

Dariusz ROPEK<sup>1</sup> i Janina GOSPODAREK<sup>1</sup>

## WPLYW ROPOPOCHODNYCH NA ZDOLNOŚĆ DO MIGRACJI NICIENIA OWADOBÓJCZEGO *Steinernema feltiae*

### EFFECT OF OIL DERIVATIVES ON THE MIGRATION ABILITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODE *Steinernema feltiae*

**Abstrakt:** Celem przeprowadzonych badań było poznanie wpływu benzyny, oleju napędowego i oleju silnikowego na zdolność nicienia *S. feltiae* do migracji z miejsca zanieczyszczonego tymi substancjami. Oceniano również śmiertelność larw inwazyjnych *S. feltiae* aplikowanych na podłoże zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi. Silne zanieczyszczenie ropopochodnymi powodowało zamieranie nicieni, zanim zdołały opuścić miejsce, na które je aplikowano. Zastosowanie benzyny w stężeniu  $8000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  powodowało największą śmiertelność larw inwazyjnych spośród zastosowanych substancji ropopochodnych i ich dawek. Mniejsze stężenia substancji ropopochodnych stymulowały larwy inwazyjne do migracji z miejsca skażonego. Nicienie *S. feltiae* migrował z miejsc zanieczyszczonych, unikając w ten sposób niekorzystnego wpływu toksyn.

**Słowa kluczowe:** *Steinernema feltiae*, ropopochodne, migracja

### Wprowadzenie

Zanieczyszczenie środowiska ropopochodnymi należy do jednych z groźniejszych zagrożeń dla środowiska naturalnego. Ropopochodne często zanieczyszczają środowisko glebowe. Ważną grupą organizmów glebowych są nicienie owadobójcze, które zaliczamy do mezofauny glebowej. Bezkręgowce glebowe są wykorzystywane do monitorowania stopnia zanieczyszczenia środowiska substancjami ropopochodnymi [1, 2]. Interesującym zagadnieniem jest zachowanie się larw inwazyjnych nicieni w obecności ropopochodnych. Czy larwy inwazyjne nicieni mają mechanizmy chroniące je przed niekorzystnym wpływem tych substancji np. poprzez unikanie kontaktu z substancją toksyczną. Celem badań była weryfikacja hipotezy, że larwy inwazyjne nicienia *S. feltiae* aktywnie migrują z miejsca zanieczyszczonego ropopochodnymi, aby uniknąć ich toksycznego wpływu.

### Materiał i metody

Przeprowadzono doświadczenie laboratoryjne nad wpływem ropopochodnych na migrację larw inwazyjnych nicienia owadobójczego *S. feltiae*. Przygotowano szalki Petriego (o średnicy 9 cm) z warstwą agaru (30 gramów agaru na  $1 \text{ dm}^3$  wody destylowanej). W centrum szalki umieszczono krążek agaru o średnicy 1 cm zawierający ropopochodne. Ropopochodne stosowano osobno w stężeniu: 2000, 4000, 6000 i  $8000 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . W centrum krążka umieszczano krople zawiesiny zawierającej 100 larw inwazyjnych nicienia. Wodę usuwano przez dotknięcie kropli rogiem bibuły filtracyjnej. Na spodzie szalki wyznaczono pięć okręgów: 0 - promień 0,5 cm, w którym umieszczano krążek skażonego agaru, 1 - promień 0,5-1,5 cm, 2 - promień 1,5-2,5 cm, 3 - promień 2,5-3,5 cm i 4 - promień 3,5-4,5 cm. Zachowanie się larw inwazyjnych i ich

<sup>1</sup> Katedra Ochrony Środowiska Rolniczego, Uniwersytet Rolniczy, al. A. Mickiewicza 21, 31-120 Kraków, tel. 12 662 44 02, email: rropek@cyf-kr.edu.pl, rrgospo@cyf-kr.edu.pl

przemieszczanie się obserwowano pod lupą binokularną. Obserwacje prowadzono po 60 i 120 minutach. Doświadczenie założono w czterech powtórzeniach w temperaturze 22°C.

Współczynnik migracji ( $M$ ) obliczono według Westermana [3] z modyfikacjami i zdefiniowano go jako średnią odległość migracji larw inwazyjnych podczas trwania doświadczenia:

$$M = \frac{R_0 \cdot 0 + R_1 \cdot 1 + R_2 \cdot 2 + R_3 \cdot 3 + R_4 \cdot 4}{R_0 + R_1 + R_2 + R_3 + R_4} \text{ [cm]}$$

gdzie:  $R_0, R_1, R_2, R_3$  i  $R_4$  - liczba larw inwazyjnych w każdym z okręgów. Przyjęto, że larwy inwazyjne znajdujące się w okręgu 0 nie migrowały z miejsca aplikacji, a te, które opuściły miejsce aplikacji, dotarły do środka okręgu, w którym się znajdowały podczas wykonywania obserwacji. Larwy inwazyjne znajdujące się w okręgu 1 pokonały 1 cm, w 2 - 2, w 3 - 3 i w 4 okręgu - 4 cm.

Po zakończeniu obserwacji dotyczących migracji larw inwazyjnych nicieni obserwowano również, czy nicienie przeżyły kontakt z substancjami ropopochodnymi. Żywność larw inwazyjnych oceniano na podstawie ich aktywności. Larwy, których ciało było całkowicie wyprostowane, uznano za martwe. Przeprowadzono analizę wariancji dwuczynnikową ANOVA (Statistica 10, StatSoft). Obliczono przedziały krytyczne Newmana-Keulsa, a wartość ostatniego kroku posłużyła do różnicowania średnich przy poziomie istotności  $p < 0,05$ .

## Wyniki i dyskusja

Zastosowane w doświadczeniu ropopochodne w istotny sposób wpłynęły na migrację larw inwazyjnych nicienia *S. feltiae* (tab. 1).

Tabela 1

Wpływ ropopochodnych na migrację larw inwazyjnych *S. feltiae*

Table 1

Effect of oil derivatives on migration of *S. feltiae* infective juveniles

Ropopochodne Oil derivatives (b)	Współczynnik migracji / Migration rate (M)					Σ
	Dawka / Dose [mg·dm <sup>-3</sup> ] (a)					
	0	2000	4000	6000	8000	
	Po 60 minutach / After 60 minutes					
Benzyna bezołowiowa Unleaded petrol	0,14	0,36	0,10	0,03	0,03	0,13
Olej napędowy/Diesel oil		0,46	0,71	0,23	0,09	0,33
Olej silnikowy/Used engine oil		0,85	0,72	0,27	0,17	0,43
Σ	0,14	0,56	0,51	0,18	0,11	-
<i>NIR<sub>p&lt;0,05</sub></i> / <i>LSD<sub>p&lt;0,05</sub></i> : a - 0,059, b - 0,039, a × b - 0,130						
	Po 120 minutach / After 120 minutes					
Benzyna bezołowiowa Unleaded petrol	0,15	0,49	0,15	0,06	0,04	0,18
Olej napędowy/Diesel oil		1,38	1,16	0,45	0,23	0,67
Olej silnikowy/Used engine oil		1,20	1,03	0,43	0,15	0,61
Σ	0,15	1,02	0,78	0,31	0,18	-
<i>NIR<sub>p&lt;0,05</sub></i> / <i>LSD<sub>p&lt;0,05</sub></i> : a - 0,067, b - 0,044, a × b - 0,148						

M - współczynnik obliczony według wzoru podanego przez Westermana [3]

M - coefficient calculated from formula provided by Westerman [3]

Zaobserwowano istotny wpływ zarówno rodzaju, jak i stężenia zastosowanej substancji ropopochodnej. W obiektach niezanieczyszczonych migracja larw inwazyjnych była niewielka i na stosunkowo niedużą odległość od miejsca ich aplikacji. Po 120 minutach współczynnik migracji nicieni był nieznacznie większy niż po 60 minutach od rozpoczęcia obserwacji.

W obiektach silnie zanieczyszczonych benzyną (8000 mg·dm<sup>-3</sup>) współczynnik migracji był najmniejszy. Również zanieczyszczenie podłoża olejem napędowym i olejem silnikowym najwyższą badaną dawką wpłynęło negatywnie na migrację nicieni z miejsca aplikacji, jednak w mniejszym stopniu niż benzyną. Benzyna w dawkach 4000 i 6000 mg·dm<sup>-3</sup> również wpływała niekorzystnie na migrację nicieni w porównaniu do niezanieczyszczonej kontroli. Jedynie w najniższym badanym stężeniu zaobserwowano wyraźną stymulację migracji nicieni z miejsca zanieczyszczonego benzyną. W przypadku oleju napędowego i oleju silnikowego zwiększoną migrację nicieni z miejsca zanieczyszczonego obserwowano już przy stężeniach 4000 i 6000 mg·dm<sup>-3</sup>.

Tabela 2

Wpływ ropopochodnych na śmiertelność larw inwazyjnych *S. feltiae*

Table 2

Effect of oil derivatives on mortality of *S. feltiae* infective juveniles

Ropopochodne Oil derivatives (b)	Współczynnik migracji / Migration rate (M)					Σ
	Dose [mg·dm <sup>-3</sup> ] (a)					
	0	2000	4000	6000	8000	
<b>Po 60 minutach / After 60 minutes</b>						
Benzyna bezołowiowa Unleaded petrol	0,0	6,3	19,5	39,8	49,5	23,0
Olej napędowy Diesel oil		6,3	11,5	15,5	22,8	11,2
Olej silnikowy Used engine oil		3,3	13,0	17,3	23,3	11,3
Σ	0,0	5,3	14,8	24,2	31,8	-
<i>NIR<sub>p&lt;0,05</sub> / LSD<sub>p&lt;0,05</sub>; a - 4,43, b - 2,92, a × b - 9,74</i>						
<b>Po 120 minutach / After 120 minutes</b>						
Benzyna bezołowiowa Unleaded petrol	0,0	8,0	22,0	48,8	77,3	31,2
Olej napędowy Diesel oil		7,8	13,8	18,5	25,0	13,0
Olej silnikowy Used engine oil		5,8	16,8	24,3	41,0	17,55
Σ	0,0	7,2	17,5	30,5	47,8	-
<i>NIR<sub>p&lt;0,05</sub> / LSD<sub>p&lt;0,05</sub>; a - 3,83, b - 2,52, a × b - 8,42</i>						

Aby dokładniej zanalizować wpływ ropopochodnych na zdolność do migracji larw inwazyjnych nicienia *S. feltiae*, obserwowano również ich aktywność. Kształt larw inwazyjnych może świadczyć o ich reakcji na czynniki środowiska. Ciało larw inwazyjnych całkowicie wyprostowane świadczy, że osobniki te są martwe. Na tej podstawie oceniono, czy larwy inwazyjne, które zostały naniesione na zanieczyszczone ropopochodnymi miejsce na szalce, przeżyły (tab. 2). Nicienie wprowadzone na niezanieczyszczone podłoże pozostały żywe przez cały czas trwania doświadczenia, natomiast na szalkach, gdzie zastosowano ropopochodne, larwy inwazyjne zamierały już po

60 minutach kontaktu z tymi zanieczyszczeniami. Największą śmiertelność zanotowano w przypadku zastosowania najwyższych stężeń ropopochodnych. Szczególnie toksyczny okazał się wpływ benzyny. Również w innych badaniach wykazano niekorzystny wpływ benzyny na tę grupę nicieni glebowych [4]. Wysoka śmiertelność larw inwazyjnych w kontakcie z ropopochodnymi tłumaczy w pewnym stopniu niewielką migrację larw inwazyjnych ze skażonego miejsca.

### Podsumowanie

Benzyna okazała się najbardziej toksyczna, powodująca wysoką śmiertelność larw inwazyjnych *S. feltiae*. Olej napędowy i zużyty olej silnikowy w niższych z zastosowanych dawk stymulują migrację larw inwazyjnych *S. feltiae* z miejsca zanieczyszczonego. Nicień *S. feltiae* może migrować z miejsc zanieczyszczonych, unikając w ten sposób niekorzystnego wpływu toksyn, o ile stężenie tych substancji nie jest zbyt duże.

### Podziękowanie

Badania zostały sfinansowane ze środków budżetowych na naukę w latach 2009-2012 jako projekt N N305 151537.

### Literatura

- [1] Corter J, Gomot-De Vaufflery A, Poinso-Balaguer N, Gomot L, Texier Ch, Cluzeau D. The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur J Soil Biol.* 1999;35(3):115-134.
- [2] Jaworska M, Gospodarek J. Occurrence of selected groups of soil invertebrates in conditions of soil polluted with oil derivatives. *Ecol Chem Eng A.* 2006;13(6):521-528.
- [3] Westerman PR. Biological control of *Otiorhynchus sulcatus* by insect parasitic nematodes, *Heterorhabditis* spp., at low temperatures; a system analytical approach. Thesis Landbouwniversiteit Wageningen. 1997.
- [4] Gospodarek J, Jaworska M. Pathogenicity of *Steinernema feltiae* in oil-polluted soil. *IOBC/WPRS Bulletin.* 2009;45:406-408.

## EFFECT OF OIL DERIVATIVES ON THE MIGRATION ABILITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES

Department of Agriculture Environmental Protection, University of Agriculture in Kraków

**Abstract:** The aim of the research was to evaluate the effect of unleaded petrol, diesel oil and used engine oil on the migration ability of *S. feltiae* from contaminated area. Also the mortality rate of nematodes applied on contaminated area was investigated. Nematodes applied on highly contaminated area died before they were able to leave contaminated site. Most toxic effect on nematodes had unleaded petrol applied in dose 8000 mg · dm<sup>-3</sup>. Lower doses of oil derivatives stimulated nematodes larvae to migration from contaminated area. *S. feltiae* migrates from contaminated area to avoid toxic effect of oil derivatives.

**Keywords:** *Steinernema feltiae*, oil derivatives, migration