

## Przeżywalność i wzrost pędraków *Melolontha* spp. na korzeniach głównych gatunków drzew leśnych

Survival and growth of the *Melolontha* spp. grubs on the roots of the forest's main tree species

Danuta Woreta, Lidia Sukovata\*

Instytut Badawczy Leśnictwa, Zakład Ochrony Lasu, ul. Braci Leśnej 3, Sękocin Stary, 05-090 Raszyn

\* Tel. +48227153832, e-mail: L.Soukovata@ibles.waw.pl

**Abstract.** The survival, weight and relative growth rate (RGR) of the *Melolontha* spp. grubs feeding on roots of *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Fagus sylvatica*, *Betula pendula*, *Larix decidua*, *Alnus glutinosa* and *Pinus sylvestris* were examined.

Overall, the youngest grubs, L1, were the most affected by food quality. The mortality of the grubs feeding on the roots of *A. glutinosa* changed most rapidly and, consequently, LT50 was the shortest (25.9 days), whereas the slowest changes in mortality with the highest LT50 values were observed on the two oak species (54.9 and 44.9 days on *Q. robur* and *Q. petraea*, respectively). The RGRs of the L1 grubs were the highest on oaks, *F. sylvatica* and *B. pendula*. The overall rate of survival of the older grubs was high (66.7-100%). It was the lowest on the roots of *B. pendula* (L2 grubs) and *L. decidua* (L3 grubs), which at the same time displayed the highest RGRs.

The interpretation of the results is difficult due to the lack of basic knowledge on the potential effects of food quality and other factors on grub metamorphosis. There is no doubt, however, that among the seven tested tree species the roots of *A. glutinosa* are the least favorable for the *Melolontha* grubs' performance.

**Key words:** *Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Fagus sylvatica*, *Betula pendula*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, relative growth rate, mortality, food quality

### 1. Wstęp

Chrabąszcz majowy *Melolontha melolontha* (L.) i chrabąszcz kasztanowiec *M. hippocastani* F. (Scarabaeidae) są szczególnie groźnymi szkodnikami leśnymi ze względu na żerowanie ich larw na korzeniach roślin, w tym drzew i krzewów, co często prowadzi do zamierania upraw i uniemożliwia odnowienie lasu.

W latach powojennych powstała konieczność zalesienia znacznych powierzchni różnego rodzaju nieużytków i mało produktywnych gruntów porolnych, w dużym stopniu zasiedlonych przez pędraki (Woreta, Skrzecz 1996). W tamtym okresie były stosowane chemiczne środki ochrony roślin o dużej skuteczności (DDT, HCH), co przyczyniło się do zmniejszenia po-

wierzchni występowania pędraków do poziomu nieprzekraczającego 500 ha w latach 1980–1993 (Woreta 1994). Szkodliwe dla środowiska środki ochrony roślin z czasem zastępowano nowymi. Te nowe środki ochrony (z grupy pyretroidów), o mniejszym działaniu ubocznym na środowisko, wykazywały dużą skuteczność w walce z imagines chrabąszczy (Woreta 1999). W ostatnim czasie, w trosce o środowisko naturalne, Parlament Europejski wprowadził przepisy prawne, na mocy których wycofano niemalże wszystkie insektycydy dołgobowe (m.in. Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1107/2009 z dnia 21 października 2009 r.). Brak skutecznych środków ochrony roślin przyczynił się do zwiększenia powierzchni upraw leśnych zagrożonych ze strony pędraków *Melolontha*

spp. Uszkodzone przez pędraki sadzonki zamierają, co powoduje konieczność wykonywania poprawek lub ponownego zalesienia przypadłej uprawy. Od 1966 r. do 2005 r. udział procentowy powierzchni upraw przeznaczonych do poprawek nie przekraczał 21%, podczas gdy po tym okresie wahał się już od 26 do 53%. W związku z trwającą od wielu lat gradacją *Melolontha* spp. na terenie kraju powstały stałe „pędraczyska”, czyli miejsca stałego występowania pędraków, w których odnowienie lasu jest bardzo utrudnione z powodu ciągłego uszkodzania korzeni sadzonek.

Ograniczenie stosowania insektycydów spowodowało zwiększenie zainteresowania innymi, niechemicznymi sposobami ochrony upraw, m.in. hodowlanymi, agrotechnicznymi i biologicznymi. Przeprowadzone przez nas badania miały na celu określenie wpływu rodzaju pokarmu (sadzonyki różnych gatunków lasotwórczych) na przeżywalność i masę ciała pędraków. Uzyskana wiedza może być przydatna na etapie doboru składu gatunkowego przy zakładaniu upraw leśnych na terenach o dużej liczebności populacji *Melolontha* spp.

## 2. Materiały i metody badań

### Obiekty doświadczeń

Doświadczenia przeprowadzono z wykorzystaniem pędraków *Melolontha* spp. wszystkich stadiów rozwojowych: L1, L2 i L3. Stadia pędraków określono na podstawie szerokości puszki głowowej (Śliwa 1993). Identyfikacja pędraków do gatunku była niemożliwa ze względu na brak wiarygodnych metod (Krell 2004). Z pewnym prawdopodobieństwem można jednak przyjąć, że większość pędraków w stadium L2 i L3 wykorzystanych w doświadczeniach należała do *M. hippocastani* (z osobników, które przeżyły, rozwinęły się imago tego gatunku).

Za pokarm dla pędraków posłużyły sadzonki następujących gatunków drzew lasotwórczych: dąb szypułkowy (*Quercus robur* L.), dąb bezszypułkowy [*Q. petraea* (Matt.) Liebl.], buk zwyczajny (*Fagus sylvatica* L.), brzoza brodawkowata (*Betula pendula* Roth.), olsza czarna [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.], modrzew europejski (*Larix decidua* Mill.) i sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.).

### Układ doświadczalny

Badania nad rozwojem i przeżywalnością pędraków żerujących na sadzonkach wybranych gatunków drzew przeprowadzono w latach 2011 i 2012 w szklarni Instytutu Badawczego Leśnictwa.

W 2011 r. założono doświadczenie z pędrakami w stadium L2. Trwało ono od 20 maja do 29 września. Pędraki do tego doświadczenia zebrano wiosną na terenie Nadleśnictwa Kozienice (Regionalna Dyrekcja Lasów Państwowych w Radomiu), przeszukując glebę do głębokości 20–30 cm. Do hodowli pędraków wykorzystano dwuletnie sadzonki, które pochodziły ze szkółek w nadleśnictwach: Grójec i Chojnów (RDLP w Warszawie), Ostrowiec Świętokrzyski (RDLP w Radomiu) i Pniewy (RDLP w Poznaniu).

W 2012 r., w ramach doświadczenia z pędrakami w stadium L3, wykorzystano osobniki z opisanego wyżej doświadczenia, które w drugiej połowie 2011 r. przeszły wylinkę, a następnie przezimowały w szklarni. Pędraki L3 hodowano w okresie od 20 kwietnia do 27 czerwca na korzeniach dwuletnich sadzonek pozyskanych ze szkółek leśnych należących do nadleśnictw: Pniewy, Chojnów i Grójec.

W 2012 r. założono także doświadczenie z pędrakami L1 zebranymi na terenie Nadleśnictwa Lubartów (RDLP w Lublinie). Pędraki L1 hodowano na korzeniach jednorocznych sadzonek ze szkółki kontenerowej w Nadleśnictwie Jabłonna (RDLP w Warszawie), a doświadczenie trwało od 28 maja do 18 września.

Pędraki umieszczano w doniczkach z glebą (ziemia ogrodowa firmy Agrohumi, Łomianki, Polska) i sadzonkami poszczególnych gatunków drzew (1 sadzonka na doniczkę): po dwa pędraki w stadium L1 lub po jednym pędraku w stadium L2 lub L3 w każdej doniczce. Doświadczenie z pędrakami L2 przygotowano w 15 powtórzeniach dla każdego gatunku rośliny, a z pędrakami L1 i L3 – w 10 powtórzeniach. Pędraki L3 umieszczano w doniczkach z sadzonkami tych samych gatunków roślin, na których żerowały w roku poprzednim.

Każdy pędrak, przed wprowadzeniem go do ziemi, został zważony z dokładnością do 0,001 g na wadze AD 300 (Axis sp. z o.o., Gdańsk, Polska). Ocenę żywotności i masy ciała pędraków prowadzono we wszystkich doświadczeniach co 2–3 tygodnie. Podczas każdej oceny, jak również w przypadku uschnięcia sadzonki, rośliny wymieniano na nowe.

### Analiza matematyczna i statystyczna

Do oceny tempa zamierania pędraków w różnych stadiach rozwojowych żerujących na korzeniach poszczególnych gatunków drzew oraz do określenia czasu niezbędnego do zamarcia 50% osobników (LT50) zastosowano uogólniony model liniowy (GLZ) z dwumianowym rozkładem zmiennej zależnej i funkcją wiążącą typu probit. GLZ zastosowano także do porównania dynamiki (zmian w czasie) przeżywalności i masy ciała pędraków żerujących na gatunkach drzew zestawionych parami – każdy z każdym. W przypadku analizy masy

ciała zmienna ta charakteryzowała się rozkładem normalnym, a funkcja wiążąca miała postać log w przypadku pędraków L1 oraz postać identycznościową w przypadku pędraków L2 i L3. Do budowania modeli zastosowano metodę największej wiarygodności (Stanisz 2007). Czas od początku doświadczenia do kolejnych ocen zdrowotności i masy ciała mierzono liczbą dni, a przeżywalność – liczbą pędraków żywych (kod 0) i martwych (kod 1).

Do oceny rozwoju pędraków wykorzystano względny przyrost masy ciała (relative growth rate, RGR), który obliczono wg wzoru (Lazarević et al. 2002):

$$RGR = \frac{M_t - M_0}{T_{t-0} \times M_0}$$

gdzie:

$M_0$  i  $M_t$  – początkowa i końcowa masa ciała owada (g),

$T_{t-0}$  – liczba dni między początkowym i końcowym ważeniem (d).

Wartość RGR obliczano w każdym roku za okres od początku doświadczenia do drugiej połowy sierpnia. Wynika to z faktu, iż w późniejszym okresie pędraki zaczynają przygotowywać się do hibernacji i żerują mniej intensywnie, co powoduje spadek masy ciała.

Dla porównania średnich wartości RGR pędraków żerujących na korzeniach sadzonek różnych gatunków drzew zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji, a w przypadku niespełnienia jej założeń – nieparametryczny test Kruskala-Wallisa, a następnie porównanie średnich rang.

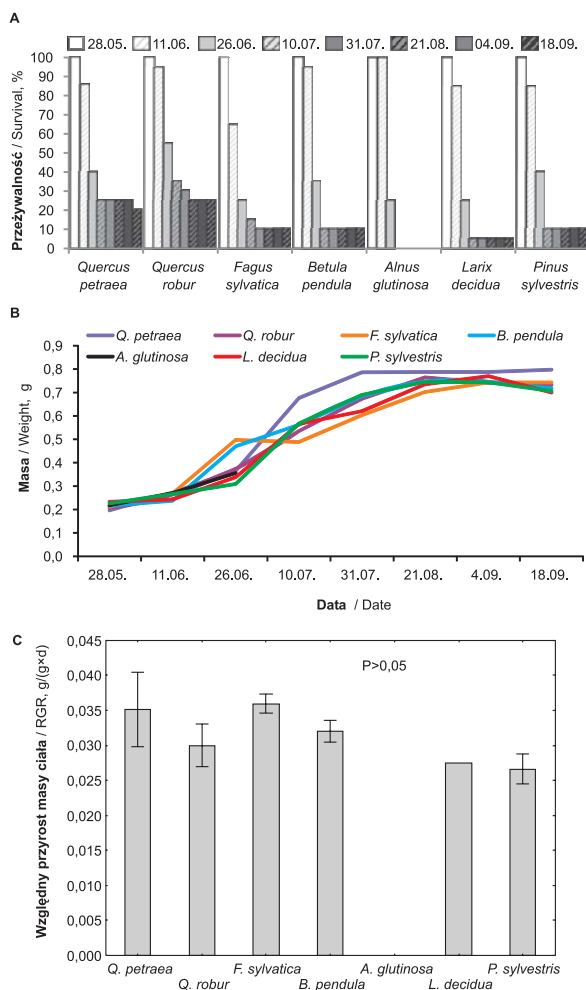
Analizy przeprowadzono za pomocą programu Statistica 10 (StatSoft, Inc. 2011) przy założonym poziomie istotności  $\alpha=0,05$ .

### 3. Wyniki

#### Pędraki pierwszego stadium

##### Przeżywalność

Pędraki L1 zebrane wiosną 2012 r. na terenie Nadleśnictwa Lubartów charakteryzowały się słabą vitalnością. Znaczna śmiertelność miała miejsce już w początkowej fazie doświadczenia (ryc. 1A). Od 28 maja do 18 września przeżyło średnio zaledwie 11,4% pędraków, najwięcej wśród żerujących na korzeniach *Q. robur* (25%) i *Q. petraea* (20%). Pędraki hodowane na tych dwóch gatunkach drzew charakteryzowały się także największym wskaźnikiem LT50 – odpowiednio 54,9 i 44,9 dni (tab. 1). U osobników hodowanych na pozostałych gatunkach drzew wskaźnik ten wahał się od 25,9 do 35,4 dni. Duża wartość LT50 u pędraków żerujących na korzeniach obu gatunków dębu wskazuje na powolne



**Rycina 1. Przeżywalność (A) i zmiana masy ciała (B) pędraków L1 *Melolontha* spp. żerujących na korzeniach sadzonek różnych gatunków drzew w okresie 28 maja–18 października 2012 r. oraz względny przyrost masy ciała (średnia ± błęd std.) uzyskany do 21 sierpnia (C) Figure 1. Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L1 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of plants of various tree species in the period of 28 May–18 October 2012 and relative growth rate (RGR, mean ± SE) reached before 21 August (C)**

tempo ich zamierania, które różniło się istotnie od tempa zamierania pędraków odżywiających się korzeniami *L. decidua* i *A. glutinosa*, a w przypadku pędraków żerujących na *Q. petraea* było ono wolniejsze także w porównaniu z osobnikami hodowanymi na korzeniach *B. pendula* (tab. 2). Śmiertelność pędraków żerujących na korzeniach *A. glutinosa* wyniosła 100% już 10 lipca, a dynamika ich zamierania istotnie różniła się od tej na wszystkich innych gatunkach drzew (ryc. 1A, tab. 2).

## Masa ciała

Zmiana średniej masy ciała pędraków L1 żerujących na korzeniach sadzonek różnych gatunków drzew miała zbliżony charakter (ryc. 1B). W czerwcu w większym stopniu zwiększała się masa ciała osobników rozwi-

jających się na sadzonkach *F. sylvatica* i *B. pendula*, a w lipcu – na sadzonkach *Q. petraea*. Stwierdzone różnice w tempie zmian masy ciała pędraków nie były jednak statystycznie istotne ( $P > 0,05$ ).

RGR pędraków żerujących na różnych gatunkach drzew w okresie do 21 sierpnia był dodatni i nie różnił się

**Tabela 1. Wyniki budowy uogólnionego modelu regresji opisującego zależność śmiertelności pędraków L1 *Melolontha* spp. od czasu oraz obliczone wartości LT50**

Table 1. The results of building the generalized regression model describing the dependence of the L1 *Melolontha* spp. grubs mortality on time and calculated values of LT50

Gatunek drzewa Tree species	df	Log – największej wiarygodności Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>	LT50 [dni / days]
<i>Q. petraea</i>	1	-89,32	40,13	<0,0001	44,9
<i>Q. robur</i>	1	-87,21	47,29	<0,0001	54,9
<i>F. sylvatica</i>	1	-72,06	53,01	<0,0001	26,2
<i>B. pendula</i>	1	-67,27	72,64	<0,0001	35,4
<i>A. glutinosa</i>	1	-11,88	166,18	<0,0001	25,9
<i>L. decidua</i>	1	-55,43	82,90	<0,0001	27,9
<i>P. sylvestris</i>	1	-68,83	68,26	<0,0001	34,0

**Tabela 2. Porównanie dynamiki zamierania pędraków L1 *Melolontha* spp. żerujących na korzeniach 7 gatunków drzew (analizę przeprowadzono dla każdej pary drzew; wyniki przedstawiono jedynie dla par drzew, dla których interakcja gatunku drzewa i czasu zamierania pędraków była statystycznie istotna)**

Table 2. Comparison of mortality dynamics of the L1 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of 7 tree species (the analysis was done for each pair of tree species; the results are presented only for the pairs, for which the interaction of tree species with time was statistically significant)

Pary porównywanych gatunków drzew Pairs of compared tree species	df	Log – największej wiarygodności Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>
<i>Q. petraea</i> vs <i>B. pendula</i>	1	-156,59	4,00	0,0456
<i>Q. petraea</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-144,75	8,45	0,0037
<i>Q. petraea</i> vs <i>A. glutinosa</i>	1	-101,20	66,50	<0,0001
<i>Q. robur</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-142,64	6,48	0,0109
<i>Q. robur</i> vs <i>A. glutinosa</i>	1	-99,09	62,87	<0,0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>F. sylvatica</i>	1	-83,94	55,35	<0,0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>B. pendula</i>	1	-79,15	48,29	<0,0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-67,31	38,90	<0,0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>P. sylvestris</i>	1	-80,71	49,90	<0,0001

**Tabela 3. Wyniki budowy uogólnionego modelu regresji opisującego zależność śmiertelności pędraków L2 *Melolontha* spp. od czasu oraz obliczone wartości LT50 (n.i. – wynik nieistotny statystycznie przy  $\alpha=0,05$ )**

Table 3. The results of building the generalized regression model describing the dependence of the L2 *Melolontha* spp. grubs mortality on time and calculated values of LT50 (n.s. – the result is not statistically significant at  $\alpha=0,05$ )

Gatunek drzewa Tree species	df	Log – największej wiarygodności Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>	LT50 [dni / days]
<i>Q. petraea</i>	1	-41,75	6,92	0,0085	195,0
<i>Q. robur</i>	1			n.i. / n.s.	-
<i>F. sylvatica</i>	1	-46,77	4,37	0,0366	222,5
<i>B. pendula</i>	1	-52,18	12,90	0,0003	147,1
<i>A. glutinosa</i>	1	-46,94	10,98	0,0009	161,4
<i>L. decidua</i>	1			n.i. / n.s.	-
<i>P. sylvestris</i>	1			n.i. / n.s.	-

statystycznie istotnie, chociaż w niektórych przypadkach różnice były prawie dwukrotne. Brak istotności wynikał z dużej zmienności tej cechy w ramach poszczególnych gatunków drzew. Największe wartości RGR stwierdzono u pędraków żerujących na korzeniach *Q. petraea* i *F. sylvatica*, a najmniejsze – u pędraków żerujących na *P. sylvestris* i *L. decidua* (bez uwzględnienia osobników hodowanych na olszy, ponieważ przeżyły one tylko do 10 lipca) (ryc. 1C). Po 21 sierpnia stwierdzono spadek masy ciała pędraków żerujących na korzeniach *P. sylvestris*, *B. pendula* i *Q. robur*, a po 4 września także ciała pędraków rozwijających się na korzeniach *L. decidua* (ryc. 1B).

### Pędraki drugiego stadium

#### Przeżywalność

Przeżywalność pędraków L2 żerujących na korzeniach wszystkich badanych gatunków drzew była wysoka, a najwyższa (100%) w przypadku pędraków żerujących na korzeniach *Q. robur* i *P. sylvestris* (ryc. 2A). Największą śmiertelność z kolei odnotowano spośród pędraków hodowanych na korzeniach *B. pendula* i *A. glutinosa* – odpowiednio 33,3 i 26,6%. Dla tych osobników LT50 był najkrótszy, odpowiednio 147,1 i 161,4 dni, tj. około 5 miesięcy, podczas gdy w przypadku pędraków żerujących na *F. sylvatica* LT50 wyniósł 222,5 dni (tab. 3), tj. ponad 7 miesięcy, co przekracza długość okresu ich rozwoju w ciągu jednego sezonu wegetacyjnego. Dynamika zamierania pędraków na różnych gatunkach drzew nie różniła się statystycznie istotnie ( $P > 0,05$ ). Dużą śmiertelność stwierdzono w czasie przechodzenia pędraków ze stadium L2 w L3, tzn. w lipcu.

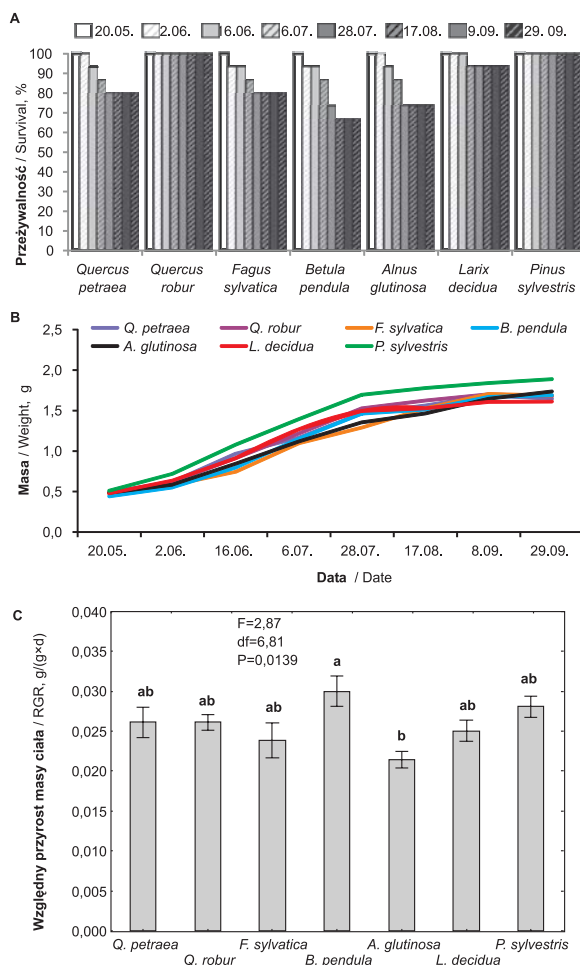
#### Masa ciała

Przez pierwsze dwa miesiące obserwacji masa ciała pędraków zmieniała się w większym tempie niż w późniejszym okresie (ryc. 2B). Dynamika wzrostu masy ciała pędraków żerujących na korzeniach wszystkich badanych roślin była podobna i nie różniła się istotnie statystycznie. Jedynie RGR pędraków żerujących na korzeniach sadzonek *B. pendula* w okresie do 17 sierpnia był istotnie większy niż pędraków żerujących na korzeniach *A. glutinosa* (ryc. 2C). RGR pędraków L2 był dodatni w hodowli na wszystkich gatunkach drzew.

### Pędraki trzeciego stadium

#### Przeżywalność

Przeżywalność pędraków L3 była wysoka i pod koniec czerwca 2012 r. wahała się od 70% w hodowli na sadzonkach *L. decidua* i *A. glutinosa* do 100% na sa-



**Rycina 2. Przeżywalność (A) i zmiana masy ciała (B) pędraków L2 *Melolontha* spp. żerujących na korzeniach sadzonek różnych gatunków drzew w okresie 20 maja–29 września 2011 r. oraz względny przyrost masy ciała (średnia ± błąd std.) uzyskany do 17 sierpnia (C) (różne litery wskazują na statystycznie istotne różnice przy  $\alpha=0,05$ )**

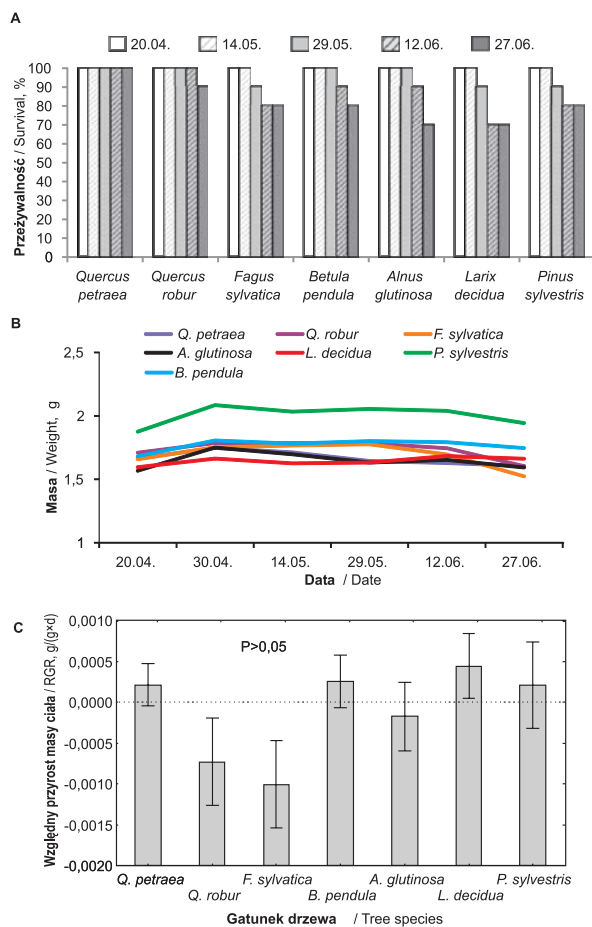
Figure 2. Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L2 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of saplings of various tree species in the period of 20 May–29 September 2011 and relative growth rate (RGR, mean  $\pm$  SE) reached before 17 August (different letters indicate statistically significant differences at  $\alpha = 0.05$ ) (C)

dzonkach *Q. petraea* (ryc. 3A). Gatunek drzewa nie miał istotnego wpływu na tempo zamierania pędraków ( $P > 0,05$ ). Zamierały one głównie w okresie przygotowania się do przejścia ze stadium L3 w stadium poczwarki.

#### Masa ciała

Średnia masa ciała pędraków L3 żerujących na korzeniach *P. sylvestris* była większa niż masa ciała

pędraków żerujących na innych gatunkach roślin (ryc. 3B), co wynika z faktu, iż w poprzednim roku (2011)



**Rycina 3. Przeżywalność (A) i zmiana masy ciała (B) pędraków L3 *Melolontha* spp. żerujących na korzeniach sadzonek różnych gatunków drzew w okresie 20 kwietnia – 27 czerwca 2012 r. oraz względny przyrost masy ciała (średnia ± błąd std.) uzyskany do 27 czerwca (C)**

Figure 3. Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L3 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of saplings of various tree species in the period of 20 April – 27 June 2012 and relative growth rate (RGR, mean ± SE) reached before 27 June (C)

zwiększyły one najbardziej swoją masę. W kwietniu i maju 2012 r. średnia masa ciała pędraków ulegała nieznacznym zmianom, a najmniejsze wahania stwierdzono w przypadku pędraków na sadzonkach *L. decidua* i *B. pendula*. Z kolei u pędraków odżywiających się korzeniami *Q. petraea* i *A. glutinosa* już od końca kwietnia następował spadek masy ciała. U pędraków żerujących na pozostałych gatunkach drzew wyraźny spadek masy ciała zaobserwowano dopiero w czerwcu. Pod koniec tego miesiąca wszystkie pędraki hodowane na tych gatunkach znajdowały się już w kolebkach poczwarkowych. Tempo zmian masy ciała pędraków hodowanych w doniczkach z sadzonkami *L. decidua* było istotnie mniejsze niż w przypadku pędraków hodowanych w doniczkach z *Q. petraea* i *Q. robur* (tab. 4). Również istotna była różnica tempa zmian masy ciała pędraków rozwijających się na *B. pendula* i *Q. petraea*.

Gatunek drzewa nie miał istotnego wpływu na RGR pędraków. Należy jednak zaznaczyć, że dodatni RGR miały pędraki na sadzonkach czterech z siedmiu badanych gatunków drzew: *L. decidua*, *Q. petraea*, *B. pendula* i *P. sylvestris* (ryc. 3C). Na pozostałych trzech gatunkach drzew RGR pędraków był ujemny, a najmniejszy w przypadku osobników żerujących na *F. sylvatica* i *Q. robur*.

## 4. Dyskusja

Pędraki *Melolontha* spp. żerują na korzeniach różnych gatunków roślin, jednak nie świadczy to o braku wpływu jakości pokarmu na ich rozwój. W literaturze można znaleźć zaledwie kilka wzmianek o negatywnym wpływie niektórych roślin zielnych – np. gryki zwyczajnej (*Fagopyrum esculentum* Moench) i gryki tatarskiej [*F. tataricum* (L.) Gaertn.] z rodziny Polygonoaceae, owsa głuchego (*Avena fatua* L.) i perzu właściwego [*Elymus repens* (L.) Gould.] z rodziny Poaceae oraz komosy białej (*Chenopodium album* L.) z rodziny Amaranthaceae (Satkowski 1899; Rożyński 1926; Ulatowski, 1932; 1933; Hauss i Schütte 1976; Malinowski et al. 2001) – na liczebność lub wzrost tych szkodników.

**Tabela 4. Porównanie dynamiki masy pędraków L3 *Melolontha* spp. żerujących na korzeniach 7 gatunków drzew (analizę przeprowadzono dla każdej pary gatunków drzew; wyniki przedstawiono jedynie dla par drzew, dla których interakcja gatunku drzewa i czasu zamierania pędraków była statystycznie istotna)**

Table 4. Comparison of weight dynamics of the L3 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of 7 tree species (the analysis was done for each pair of tree species; the results are presented only for the pairs, for which the interaction of tree species with time was statistically significant)

Pary porównywanych gatunków drzew Pairs of compared tree species	df	Log – największej wiarygodności Log likelihood	$\chi^2$	P
<i>L. decidua</i> vs <i>Q. petraea</i>	1	26,11	8,52	0,0035
<i>L. decidua</i> vs <i>Q. robur</i>	1	21,01	4,14	0,0419
<i>Q. petraea</i> vs <i>B. pendula</i>	1	22,52	4,39	0,0361

Poza tym, obserwacje te w większości przypadków nie były poparte szczegółowymi badaniami. Wpływ roślin drzewiastych na pędraki badano jeszcze rzadziej i opisano jedynie w dwóch pracach. W doświadczeniu z pędrakami *M. hippocastani* Gur'anova (1954) wykazała, że najbardziej sprzyjającym dla wzrostu pędraków L1 gatunkiem drzewa żywicielskiego była *B. pendula*, a dla pędraków L2 – *P. sylvestris*. W obu przypadkach pędraki były cięższe niż osobniki żerujące na korzeniach *Q. robur*. Poza tym, ich ciała zawierały najwięcej ciałek tłuszczowych, co zwiększa ich szanse na przetrwanie w niesprzyjających warunkach. W doświadczeniu z *M. hippocastani* pędraki L2 zostały dodatkowo poddane 40-dniowej głodówce i okazało się, że wśród osobników, które wcześniej żerowały na korzeniach *P. sylvestris*, przeżyło 75%, na korzeniach *B. pendula* – 62,5%, a na korzeniach *Q. robur* – jedynie 37,5%. Berezina (1957) na podstawie oceny rozwoju pędraków *M. hippocastani* na korzeniach 7 gatunków drzew i krzewów sugeruje, że intensywny rozwój pędraków był związany z dużą zawartością cukrów i małym udziałem ogólnego azotu w korzeniach badanych roślin. Zależność ta nie była jednak stała, na co wskazuje sama autorka, ani nie została poddana analizie statystycznej. Ogólnie znany jest pozytywny wpływ zwiększenia stosunku azotu do węgla na rozwój owadów (White 1984; Lincoln et al. 1993; Awmack, Leather 2002). Jakkolwiek cukry są ważnym źródłem energii, to zapotrzebowanie na nie szybko rozwijających się owadów może być znacznie mniejsze niż owadów o powolnym rozwoju i wyższej aktywności ruchowej (Schoonhoven et al. 2005). Do tych ostatnich można zaliczyć pędraki *Melolontha* spp., których rozwój trwa średnio 3 lata i którym do przemieszczania się w glebie niezbędna jest znaczna ilość energii.

W naszych doświadczeniach największą śmiertelność pędraków stwierdzono w okresie linienia i przechodzenia w kolejne stadia rozwojowe. Mogło to być związane z dużym wpływem m.in. jakości pokarmu na aktywność hormonów – juvenilnego i protorakotropowego, odpowiedzialnych za wzrost i linienie stawonogów (Lee et al. 2012; Andersen et al. 2013; Nijhout et al. 2014; Sangsuriya et al. 2014). Pędraki L1 charakteryzowały się najsłabszą witalnością, prawdopodobnie ze względu na obecność patogenów w populacji, z której zostały pobrane (obserwowano wysoką śmiertelność pędraków po przetransportowaniu ich z terenu do laboratorium). Jedynie w przypadku tego stadium wykazano istotny wpływ jakości pokarmu (gatunku drzewa) na tempo zamierania, co mogło być wynikiem interakcji z osłabioną odpornością (DiAngelo et al. 2009). Najszybciej zamierały pędraki żerujące na korzeniach sadzonek *A. glutinosa*, a najwolniej – na korzeniach *Q. robur* i *Q. petraea*. Przeżywalność pędraków L2 i L3 była

względnie wysoka (66,7–100%) na wszystkich gatunkach drzew. Największą przeżywalność pędraków L2 (100%) stwierdzono wśród osobników odżywiających się korzeniami *P. sylvestris* i *Q. robur*, a pędraków L3 – żerujących na korzeniach *Q. petraea*.

Pędraki najintensywniej przyrastały w stadium L1 i L2. Pędraki L1 w trakcie trwania doświadczenia od 28 maja do 18 września zwiększyły masę ciała średnio o ponad 300%. Z kolei średnia masa ciała pędraków L2 żerujących na korzeniach badanych roślin, w czasie 4 miesięcy trwania doświadczenia, wzrosła o ok. 250%. Schwerdtfeger (1939) stwierdził, że wyrosnięte pędraki *M. hippocastani* na krótko przed przepoczwarczeniem osiągają masę 1670 mg, a *M. melolontha* – 3190 mg. W naszych doświadczeniach średnia masa wszystkich pędraków L3 w dniu 12 czerwca wyniosła 1750 mg, co wskazywało na ich przynależność do gatunku *M. hippocastani*, a po przejściu przez stadium poczwarki zostało potwierdzone pojawieniem się w doniczkach imagines tego gatunku.

Jakość pokarmu nie miała istotnego wpływu na tempo zmian masy ciała, jednak pędraki L2 w hodowli na sadzonkach *B. pendula* osiągnęły istotnie większy RGR niż na *A. glutinosa*. Jednocześnie zaobserwowano bardzo interesujące zjawisko związane ze zmianą masy ciała pędraków w stadium L3. Średnia masa ciała przyrastała w nieznacznym stopniu, głównie u osobników żerujących na korzeniach *L. decidua*, a w przypadku osobników żerujących na dwóch innych gatunkach: *Q. petraea* i *A. glutinosa*, zaczęła zmniejszać się już od końca kwietnia. Masa korzeni sadzonek poszczególnych gatunków drzew nie była analizowana, więc trudno powiedzieć, czy mogła ona mieć wpływ na przyrost masy ciała pędraków. Niemniej jednak system korzeniowy dwuletnich sadzonek *P. sylvestris* jest znacznie mniej rozbudowany niż sadzonek *F. sylvatica* i *A. glutinosa* (własne obserwacje), podczas gdy parametry życiowe pędraków na tych gatunkach nie odzwierciedlały tych różnic. Wzrost ciała u owadów w ostatnim stadium larwalnym trwa zazwyczaj do momentu osiągnięcia tzw. masy krytycznej (Davidowitz et al. 2003, 2004). Później larwy przestają żerować i następuje okres poszukiwania odpowiedniego miejsca do przepoczwarczenia, w czasie którego może dochodzić do utraty masy ciała (Nijhout et al. 2014). Tym prawdopodobnie należy tłumaczyć spadek masy ciała pędraków L3, przy czym osobniki żerujące na *Q. petraea* i *A. glutinosa* przypuszczalnie najwcześniej osiągnęły progową wartość. Zaskakujące jest, że jedynie dwa pędraki przeszły w stadium poczwarki względnie wcześniej, tzn. na przełomie maja i czerwca, natomiast reszta osobników przepoczwarczyła się miesiąc później, na przełomie czerwca i lipca. Długość okresu poszukiwania miejsca przepoczwarczenia zależała od stężenia juvenilnego i protorakotropowego

hormonu. Zazwyczaj przed przepoczwarczeniem stężenie pierwszego z wymienionych hormonów spada radykalnie, drugiego natomiast wzrasta w kilku etapach, ale jego wydzielanie jest uzależnione od fotoperiodu (Truman 1972; Truman, Riddiford 1974; Cymborowski 1984). W przypadku pędraków rozwijających się w glebie, bez dostępu światła, przebieg tych procesów zależy prawdopodobnie od innych, genetycznie zakodowanych czynników, które zapobiegają zbyt wczesnemu przepoczwarczeniu i ewentualnemu wylęgowi postaci dorosłych.

Stwierdzone przez nas zależności przyrostu masy ciała od gatunku drzewa jedynie częściowo potwierdziły wyniki uzyskane przez Gur'ânovą (1954) i Berezinę (1957). W hodowli na korzeniach sadzonek *B. pendula* pędraki wszystkich stadiów rozwojowych charakteryzowały się największym lub jednym z największych RGR, a dynamika zmiany masy ciała pędraków w stadium L3 istotnie różniła je od osobników żerujących na *Q. petraea*. Przeżywalność była jednak ogólnie niższa niż osobników żerujących na korzeniach obu gatunków dębu. RGR pędraków hodowanych w doniczkach z sadzonkami *P. sylvestris* był dość duży, ale jedynie w przypadku osobników w stadiach rozwojowych L2 i L3 był większy niż pędraków hodowanych na *Q. robur*.

Wpływ jakości pokarmu, a szczególnie zawartości azotu (białka) i cukrów, na rozwój pędraków nie jest do końca wyjaśniony. Z jednej strony, cukry zapewniają pędrakom energię do przemieszczania się w tak trudnym środowisku, jakim jest gleba, w celu znalezienia pokarmu. Są one znane także jako fagostymulanty u wielu gatunków owadów (Johnson i Gregory 2006). Badania z roślinami zielnymi wykazały istotny dodatni wpływ zawartości cukru w ich korzeniach na przyrost masy ciała i udział procentowy pędraków L1, które przeszły wylinkę (Sukovata et al., w druku). Z drugiej strony, wzrost larw owadów generalnie zależy od ilości aminokwasów pochodzących z białek obecnych w pokarmie, a ich niedobór powoduje znaczne spowolnienie rozwoju i zwiększenie udziału zamierających osobników (Lee et al. 2012; Andersen et al. 2013). Procesy fizjologiczne, które zachodzą w ciele pędraków w trakcie ich rozwoju, oraz wpływ na nie jakości pokarmu i innych czynników wymagają podjęcia badań zarówno z punktu widzenia poznawczego, jak i praktycznego.

## 5. Podsumowanie

Przeprowadzone badania miały na celu ocenę przeżywalności i tempa rozwoju pędraków *Melolontha* spp. w różnych stadiach rozwojowych żerujących na korzeniach sadzonek 7 głównych gatunków lasotwórczych:

*Q. petraea*, *Q. robur*, *F. sylvatica*, *B. pendula*, *A. glutinosa*, *L. decidua* i *P. sylvestris*.

Największą wrażliwością na rodzaj pokarmu, wyższą zwiększoną śmiertelnością, charakteryzowały się najmłodsze pędraki (stadium L1). Tempo ich zamierania było najszybsze w przypadku odżywiania się korzeniami *A. glutinosa*, a najwolniejsze – na obu gatunkach dębu. Pędraki żerujące na dębach oraz na *F. sylvatica* i *B. pendula* miały również największy względny przyrost masy ciała. Przeżywalność starszych pędraków była dość wysoka (66,7–100%). Najwięcej zamierało ich, podobnie jak pędraków L1, w hodowli na *A. glutinosa*, a w następnej kolejności na *B. pendula* (pędraki L2) i *L. decidua* (pędraki L3). Mimo względnie dużej śmiertelności, pędraki L2 i L3 żerujące na dwóch ostatnich gatunkach osiągnęły największy RGR.

Interpretacja uzyskanych wyników jest dość trudna ze względu na brak podstawowej wiedzy w zakresie przebiegu procesów metamorfozy pędraków, co dotyczy zwłaszcza ostatniego stadium. Słabo poznany pozostaje wpływ na te procesy takich czynników, jak jakość pokarmu i warunki środowiskowe. Nie ulega jednak wątpliwości, że spośród siedmiu badanych gatunków drzew, korzenie *A. glutinosa* stanowią najmniej sprzyjający pokarm dla rozwoju pędraków *Melolontha* spp. Informacja ta powinna być uwzględniona przy planowaniu zabiegów hodowlanych na stałych pędraczyskach.

## Podziękowania

Pragniemy serdecznie podziękować Sławomirowi Lipińskiemu i Robertowi Wolskiemu za pomoc w pracach laboratoryjnych.

Badania przeprowadzono w ramach projektu rozwojowego sfinansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (nr umowy NR12-0096-10/2010).

## Literatura

- Andersen D.S., Colombani J., Léopold P. 2013. Coordination of organ growth: principles and outstanding questions from the world of insects. *Trends in Cell Biology* 23(7): 336–344.
- Awmack C.S., Leather S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817–844.
- Berezina V.M. 1957. Ličinočnoe pitanie vostočnogo majskego hrušča. *Trudy Vsesojuznogo Instituta Zaščity Rastenij* 8: 37–74.
- Cymborowski B. 1984. Endokrynologia owadów. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, s. 260. ISBN 83-01-04700-3.

- Davidowitz G., D'Amico L.J., Nijhout H.F. 2003. Critical weight in the development of insect body size. *Evolution and Development* 5: 188–197.
- Davidowitz G., D'Amico L.J., Nijhout H.F. 2004. The effects of environmental variation on the mechanism that controls insect body size. *Evolutionary Ecology Research* 6: 49–62.
- DiAngelo J.R., Bland M.L., Bambina S., Cherry S., Birnbaum M.M. 2009. The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 20853–20858.
- Gur'anova N.I. 1954. Vliánie sostava pišči na fiziologičeskoe sostoánie vostočnogo majskogo hrušča (*Melolontha hippocastani* F.). *Trudy Vsesojuznogo Instituta Zaščity Rastenij* 6: 31–37.
- Hauss R. von, Schütte F. 1976. Zur Polyphagie der Engerlinge von *Melolontha melolontha* L. Pflanzen aus Wiese und Ödland. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz Umweltschutz*, 49: 129–132.
- Johnson S.N., Gregory P.J. 2006. Chemically-mediated host-plant location and selection by root-feeding insects. *Physiological Entomology* 31: 1–13.
- Krell F.-T. 2004. Bestimmung von Larven und Imagines der mitteleuropäischen *Melolontha*-Arten (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Laimburg* 1: 211–219.
- Lazarević J., Perić-Mataruga V., Stojković B., Tucić N. 2002. Adaptation of the gypsy moth to an unsuitable host plant. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102: 75–86.
- Lee K.P., Kwon S.-T., Roh C. 2012. Caterpillars use developmental plasticity and diet choice to overcome the early life experience of nutritional imbalance. *Animal Behaviour* 84: 785–793.
- Lincoln D.E., Fajer E.D., Johnson R.H. 1993. Plant-insect herbivore interactions in elevated CO<sub>2</sub> environments. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 64–68.
- Malinowski H., Augustyniak A., Łabanowska B.H. 2001. Nowe możliwości ograniczania populacji owadów żerujących na korzeniach roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 41: 175–181.
- Nijhout H.F., Riddiford L.M., Mirth C., Shingleton A.W., Suzuki Y., Callier V. 2014. The developmental control of size in insects. *WIREs Developmental Biology* 3: 113–134.
- Rożyński F. 1926. W sprawie walki z chrząszczem majowym (*Melolontha vulgaris*). *Przegląd Leśniczy* 7: 32–38.
- Sangsuriya P., Phiwsaiya K., Pratoomthai B., Sriphajit T., Amparyup P., Withyachumnarnkul B., Senapin S. 2014. Knockdown of a novel G-protein pathway suppressor 2 (GPS2) leads to shrimp mortality by exuvial entrapment during ecdysis. *Fish and Shellfish Immunology* 37(1): 46–52.
- Satkowki K. 1899. Przyczynę do środków tępienia pędraka. *Sylwan* 17: 52–54.
- Schoonhoven L.M., van Loon J.J.A., Dicke M. 2005. *Insect-Plant Biology*. Second Edition. New York, Oxford University Press, p. 421. ISBN 978-0-19-852594-3.
- Schwerdtfeger F. 1939. Untersuchungen über die Wanderungen des Maikäfer-Engerlings (*Melolontha melolontha* L. und *Melolontha hippocastani* F.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 26: 215–252.
- Stanisz A. 2007. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. Tom 2. Modele liniowe i nieliniowe. Kraków, StatSoft Polska Sp. z o.o., s. 868. ISBN 978-83-88724-30-5.
- StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Sukovata L., Jaworski T., Karolewski P., Kolk A. The performance of *Melolontha* grubs on the roots of various plant species. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* (w druku).
- Śliwa E. 1993. Szkodniki korzeni drzew i krzewów. Warszawa, Oficyna Edytorska „Świat”, s. 53.
- Truman J.W. 1972. Physiology of insect rhythms. I. Circadian organization of the endocrine events underlying the molting cycle of larval tobacco hornworms. *The Journal of Experimental Biology* 57: 805–820.
- Truman J.W., Riddiford L.M. 1974. Physiology of insect rhythms. III. The temporal organization of the endocrine events underlying pupation of the tobacco hornworm. *The Journal of Experimental Biology* 60: 371–382.
- Ulatowski W. 1932. Przykład walki z pędrakiem. *Echa Leśne* 9 (1): 5–6.
- Ulatowski W. 1933. Pędrak chrząszcza (*Melolontha vulgaris*) i jego zwalczanie. *Sylwan* 51 (7/8/9): 251–252.
- White T.C.R. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia* 63: 90–105.
- Woreta D. 1994. Zmiany występowania szkodników korzeni drzew i krzewów leśnych w latach 1961–1993. *Sylwan* 5: 37–41.
- Woreta D. 1999. Aktywność owadobójcza insektycydów przeznaczonych do ograniczania liczebności owadów doskonalych chrząszczy (*Melolontha* spp). *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa, A*, 2: 61-74.
- Woreta D., Skrzecz I. 1996. Szkody wyrządzone przez owady w uprawach leśnych na gruntach porolnych i możliwości ich ograniczania. *Postępy Techniki w Leśnictwie*, 58: 34–42.

## Wkład autorów

D.W. – przeprowadzenie doświadczeń, wstępne opracowanie wyników, główny udział w napisaniu rozdziałów: Wstęp, Materiały i metody badań (oprócz części Analiza matematyczna i statystyczna); L.S. – analiza matematyczna i statystyczna wyników, główny udział w napisaniu rozdziałów: Wyniki i Dyskusja, oraz przygotowanie końcowej wersji publikacji.

## Survival and growth of the *Melolontha* spp. grubs on the roots of the forest's main tree species

Danuta Woreta, Lidia Sukovata\*

Forest Research Institute, Department of Forest Protection, ul. Braci Leśnej 3, Sękocin Stary, 05–090 Raszyn, Poland.

\* Tel. +48227153832; e-mail: L.Soukovata@ibles.waw.pl

**Abstract.** The survival, weight and relative growth rate (RGR) of the *Melolontha* spp. grubs feeding on roots of *Quercus petraea*, *Q. robur*, *Fagus sylvatica*, *Betula pendula*, *Larix decidua*, *Alnus glutinosa* and *Pinus sylvestris* were examined.

Overall, the youngest grubs, L1, were the most affected by food quality. The mortality of the grubs feeding on the roots of *A. glutinosa* changed most rapidly and, consequently, LT50 was the shortest (25.9 days), whereas the slowest changes in mortality with the highest LT50 values were observed on the two oak species (54.9 and 44.9 days on *Q. robur* and *Q. petraea*, respectively). The RGRs of the L1 grubs were the highest on oaks, *F. sylvatica* and *B. pendula*. The overall rate of survival of the older grubs was high (66.7–100%). It was the lowest on the roots of *B. pendula* (L2 grubs) and *L. decidua* (L3 grubs), which at the same time displayed the highest RGRs.

The interpretation of the results is difficult due to the lack of basic knowledge on the potential effects of food quality and other factors on grub metamorphosis. There is no doubt, however, that among the seven tested tree species the roots of *A. glutinosa* are the least favorable for the *Melolontha* grubs' performance.

**Keywords:** *Quercus robur*; *Quercus petraea*, *Fagus sylvatica*, *Betula pendula*, *Larix decidua*, *Pinus sylvestris*, *Alnus glutinosa*, relative growth rate, mortality, food quality

### 1. Introduction

The common cockchafer *Melolontha melolontha* (L.) and the forest cockchafer *M. hippocastani* F. (Scarabaeidae) are extremely harmful forest insect pests in Poland. Their larvae feed on the roots of trees and shrubs, causing die-off of forest plantations and delaying reforestation.

In Poland, after the World War II, there was an urgent need to afforest large areas of different types of unused or low-productive agricultural lands that had already been infested by cockchafer grubs (Woreta and Skrzecz 1996). The use of highly efficient chemical pesticides (DDT, HCH) to control these pests caused a substantial decrease in the area of grub occurrence to less than 500 ha in 1980–1993 (Woreta 1994). Over time, environmentally toxic plant protection chemicals were replaced with new pest control products, potentially less

harmful to ecosystems. These products (e.g., from the group of pyrethroids), were highly efficient in the control of imagines (Woreta 1999). However, the European Parliament has introduced legal regulations banning the insecticides recently used to control grubs (e.g. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009) due to environmental concern. The lack of efficient plant protection products has resulted in the increase of forest regeneration areas threatened by *Melolontha* spp. grubs. Tree saplings damaged by cockchafer grubs often die and need to be replaced by new ones, and sometimes the entire area needs to be reforested once again. In 1966–2005, the percentage of the area which required supplementary reforestation was below 21%, whereas after 2005, it ranged from 26% to 53%. As a result of the long lasting outbreak of *Melolontha* spp., permanent outbreak foci appeared all over the country, where reforestation has

become extremely difficult due to repeated damage of tree sapling roots.

The limited use of insecticides has led to increasing interest in non-chemical methods of plant protection, including silvicultural, agrotechnical and biological ones. The present study was aimed to examine the effects of food type (saplings of different forest tree species) on survival and body weight of cockchafer grubs. The results could be helpful in selecting species composition for reforestation/afforestation in the areas threatened by *Melolontha* spp.

## 2. Study objects and methods

### Study objects

The *Melolontha* spp. grubs at all three instars: L1, L2, and L3, were used in the study. The instars were distinguished based on the width of a grub head capsule (Śliwa 1993). Precise identification of grub species was not possible due to the lack of reliable methods (Krell 2004). However, it could be stated with some probability that most of L2 and L3 grubs used in the study belonged to *M. hippocastani* (the surviving individuals emerged as *M. hippocastani* imagines).

The saplings of the following forest tree species were used to feed the grubs: pedunculate oak (*Quercus robur* L.), sessile oak [*Q. petraea* (Matt.) Liebl.], common beech (*Fagus sylvatica* L.), silver birch (*Betula pendula* Roth.), black alder [*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.], European larch (*Larix decidua* Mill.) and Scots pine (*Pinus sylvestris* L.).

### Experimental design

Growth and survival of cockchafer grubs feeding on saplings of selected tree species were studied in 2011–2012, in the greenhouse of the Forest Research Institute (FRI).

The experiment with the L2 grubs was set up in 2011, and lasted from May 20 to September 29. The grubs were collected in the territory of Kozienice Forest District (Regional Directorate of the State Forests (RDSF) in Radom) by searching in the soil to the depth of about 20–30 cm. The grubs were fed with two-year old tree saplings obtained from tree nurseries of the following Forest Districts: Grójec and Chojnów (RDSF in Warsaw), Ostrowiec Świętokrzyski (RDSF in Radom) and Pniewy (RDSF in Poznan).

In 2012, the grubs that molted into L3 grubs in the middle of 2011 in the previous experiment and over-

wintered in the greenhouse were used in the experiment with the L3 grubs. The grubs were fed on the roots of two-year old saplings obtained from tree nurseries of the Forest Districts: Pniewy, Chojnów and Grójec between April 20 and June 27.

The experiment with the L1 grubs collected in the territory of Lubartów Forest District (RDSF in Lublin) was set up also in 2012. The L1 grubs were fed on the roots of one-year old saplings from the container nursery in the Jabłonna Forest District (RDSF in Warsaw). The study lasted from May 28 to September 18.

The grubs were placed into pots with garden soil (Agrohumi, Łomianki, Poland) and saplings of the tested tree species (1 sapling/pot). There were two L1 grubs or one grub of either L2 or L3 instar in each pot. There were 15 replications for each tree species in the experiment with the L2 grubs, and 10 replications in the experiments with the L1 and L3 grubs. The L3 grubs were placed into the pots with the same tree species they were reared as the L2 grubs in 2011.

Before releasing into soil, the grubs were weighed individually with an accuracy of 0.001 g on an AD 300 scale (Axis Ltd., Gdańsk, Poland). Grubs survival and weight were assessed every 2–3 weeks. During each assessment as well as when dead saplings were found, the plants were replaced with new ones.

### Mathematical and statistical analysis

The Generalized Linear Model (GLZ) with binomial distribution of the dependent variable and probit link function was used to estimate the mortality rate of the grubs at different instars feeding on the roots of tested tree species and to calculate the lethal time required for 50% of the individuals to die (LT50). The GLZ was also used for the paired comparisons of dynamics (changes in time) of survival and body weight of the grubs feeding on different tree species – paired with each other. The body weight had a normal distribution and the link function was log: in case of the L1 grubs, and the identity function in case of L2 and L3 grubs. The maximum likelihood method was used for model building (Stanisz 2007). The time from the beginning of the experiment to successive assessments of survival and body weight was calculated in days, and the survival was described by the number of live (code 0) and dead grubs (code 1).

The grub growth was assessed based on the relative growth rate (RGR) calculated as follows (Lazarević et al. 2002):

$$RGR = \frac{M_t - M_0}{T_{t-0} \times M_0}$$

where:

$M_0$  and  $M_t$  – initial and final insect body weight (g),

$T_{t-0}$  – the number of days between initial and final weight measurements (d).

Each year, RGR values were estimated for the period from the beginning of the experiment to the second half of August. Later on, the grubs start to prepare for overwintering and feed less intensively, leading to the loss of body weight.

The mean RGR values of the grubs feeding on the roots of various tree species saplings were compared using one-way ANOVA. When the ANOVA assumptions were violated, the Kruskal–Wallis non-parametric test was used, followed by ranks comparison.

The statistical analyses were performed using Statistica 10 (StatSoft, Inc. 2011) with the significance level set at  $\alpha = 0.05$ .

### 3. Results

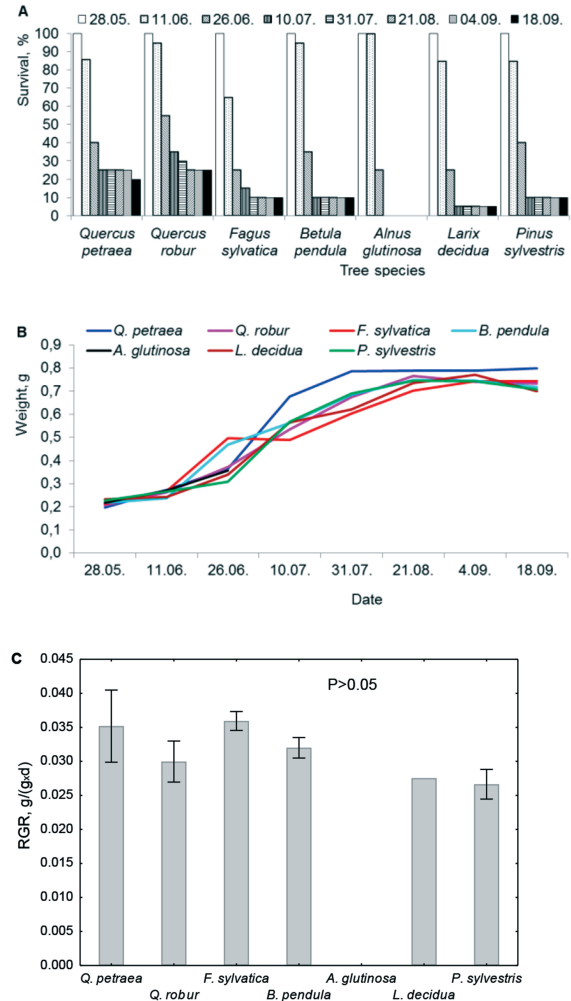
#### First instar grubs

##### Survival

Overall vitality of the L1 grubs collected in the territory of Lubartow Forest District in spring of 2012 was low. Substantial mortality was observed already at the initial phase of the experiment (Fig. 1A). Only 11.4% of the grubs survived between 28 May and 18 September, and the highest survival was observed among the grubs feeding on the roots of *Q. robur* (25%) and *Q. petraea* (20%). The grubs feeding on these two species also had the highest LT50, 54.9 and 44.9 days, respectively (Table 1). In the other grubs, the LT50 varied from 25.9 to 35.4 days. The high values of the LT50 in the grubs feeding on both oak species indicated the slow mortality dynamics, which differed significantly from the mortality dynamics in the grubs feeding on *L. decidua* and *A. glutinosa*, and in the case of the grubs feeding on *Q. petraea* it was also significantly slower than in the grubs feeding on *B. pendula* (Table 2). The mortality of the grubs feeding on the roots of *A. glutinosa* reached 100% already on 10 July, and its dynamics was significantly different from that of the grubs on all other tested tree species (Fig. 1A, Table 2).

##### Body weight

The changes in the mean body weight of the L1 grubs feeding on the sapling roots of different tree species



**Figure 1.** Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L1 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of saplings of various tree species in the period of 28 May–18 October 2012 and relative growth rate (RGR, mean  $\pm$  SE) reached before 21 August (C)

were similar (Fig. 1B). In June, the body weight was changing more in individuals developing on *F. sylvatica* and *B. pendula* saplings, and in July – on *Q. petraea* saplings. However, the differences in the grub body weight dynamics were not statistically significant ( $P > 0.05$ ).

The RGRs of the grubs feeding on tested tree species before August 21 had positive values and they did not differ significantly between tree species, even though in some cases the differences were almost two-fold. The lack of statistically significant differences can be explained by the high variability of RGRs obtained by the grubs on different tree species. The highest RGR

values were found in the grubs feeding on the roots of *Q. petraea* and *F. sylvatica*, whereas the lowest ones – in the grubs feeding on *P. sylvestris* and *L. decidua* (the grubs feeding on the alder saplings were not considered in the comparison, because they lived only until July

10) (Fig. 1C). After August 21, a decrease of the body weight in the grubs feeding on the roots of *P. sylvestris*, *B. pendula* and *Q. robur* was observed, and the same process was observed after September 4 in the grubs developing on the roots of *L. decidua* (Fig. 1B).

**Table 1.** The results of building the generalized regression model describing the dependence of the L1 *Melolontha* spp. grubs mortality on time and calculated values of LT50

Tree species	df	Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>	LT50, days
<i>Q. petraea</i>	1	-89.32	40.13	<0.0001	44.9
<i>Q. robur</i>	1	-87.21	47.29	<0.0001	54.9
<i>F. sylvatica</i>	1	-72.06	53.01	<0.0001	26.2
<i>B. pendula</i>	1	-67.27	72.64	<0.0001	35.4
<i>A. glutinosa</i>	1	-11.88	166.18	<0.0001	25.9
<i>L. decidua</i>	1	-55.43	82.90	<0.0001	27.9
<i>P. sylvestris</i>	1	-68.83	68.26	<0.0001	34.0

**Table 2.** Comparison of mortality dynamics of the L1 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of 7 tree species (the analysis was done for each pair of tree species; the results are presented only for the pairs, for which the interaction of tree species with time was statistically significant)

Pairs of compared tree species	df	Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>
<i>Q. petraea</i> vs <i>B. pendula</i>	1	-156.59	4.00	0.0456
<i>Q. petraea</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-144.75	8.45	0.0037
<i>Q. petraea</i> vs <i>A. glutinosa</i>	1	-101.20	66.50	<0.0001
<i>Q. robur</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-142.64	6.48	0.0109
<i>Q. robur</i> vs <i>A. glutinosa</i>	1	-99.09	62.87	<0.0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>F. sylvatica</i>	1	-83.94	55.35	<0.0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>B. pendula</i>	1	-79.15	48.29	<0.0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>L. decidua</i>	1	-67.31	38.90	<0.0001
<i>A. glutinosa</i> vs <i>P. sylvestris</i>	1	-80.71	49.90	<0.0001

**Table 3.** The results of building the generalized regression model describing the dependence of the L2 *Melolontha* spp. grubs mortality on time and calculated values of LT50 (n.s. – the result is not statistically significant at  $\alpha = 0.05$ )

Tree species	df	Log likelihood	$\chi^2$	<i>P</i>	LT50, days
<i>Q. petraea</i>	1	-41.75	6.92	0,0085	195.0
<i>Q. robur</i>	1			n.s.	-
<i>F. sylvatica</i>	1	-46.77	4.37	0.0366	222.5
<i>B. pendula</i>	1	-52.18	12.90	0.0003	147.1
<i>A. glutinosa</i>	1	-46.94	10.98	0.0009	161.4
<i>L. decidua</i>	1			n.s.	-
<i>P. sylvestris</i>	1			n.s.	-

## Second instar grubs

### Survival

The survival of the L2 grubs feeding on the roots of all studied tree species was high, but the highest rate (100%) was observed in the grubs feeding on the roots of *Q. robur* and *P. sylvestris* (Fig. 2A). In contrast, the highest mortality was observed in the grubs reared on the roots of *B. pendula* and *A. glutinosa*, 33.3% and 26.6%, respectively. These individuals also had the shortest LT50, 147.1 and 161.4 days, respectively, i.e. about 5 months, whereas the LT50 for the grubs feeding on the roots of *F. sylvatica* reached 222.5 days (Table 3), i.e. more than 7 months, which is longer than the real time of their development during one growing season. Dynamics of the grub mortality on tested tree species did not differ significantly ( $P > 0.05$ ). Overall, the high mortality was observed during grubs molting from L2 to L3 instar, i.e. in July.

### Body weight

The grub body weight was changing more rapidly in the first two months of the study (Fig. 2B). The body weight dynamics in the grubs feeding on the roots of tested tree species did not differ significantly. However, the RGR of the grubs feeding on the roots of *B. pendula* saplings in the period prior to August 17 was significantly higher than the RGR of the grubs feeding on the roots of *A. glutinosa* (Fig. 2C). The RGR values for the L2 grubs were positive, regardless the tree species they were reared on.

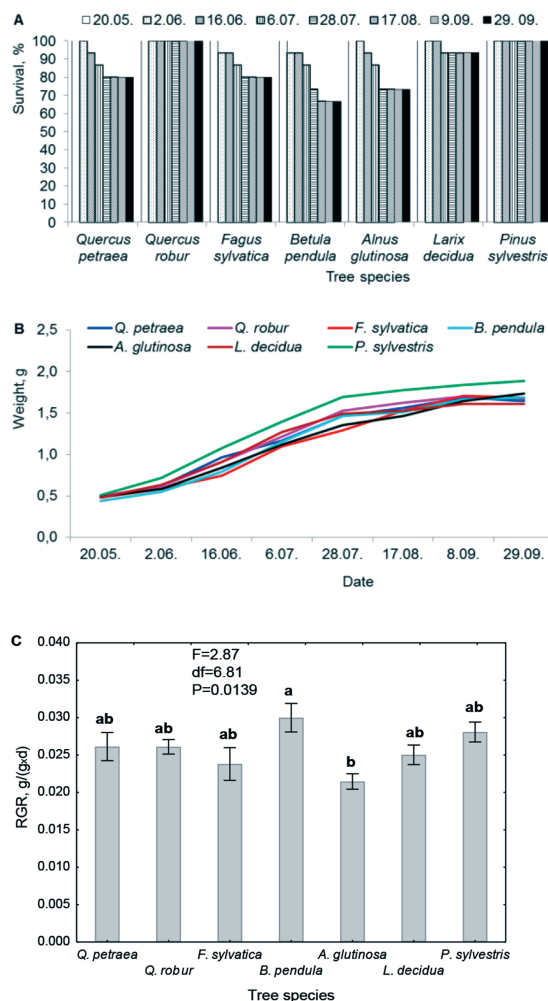
## Third instar grubs

### Survival

The survival of the L3 grubs was high. At the end of June 2012, it was between 70% for the grubs reared on the roots of *L. decidua* and *A. glutinosa* and 100% for the grubs reared on *Q. petraea* saplings (Fig. 3A). Tree species did not have a significant effect on the grub mortality dynamics ( $P > 0.05$ ). The highest mortality was observed in the period of molting from L3 instar into a pupa.

### Body weight

The mean body weight of the L3 grubs feeding on the roots of *P. sylvestris* was higher than that of the grubs feeding on other tested tree species (Fig. 3B). This could be a result of the highest increase of their body weight in the previous year (2011). In April and May 2012, the body weight changed only slightly, and the least chang-



**Figure 2.** Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L2 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of saplings of various tree species in the period of 20 May–29 September 2011 and relative growth rate (RGR, mean  $\pm$  SE) reached before 17 August (different letters indicate statistically significant differences at  $\alpha = 0.05$ ) (C)

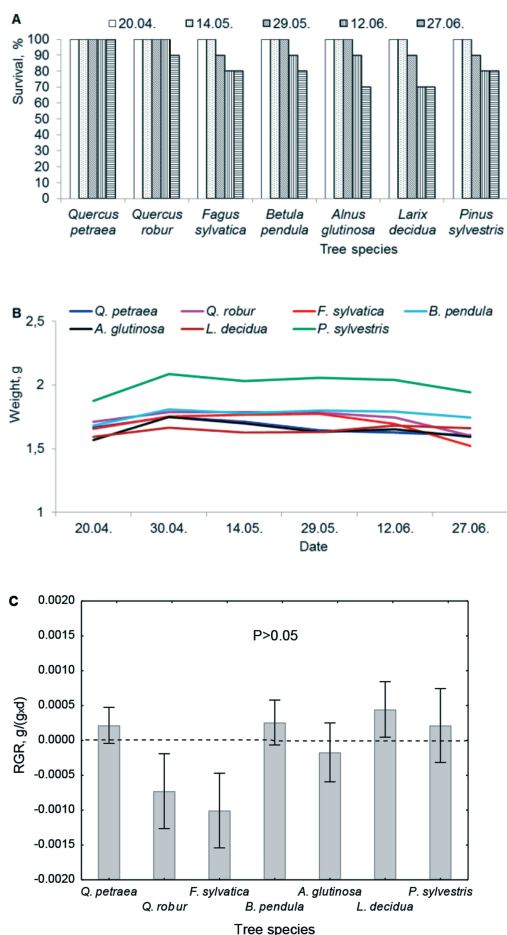
es were observed in the grubs reared on the roots of *L. decidua* and *B. pendula*. In contrast, the body weight of the grubs feeding on the roots of *Q. petraea* and *A. glutinosa* started to decrease already in late April. In the other grubs, the weight loss was observed only in June. By the end of June all the grubs were already in pupal chambers. The body weight changes in the grubs feeding on the roots of *L. decidua* saplings was significantly slower than the changes in the grubs reared on the roots of *Q. petraea* and *Q. robur* (Table 4). A significant difference was also found between the body weight dynamics in the grubs feeding on *Q. petraea* and *B. pendula*.

Tree species did not have a significant effect on the RGR. However, it should be pointed out that the RGR values were positive in the grubs developing on the roots of four out of seven tested tree species: *L. decidua*, *Q. petraea*, *B. pendula* and *P. sylvestris* (Fig. 3C). The

RGRs were negative in the other cases and the smallest values were found in the grubs feeding on the roots of *F. sylvatica* and *Q. robur*.

#### 4. Discussion

The *Melolontha* spp. grubs feed on the roots of many different plant species. However, it does not mean that food quality has no effect on their growth. In literature, there are only few examples of negative effects of herbaceous plants – e.g. the buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and Tartary buckwheat [*F. tataricum* (L.) Gaertn.] from the Polygonaceae family, common wild oat (*Avena fatua* L.) and quackgrass [*Elymus repens* (L.) Gould.] from the Poaceae family, and common lambsquarters (*Chenopodium album* L.) from the Amaranthaceae family – on the grub density and growth (Satkowski 1899; Rożyński 1926; Ulatowski, 1932; 1933; Hauss and Schütte 1976; Malinowski et al. 2001). Moreover, the most of reported results were not based on detailed studies. The effect of woody species on the *Melolontha* grubs has received even less attention and to our knowledge is reported only in two papers. In the study with the *M. hippocastani* grubs, Gur'anova (1954) showed that *B. pendula* was the most beneficial for the growth of the L1 grubs, whereas *P. sylvestris* was the most advantageous for the L2 grubs. In both cases, the grubs were heavier than those feeding on the roots of *Q. robur*. Moreover, their bodies contained the highest number of fat cells increasing their chances to survive in adverse environmental conditions. The L2 grubs were additionally subjected to 40-day starvation, and this experiment revealed that the survival of the grubs previously reared on the roots of *P. sylvestris* and *B. pendula* was 75 and 62.5% , respectively, whereas on the roots *Q. robur* – only 37.5%. Berezina (1957) studied the development of the *M. hippocastani* grubs on the roots of 7 tree and shrub species and suggested that the increase in the body weight was related to the high content of sugar and the low content of total nitrogen in the roots of



**Figure 3.** Survival (A) and changes of the body weight (B) of the L3 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of saplings of various tree species in the period of 20 April–27 June 2012 and relative growth rate (RGR, mean  $\pm$  SE) reached before 27 June (C)

**Table 4.** Comparison of weight dynamics of the L3 *Melolontha* spp. grubs feeding on the roots of 7 tree species (the analysis was done for each pair of tree species; the results are presented only for the pairs, for which the interaction of tree species with time was statistically significant)

Pairs of compared tree species	df	Log likelihood	$\chi^2$	P
<i>L. decidua</i> vs <i>Q. petraea</i>	1	26.11	8.52	0.0035
<i>L. decidua</i> vs <i>Q. robur</i>	1	21.01	4.14	0.0419
<i>Q. petraea</i> vs <i>B. pendula</i>	1	22.52	4.39	0.0361

tested plants. However, this dependence was not regular, as mentioned by the author herself, as well as it was not tested statistically. The positive effect of increasing N:C ratio on insect growth is commonly known (White 1984; Lincoln et al. 1993; Awmack and Leather 2002). Although sugars are an important source of energy, fast growing insects may require lower intake of energy than insects characterized by slower growth and higher activity (Schoonhoven et al. 2005). The *Melolontha* spp. grubs developing three years and requiring a significant amount of energy for their movement in soil may be included to the latter ones.

In the present study, the largest mortality of the grubs was observed at the time of their molting and transition to the subsequent developmental stages. This could be related to the effect of, among others, food quality on hormone activity such as juvenile and prothoracic hormones, which are responsible for arthropod growth and molting (Lee et al. 2012; Andersen et al. 2013; Nijhout et al. 2014; Sangsuriya et al. 2014). The L1 grubs had the lowest vitality, which was probably due to the presence of pathogens in the population they were sampled from (the high mortality of the grubs was observed already during their transfer from the field to the laboratory). Only for the L1 grubs, we found a significant effect of food quality (tree species) on mortality rate, that could be the outcome of interaction with a weakened grub immunity (DiAngelo et al. 2009). The grubs feeding on the roots of *A. glutinosa* saplings were dying the most rapidly, whereas those feeding on the roots of *Q. robur* and *Q. petraea* – the most slowly. The survival of the L2 and L3 grubs was relatively high (66.7%–100%) on all tested tree species. The highest survival (100%) was observed among the L2 grubs feeding on the roots of *P. sylvestris* and *Q. robur*, and among the L3 grubs reared on *Q. petraea*.

The highest body weight increase was observed in the L1 and L2 grubs. In the period from May 28 to September 18, the body weight of the L1 grubs increased by approximately 300%. The body weight of the L2 grubs in four month period changed by approximately 250%. Schwerdtfeger (1939) found that shortly before pupation the *M. hippocastani* and *M. melolontha* grubs reach the weight of 1670 mg and 3190 mg, respectively. In our study, the average body weight of L3 grubs on 12 June was about 1750 mg, which indicated that they were *M. hippocastani* grubs. It was confirmed by the emergence of imagines of this species in the pots after the grubs passed through the pupal stage.

The food quality did not have a significant effect on the body weight dynamics of the L2 grubs, however the

grubs feeding on the *B. pendula* saplings had significantly higher RGR than the grubs feeding on *A. glutinosa*. At the same time, a very interesting observation related to the body weight changes in the L3 grubs was made. The mean body weight increased only slightly, mainly in the grubs feeding on *L. decidua* roots, whereas the weight of the grubs feeding on *Q. petraea* and *A. glutinosa* started to decrease already at the end of April. The weight of sapling roots of different tree species was not estimated, thus it is difficult to say whether it could have any effect on the weight gain of the grubs. However, the root system of 2-year-old *P. sylvestris* saplings is less developed than that of *F. sylvatica* and *A. glutinosa* saplings (personal observations), but vital characteristics of the grubs feeding on the roots of these species did not reflect these differences. The increase in the body weight during the last larval instar usually lasts until reaching the so-called critical weight (Davidowitz et al. 2003, 2004). Then, the larvae stop feeding and begin seeking a suitable place to pupate. At that time, larvae lose their weight (Nijhout et al. 2014). This may explain a decrease in the body weight of the L3 grubs, and the specimens feeding on the roots of *Q. petraea* and *A. glutinosa* probably achieved their critical weight earlier than others. Surprisingly, only two grubs pupated relatively early, i.e. in late May-early June, whereas the other grubs pupated one month later, i.e. in late June-early July. The duration of the period of searching for pupation site depends on the concentration of juvenile and prothoracic hormones. Before pupation, the concentration of juvenile hormone drops down and the concentration of prothoracic hormone increases gradually, but its secretion depends on photoperiod (Truman 1972; Truman and Riddiford 1974; Cymborowski 1984). In the case of the cockchafer grubs developing in soil, away from the light, the course of these processes is likely to depend on the other, genetically encoded factors that prevent early pupation and subsequent emergence of adult insects.

The dependence of the body weight changes and tree species found in our study only partially supported the results presented by Gur'anova (1954) and Berezina (1957). The grubs of all instars feeding on the roots of *B. pendula* had the largest or one of the largest RGRs, and the body weight dynamics in the L3 grubs was significantly different from that of the grubs feeding on *Q. petraea* saplings. However, survival of the grubs was generally lower than the survival of grubs feeding on the roots of both oak species. The RGR of the grubs reared in pots with *P. sylvestris* saplings was quite high, but

only in case of the L2 and L3 grubs it was higher than that of the grubs reared on *Q. robur*.

The effect of food quality, and particularly the content of nitrogen (proteins) and sugars, on the grub development is not fully understood. On one hand, sugars provide energy for the grubs to move in such harsh environment, as is soil, in searching for food. Sugars have also been known as phagostimulants for many insect species (Johnson and Gregory 2006). The study of herbaceous plants showed a significant positive effect of the root sugar content on grub body weight gain and the percentage of the L1 larvae, which successfully molted (Sukovata et al. in print). On the other hand, larval growth generally depends on the amount of amino acids derived from proteins available in food, and their deficiency significantly retards their growth and causes an increase in larval mortality (Lee et al. 2012; Andersen et al. 2013). Physiological processes in the body of grubs during their growth as well as the effect of food quality and other factors on these processes certainly require further research, from both scientific and practical perspective.

## 5. Summary

The present study was aimed to assess the survival and growth rate of *Melolontha* spp. grubs at different instars feeding on the sapling roots of 7 forest tree species: *Q. petraea*, *Q. robur*, *F. sylvatica*, *B. pendula*, *A. glutinosa*, *L. decidua* and *P. sylvestris*.

The highest susceptibility to the food type, expressed by the high mortality, was observed in the youngest grubs (L1). The mortality rate was the highest among the grubs feeding on *A. glutinosa* roots, whereas the lowest mortality was observed among the grubs feeding on both oak species. In addition, the grubs feeding on oaks, but also on *F. sylvatica* and *B. pendula* had the highest RGR. The survival of the older grubs was relatively high (66.7–100%). The highest mortality was, like in the L1 grubs, in rearing on *A. glutinosa*, followed by *B. pendula* (among the L2 grubs) and on *L. decidua* (among the L3 grubs). Despite relatively high mortality, the L2 and L3 grubs feeding on two latter species reached the highest RGRs.

Interpretation of the results of our experiments is rather difficult due to the lack of basic knowledge on the processes involved in grub metamorphosis, especially in the last larval instar. The effects of the factors such as food quality and environmental conditions on these processes remain poorly understood. However, it is clear

that among seven tested forest tree species, the roots of *A. glutinosa* are the least beneficial food for the development of *Melolontha* spp. grubs. Such information should be taken into account when planning silvicultural measures in the permanent cockchafer outbreak foci.

## Acknowledgements

We would like to express our deep appreciation to Sławomir Lipiński and Robert Wolski for their help with laboratory experiments.

The study was conducted within the framework of the project financed by the National Centre for Research and Development (contract No NR12-0096-10/2010).

## References

- Andersen D.S., Colombani J., Léopold P. 2013. Coordination of organ growth: principles and outstanding questions from the world of insects. *Trends in Cell Biology* 23(7): 336–344.
- Awmack C.S., Leather S.R. 2002. Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology* 47: 817–844.
- Berezina V.M. 1957. Ličinočnoe pitanie vostočnogo majskogo hrušča. *Trudy Vsesojuznogo Instituta Zascity Rastenij* 8: 37–74.
- Cymborowski B. 1984. Endokrynologia owadów. Warszawa, Państwowe Wydawnictwo Naukowe, p. 260. ISBN 83-01-04700-3.
- Davidowitz G., D'Amico L.J., Nijhout H.F. 2003. Critical weight in the development of insect body size. *Evolution and Development* 5: 188–197.
- Davidowitz G., D'Amico L.J., Nijhout H.F. 2004. The effects of environmental variation on the mechanism that controls insect body size. *Evolutionary Ecology Research* 6: 49–62.
- DiAngelo J.R., Bland M.L., Bambina S., Cherry S., Birnbaum M.M. 2009. The immune response attenuates growth and nutrient storage in *Drosophila* by reducing insulin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106: 20853–20858.
- Gur'anova N.I. 1954. Vliánie sostava piščei na fiziologičeskoe sostoánie vostočnogo majskogo hrušča (*Melolontha hippocastani* F.). *Trudy Vsesojuznogo Instituta Zascity Rastenij* 6: 31–37.
- Hauss R. von, Schütte F. 1976. Zur Polyphagie der Engerlinge von *Melolontha melolontha* L. Pflanzen aus Wiese und Ödland. *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz Umweltschutz*, 49: 129–132.
- Johnson S.N., Gregory P.J. 2006. Chemically-mediated host-plant location and selection by root-feeding insects. *Physiological Entomology* 31: 1–13.

- Krell F.-T. 2004. Bestimmung von Larven und Imagines der mitteleuropäischen *Melolontha*-Arten (Coleoptera: Scarabaeoidea). *Laimburg* 1: 211–219.
- Lazarević J., Perić-Mataruga V., Stojković B., Tucić N. 2002. Adaptation of the gypsy moth to an unsuitable host plant. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 102: 75–86.
- Lee K.P., Kwon S.-T., Roh C. 2012. Caterpillars use developmental plasticity and diet choice to overcome the early life experience of nutritional imbalance. *Animal Behaviour* 84: 785–793.
- Lincoln D.E., Fajer E.D., Johnson R.H. 1993. Plant-insect herbivore interactions in elevated CO<sub>2</sub> environments. *Trends in Ecology and Evolution* 8: 64–68.
- Malinowski H., Augustyniak A., Łabanowska B.H. 2001. Nowe możliwości ograniczania populacji owadów żerujących na korzeniach roślin. *Progress in Plant Protection/Postępy w Ochronie Roślin* 41: 175–181.
- Nijhout H.F., Riddiford L.M., Mirth C., Shingleton A.W., Suzuki Y., Callier V. 2014. The developmental control of size in insects. *WIREs Developmental Biology* 3: 113–134.
- Rożyński F. 1926. W sprawie walki z chrząszczem majowym (*Melolontha vulgaris*). *Przegląd Leśniczy* 7: 32–38.
- Sangsuriya P., Phiwsaiya K., Pratoomthai B., Sriphaijit T., Amparyup P., Withyachumnarnkul B., Senapin S. 2014. Knockdown of a novel G-protein pathway suppressor 2 (GPS2) leads to shrimp mortality by exuvial entrapment during ecdysis. *Fish and Shellfish Immunology* 37(1): 46–52.
- Satkowki K. 1899. Przyczynek do środków tępienia pędraka. *Sylwan* 17: 52–54.
- Schoonhoven L.M., van Loon J.J.A., Dicke M. 2005. Insect-Plant Biology. Second Edition. New York, Oxford University Press, p. 421. ISBN 978-0-19-852594-3.
- Schwerdtfeger F. 1939. Untersuchungen über die Wanderungen des Maikäfer-Engerlings (*Melolontha melolontha* L. und *Melolontha hippocastani* F.). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 26: 215–252.
- Stanisz A. 2007. Przystępny kurs statystyki z zastosowaniem STATISTICA PL na przykładach z medycyny. Tom 2. Modele liniowe i nieliniowe. Kraków, StatSoft Polska Sp. z o.o., s. 868. ISBN 978-83-88724-30-5.
- StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.
- Śliwa E. 1993. Szkodniki korzeni drzew i krzewów. Warszawa, Oficyna Edytorska „Świat”, p. 53.
- Truman J.W. 1972. Physiology of insect rhythms. I. Circadian organization of the endocrine events underlying the molting cycle of larval tobacco hornworms. *The Journal of Experimental Biology* 57: 805–820.
- Truman J.W., Riddiford L.M. 1974. Physiology of insect rhythms. III. The temporal organization of the endocrine events underlying pupation of the tobacco hornworm. *The Journal of Experimental Biology* 60: 371–382.
- Ulatowski W. 1932. Przykład walki z pędrakiem. *Echa Leśne* 9 (1): 5–6.
- Ulatowski W. 1933. Pędrak chrabąszcza (*Melolontha vulgaris*) i jego zwalczanie. *Sylwan* 51 (7/8/9): 251–252.
- White T.C.R. 1984. The abundance of invertebrate herbivores in relation to the availability of nitrogen in stressed food plants. *Oecologia* 63: 90–105.
- Woreta D. 1994. Zmiany występowania szkodników korzeni drzew i krzewów leśnych w latach 1961–1993 [Changes in the occurrence of pests of forest trees and bushes roots]. *Sylwan* 5: 37–41.
- Woreta D. 1999. Aktywność owadobójcza insektycydów przeznaczonych do ograniczania liczebności owadów doskonałych chrabąszczy (*Melolontha* spp.). *Prace Instytutu Badawczego Leśnictwa* 2: 61–74. *Leśnictwa*, 20: 90–92.
- Woreta D., Skrzecz I. 1996. Szkody wyrządzone przez owady w uprawach leśnych na gruntach porolnych i możliwości ich ograniczania. *Postępy Techniki w Leśnictwie* 58: 34–42.