanja populacija, može nam pružiti uvid u očuvanost ekosistema. Ovakav pristup, takođe, može ukazati kako na intenzitet tako i na karakteristike prisutnog zagađenja. Obzirom na sve veće i učestalije globalne promene povećava se potreba za korišćenjem bioindikatora u monitoringu životne sredine. Insekti su osetljivi na temperaturne promene i prisustvo različitih ksenobiotika. Njihov odgovor je vrlo kompleksan i zavisi od genetičkog i biohemijskog potencijala, osobina životne istorije jedinki, dužine životnog ciklusa, gustine insekatskih populacija, kao i od strategije razvića i odbrane biljke domaćina pod istim uslovima. Zbog toga su insekti naročito korisni jer njihova brojnost, raznolikost i rasprostranjenost omogućava ocenu kvaliteta životnih sredina. Međutim, neophodni uslovi za korišćenje određenih insekatskih vrsta u biomonitoringu su:

- Lako gajenje i manipulacija,
- Taksonomska definisanost,
- Osetljivost na male sredinske promene,
- Poznavanje životnog ciklusa vrste i brzine reprodukcije,
- Jeftini model sistemi.

Postoji više nivoa biomonitoringa: biohemijski i fiziološki, individualan nivo (morfološke promene), populacioni, nivo zajednice i nivo ekosistema.

Invazivni insekti se koriste u biomonitoringu: neki predstavnici Lepidoptera su indikatori promena temperature, prisustva teških metala i povećane koncentracije ugljen dioksida (Gilbert 1984, Heliövaara and Väisänen 1990, Ortel 1995a,b), mravi su bioindikatori kvaliteta zemljišta (Petal 1978, Peck et al. 1998,), dok su Bartosova i saradnici (1997) dokazali da muve mogu biti indikatori prisustva teških metala, azbestnih vlakana i otpadnih hemikalija. Deformiteti larvi iz familije Chironomidae povezani su sa povećanim zagađenjem sedimenata (Servia et al. 1998), Gerridae ukazuju na povećanu koncentraciju metala (gvožđa i mangana) u vodenim sredinama (Nummelin et al. 2007), a pčele na prisustvo pesticida (Ghini et al. 2004).

Lymantria dispar (gubar) je jedan od najinvazivnijih insekata severne hemisfere. Može da se hrani sa više od 500 biljnih vrsta. Gubar je gradogena vrsta koja u periodima prenamnoženja može da opustoši milione hektara šuma, agroekosistema i parkova. Spada u vrstu koja je zbog velike plastičnosti dobro adaptirana na različite uslove životne sredine. Zbog svoje velike rasprostranjenosti, brojnosti, proučenih razvojnih faza, poznavanja fiziologije vrste, gubar predstavlja dobar model u monitoringu globalnih promena. U našim istraživanjima na vrsti *Lymantria dispar* posebnu pažnju smo posvetili biohemijskim i fiziološkim parametrima koji su indikatori promena u okruženju (digestivni i enzimi antioksidativnog stresa, HSP, histopatološke promene, kao i osobine fitnesa), i koji mogu biti rani signalizirajući pokazatelji prisustva ksenobiotika u životnoj sredini.

Rezultati promena aktivnosti enzima kao posledica delovanja sredinskih stresora dobijeni su klasičnim biohemijskim metodama, koje su standardizovane za srednje crevo gubara. Elektroforetske tehnike i Western blotting uz korišćenje specifičnih supstrata za pojedine enzime omogućili su detekciju njihovih izoformi, a promene su kvantifikovane korišćenjem programa ImageJ i BioCapt. Sredinski stresori indukuju patološke procese u tkivu srednjeg creva *Lymantria dispar* što je pokazano histohemijskim tehnikama. Pored klasičnih metoda imunohistohemijski smo detektovali promene na nivou neuroendokrinog sistema kao glavnog regulatora odgovora na stres kod insekata.

Pošto najveći broj insekata unosi teške metale u organizam preko hrane, promene aktivnosti enzima srednjeg creva koristimo kao bioindikatore stresa. Prisustvo kadmijuma inhibira osam različitih enzima srednjeg creva. Utvrdili smo da je za vrstu *Lymantria dispar* NOEC i LOEC (no observed effect concentration i lowest observed effect concentration) iznose 10 i 30 $\mu\text{gCd/g}$ suve hrane. Larve prvog stupnja su najosetljivije na kadmijum, tako da se najveći deo ukupnog mortaliteta dešava u prvom stupnju. Interesantno je da smo kod svih analiziranih enzima (ukupne kisele, lizosomalne, alkalne fosfataze, ukupnih proteaza, leucin aminopeptidaze, tripsina, ukupnih esteraza, α i β -glikozidaza) primetili različit stepen inhibicije, dok je jedino kod glutation S-transferaze (GST) prisutan trend rasta aktivnosti u prisustvu kadmijuma. α -glikozidaze, proteolitički enzimi i esteraze nakon hronične izloženost na 30 $\mu\text{gCd-g}$ hrane ne vraćaju aktivnost na kontrolni nivo. U našim istraživanjima najosetljiviji enzim srednjeg creva je leucin aminopeptidaza, pošto je njena aktivnost statistički značajno smanjena na obe koncentracije metala u toku trodnevnog akutnog tretmana. Inhibicija aktivnosti proteolitičkih enzima zavisi od dužine izloženosti metalu, kao i od njegove koncentracije, te bi zato ovi enzimi, uz dalja ispitivanja, mogli biti biomarkeri prisustva kadmijuma u hrani.

Fosfataze i esteraze pored uloge u varenju imaju i niz funkcija u regulaciji hormonskog statusa insekata, otpornosti na insekticide, reprodukciji, apoptozi, rastu i metamorfozi insekata. Utvrdili smo da dugotrajna izloženost kadmijumu (na 10 i 30 $\mu\text{gCd/g}$ suve hrane) smanjuje aktivnost alkalne, kisele i lizosomalne fosfataze, dok se aktivnost ukupne esteraze smanjuje i u toku akutnog tretmana, što ukazuje na veliku osetljivost ovog enzima. Mehanizam regulacije β -glikozidaze i GST na različitim tretmanima se razlikuju od regulacije proteolitičkih enzima, čija je aktivnost međusobno korelisana. Ograničeni energetske resursi u toku stresa teškim metalima stvaraju veliki broj negativnih korelacija između mase gubara četvrtog stupnja α i β -glikozidaze i GST. Osim toga, kvantifikovane su promene izoenzimskih formi u zavisnosti od dužine trajanja i intenziteta izlaganja kadmijumu, kao i od genotipa. Pod uticajem sve većeg zagađenja životne sredine kao i globalnog povećanja temperature menja se metabolizam biljaka kao i količina / tip odbrambenih alelohemikalija biljaka domaćina što izaziva promene proteolitičkih enzima larvi gubara.

Takođe su utvrđene razlike u morfometrijskim i funkcionalnim karakteristikama neurosekretornih neurona mozga, promeni aktivnosti enzima antioksidativne odbrane pod dejstvom kadmijuma, fenolnih alelohemikalija, povišene temperature, povećane gustine gajenja i elektromagnetnog zračenja. Neuroendokrini sistem insekata je osetljiv na stres. Neurohormoni koji se sintetišu u protocerebralnom delu mozga gubara imaju ključnu ulogu u morfogenezi insekata, stresnom odgovoru i metaboličkoj regulaciji (pre svega alaltoregulatorni i proracikotropni hormoni – PTTH). Utvrdili smo da se aktivnost L2 neurosekretornih neurona (zaduženih za sintezu PTTH koji ima važnu morfogenetsku i stres protektivnu ulogu) kod larvi gubara povećava u toku trodnevnog tretmana na 30 i 100 μgCd , dok se aktivnost A1' neurosekretornih neurona povećava na 10, 30 i 100 $\mu\text{gCd/g}$ suve hrane. Osim toga, pri povećanoj gustini gajenja značajno se povećava veličina nukleusa L1 ćelija i broj L2' ćelija. Pri istim uslovima, gustina elektroforetskih traka se smanjuje u regionu molekularnih masa od 11-15 kDa što odgovara masi proracikotropnog hormona. Izlaganje larvi temperaturi od 35°C u toku 1, 12 i 24h smanjuje preživljavanje i stimuliše nagomilavanje neurosekretornog materijala u A1' neuronima. Povećan je intenzitet proteinskih traka, koje po molekularnim masama odgovaraju HSP. U toku trodnevnog delovanja jakog statičnog elektromagnetnog polja (SMF, 235 mT) i ekstremno slabog magnetnog polja (ELF MF, 2mT) registrovane su morfometrijske promene A1' i L2 neurona: povećava se veličina A1' neurona i njihovih nukleusa u SMF, a smanjuju se u ELF MF. Oba magnetna polja deluju inhibitory na L2' neurone.

Konstantno magnetno polje od 50 mT i promenljivo polje (6 mT, 50Hz) povećavaju aktivnost superoksid dismutaze (SOD) i katalaze (CAT), a promenljivo magnetno polje značajno skraćuje razviće vrste *Baculum extradentatum*. Promena dužine razvića zavisi od stresora i stupnja razvića. Hroničan efekat 50 $\mu\text{gCd-g}$ suve hrane statistički značajno produžava razviće četvrtog, petog i šestog larvenog stupnja gubara i smanjuje masu larvi trećeg i četvrtog stupnja. Aktivnost enzima antioksidativne zaštite takođe zavisi od stepena razvića. Manja aktivnost CAT, askorbat peroksidaze i glutation reduktaze je izmerena kod trećeg i petog larvenog stupnja gubara, dok je povećana aktivnost ovih enzima registrovana kod šestog stupnja. Povećana aktivnost GST izmerena je u trećem stupnju.

Jedan od najvažnijih zaključaka do kojih smo došli u ispitivanjima uticaja stresora je da su enzimi mnogo osetljiviji parametri od osobina fitnesa i kao takvi pogodni za korišćenje u biomonitoringu. Ovakva istraživanja su od posebnog značaja jer fluktuacije biohemijskih osobina prethode promenama na morfološkom ili populacionom nivou. Osim toga, enzimski markeri su povezani sa specifičnim ćelijskim strukturama ili funkcijom u organizmu, osetljivi su na promene u strukturi membrane, promene metabolizma, ekskrecije, i, najvažnije, veličina odgovora je često u korelaciji sa intenzitetom ćelijskog oštećenja i jačinom stresa. Takođe, primenom ovakvih istraživanja možemo doći do podataka o adaptaciji invazivnih insekata na različite uslove, njihovoj plastičnosti i razlikama u proteinskoj ekspresiji u odgovoru na stres. Određivanje aktivnosti enzima koji predstavljaju parametre promenljive u svim sredinama i kod brojnih insekatskih vrsta, a specifični su za određenu vrstu toksikanta, njegovu dozu i dužinu izlaganja, značajno je za razjašnjenje zajedničkih mehanizama ključnih za adaptaciju, rasprostranjenje i kontrolu invazivnih insekata u različitim staništima.

Literatura:

- Bartosova, M., Glovinova, E., Povolny, D., (1997), Use of flesh-flies (Diptera, Sarcophagodae) for ecotoxicological bioindication, *Ekol.-Bratislava*, 16: 319-322
- Ghini, S., Fernandez, M., Pico, Y., Marin, R., Fini, F., Manes, J., Girotti, S., (2004), Occurrence and distribution of pesticides in the province of Bologna, Italy, using honeybees as bioindicators, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47: 479-488
- Gilbert, L.E., (1984), *The biology of butterfly communities. The biology of butterfly*, 41-45, Academic Press, London
- Heliövaara, K., Väisänen, R., (1990), Heavy-metal contents in pupae of *Bupalus piniarius* (Lepidoptera: Geometridae) and *Panolis flammea* (Lepidoptera: Noctuidae) near an industrial source, *Environ. Entomol.* 19: 481-485
- Nummelin, M., Lodenius, M., Tulisalo, E., Hirvonen, H., Alanko, T., (2007), Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution, *Environ. Pollut.* 145: 339-347
- Ortel, J., (1995a), Changes in protein content and free amino acid composition in metal-contaminated gypsy moth larvae (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera), *Comp. Biochem. Physiol.* 112C: 291-298
- Ortel, J., (1995b), Effects of metals on the total lipid content in the gypsy moth (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepid.) and its hemolymph, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 55: 216-221
- Peck, S.L., McQuaid, B., Campbell, C.L., (1998), Using ant species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicator of agroecosystem condition, *Environ. Entomol.* 27: 1102-1110
- Petal, J., (1978), Adaptation of ants to industrial pollution, *Memorabilia Zool.* 29: 99-108
- Servia, M.J., Cobo, F., Gonzalez, M., (1998), Deformities in larval *Prodiamesa olivacea* (Meigen, 1818) (Diptera, Chironomidae) and their use as bioindicators of toxic sediment stress, *Hydrobiol.* 385: 153-162