

CHANGES IN VIABILITY OF ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES DURING FLOW THROUGH NOZZLE ORIFICE OF SPRAYER

Summary

There were estimating values of a relative viability of entomopathogenic nematodes contained in liquid repeatedly flowing through nozzles. Diameters of the nozzle orifices were 0,8 and 1,5 mm. Values of a liquid pressure taken to the experiments were 0,5 and 2,0 Mpa. In the study were used the nematodes: *Heterorhabditis bacteriophora* and *Heterorhabditis megidis*.

ZMIANY W PRZEŻYWALNOŚCI OWADOBÓJCZYCH NICIENI PODCZAS PRZEPIYWU PRZEZ OTWÓR W DYSZY OPRYSKIWACZA

Streszczenie

Wyznaczono wartości przeżywalności względnej owadobójczych nicieni w cieczy przepływającej wielokrotnie przez dysze. Średnice otworów dyszy wynosiły 0,8 i 1,5 mm. Wartości ciśnienia cieczy przyjętego do badań wynosiły 0,5 i 2,0 MPa.. W przeprowadzonych badaniach użyte zostały nicienie *Heterorhabditis bacteriophora* i *Heterorhabditis megidis*.

1. Wprowadzenie

Larwy inwazyjne owadobójczych nicieni są składnikami wielu biologicznych środków ochrony roślin służących do zwalczania szkodników metodami niechemicznymi [15]. Jednym ze sposobów aplikacji nicieni jest rozpylanie ich wraz z cieczą za pomocą opryskiwaczy [9, 16]. Skuteczność niszczenia pasożytów zależy od ich zdolności do przeżycia w instalacji opryskiwaczy. Możliwość występowania strat nicieni w opryskiwaczach została opisana w pracach [1, 8, 10]. Zniszczenie nicieni mogą powodować rozpylacze, mieszadło i zawór przelewowy [1, 2, 3, 4]. Poważne straty nicieni mogą wystąpić w tych elementach instalacji opryskiwaczy, przez które ciecz krąży wielokrotnie. Jednym z takich elementów jest mieszadło strumieniowe montowane w zbiorniku opryskiwacza [5, 7]. Przepływająca ciecz przez dyszę w strumienicy zwiększa swoją prędkość liniową zgodnie z równaniem ciągłości przepływu [11]. Prędkości przemieszczania się w instalacji cieczy mogą być jedną z przyczyn zniszczenia znajdujących się w cieczy nicieni w wyniku ich ocierania się o krawędzie otworu.

2. Cel pracy

Celem pracy było wyznaczenie wpływu ciśnienia cieczy i rozmiaru otworu w dyszy na zmiany przeżywalności i powstanie strat nicieni podczas przepływu przez dyszę zawierającą je cieczy.

3. Metoda badań

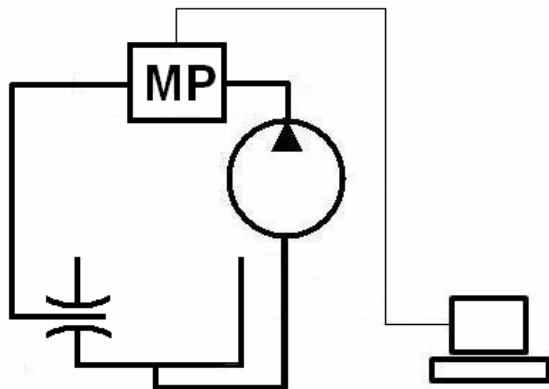
Materiałem użytym w badaniach były larwy inwazyjne owadobójczych nicieni: *Heterorhabditis bacteriophora* i *Heterorhabditis megidis*. Nicienie *H. bacteriophora* wchodziły w skład biologicznego środka ochrony roślin o nazwie B-Green, a nicienie *H. megidis* znajdowały się w biopreparacie Heterorhabditis System. B-Green i Heterorhabditis system produkowane przez Biobest N.V. Stosuje się je głównie przeciw larwom opuchlaków.

Zewnętrznie nicienie *H. bacteriophora* i *H. megidis* różnią się przede wszystkim rozmiarami. Przeciętna długość larw inwazyjnych nicieni *H. bacteriophora* wynosi 588 μm , a szerokość 23 μm . Średnia długość larw inwazyjnych nicieni *H. s megidis* to 768 μm , a szerokość 29 μm [13].

Aby uzyskać 100% żywych nicieni w cieczy używanej w eksperymentach należało usunąć z biopreparatów martwe osobniki. W tym celu, w dniu poprzedzającym wykonanie badań nicienie wsypywano na włókninę, ułożonej na siatce zanurzonej w wodzie. Były to filtry służące do filtrowania mleka. Nicienie, które przedostały się przez otwory we włókninie używano następnie do sporządzania cieczy. W podobny sposób oddzielania żywych nicieni od martwych postępowali autorzy prac [3, 4]. Badania zostały wykonane w terminie przydatności preparatów do użycia, w pierwszym i drugim tygodniu od daty ich zakupu. Oba środki ochrony roślin zawierające nicienie przechowywano zgodnie z zaleceniami zawartymi w dostarczonej przez producenta instrukcji.

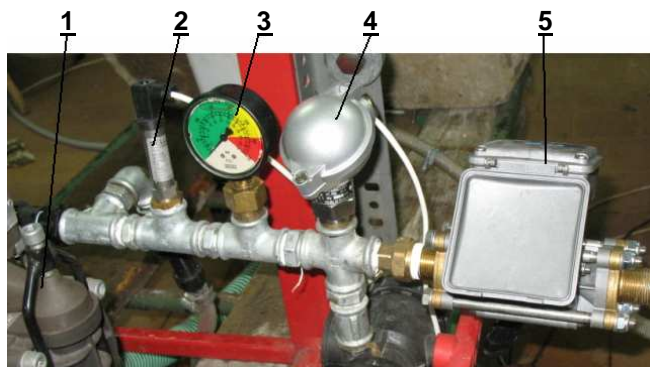
Doświadczenia przeprowadzono w instalacji pomiarowej składającej się ze zbiornika o pojemności 10 dm³, pompy membranowej Comet BP 40/15 i przymocowanego do ściany zbiornika uchwytu do mocowania kryz (rys. 1).

Uchwyt zamontowany został w zbiorniku tak, że znajdował się 17 cm pod powierzchnią cieczy. Wpływająca przez kryzę ciecz mieszała płyn znajdujący się w zbiorniku. W skład instalacji wchodził również panel pomiarowy służący do pomiaru i rejestrowania warunków przepływu cieczy (rys. 2). Składał się on z czujników elektronicznych połączonych z komputerem za pomocą karty pomiarowej NI DAQCARD-6024. Natężenie przepływu cieczy mierzono za pomocą przepływomierza elektromagnetycznego Arag typ 4621AA00000 o zakresie pomiarowym 0,5÷10 dm³·min⁻³. Ciśnienie wstępnie ustawiano posługując się manometrem, a następnie mierzono za pomocą czujnika KELLER typ PA-21SR/100. Temperaturę cieczy przepływającej w instalacji mierzono za pomocą czujnika APT OP – 6B.



Rys. 1. Schemat instalacji pomiarowej: MP – panel pomiarowy

Fig. 1. Measuring installation diagram: MP – measuring panel



Rys. 2. Panel pomiarowy: 1 – pompa membranowa, 2 – czujnik ciśnienia, 3 – manometr, 4 – czujnik temperatury, 5 – przepływomierz elektromagnetyczny

Fig. 2. Measuring panel: 1 – diaphragm pump, 2 – pressure sensor, 3 – manometer, 4 – temperature sensor, 5 – electromagnetic flow-meter

Poszczególne elementy panelu pomiarowego połączone zostały ze sobą metalowymi lub wykonanymi z tworzyw sztucznych stałymi przewodami. Do złączenia pozostałych części instalacji użyte zostały elastyczne przewody, których średnice wewnętrzne wynosiły od 10 do 32 mm. Całkowita długość przewodów wraz z panelem pomiarowym wynosiła 1,80 m.

Jako dysz w badaniach zastosowano dwa ceramiczne krążki, z okrągłymi otworami o średnicach 0,8 mm i 1,5 mm. Przyjęto dwie wartości ciśnienia cieczy: 0,5 MPa i 2,0 MPa, jako maksymalne ciśnienie, które może być stosowane przy opryskiwaniu roślin cieczą zawierającą owadobójcze nicienie według [14]. Ciśnienie cieczy w instalacji ustalane było poprzez regulację prędkości obrotowej pompy. Powodowało to zmiany natężenia przepływu cieczy. Natężenia przepływu cieczy przez krążki były wynikiem ciśnienia cieczy i rozmiaru otworu. Ich wartości przedstawia tab. 1.

Tab. 1. Wartości natężenia przepływu cieczy
Table 1. Values of liquid flow rates

Ciśnienie cieczy [MPa]	0,5		2,0	
Średnice otworu [mm]	0,8	1,5	0,8	1,5
Natężenie przepływu cieczy [$\text{dm}^3 \cdot \text{s}^{-1}$]	0,013	0,050	0,023	0,090

W zbiorniku każdorazowo przygotowywano $6,0 \text{ dm}^3$ cieczy z nicieniami o ich podobnej koncentracji. Koncentracja obydwu gatunków nicieni wynosiła około 800 sztuk w 1 ml wody. Ciecz krążyła w instalacji pomiarowej wielokrotnie. Do analizy przeżywalności względnej nicieni pobierano z układu próby płynu z nicieniami, o pojemności 20 ml, po 4-, 11- i 22-krotnym przepływie cieczy. Przed rozpoczęciem każdego eksperymentu, z przygotowanej w zbiorniku cieczy, pobierano próby kontrolne. Każdy eksperyment powtarzano 2 razy. Pobrane próby przez 24 godziny były przechowywane w inkubatorze w temperaturze 18°C . Uznano, że w tym czasie wszystkie zranione nicienie nie przeżyją.

W badaniach wyznaczano przeżywalność względną nicieni jako stosunek liczby żywych osobników do całkowitej liczby nicieni, wg wzoru (1), zgodnie z formułą zawartą w pracy [6].

$$V_r = \frac{N_l}{N_t} \cdot 100 \quad (1)$$

gdzie:

V_r – przeżywalność względna, %,

N_l – liczba żywych nicieni,

N_t – całkowita liczba nicieni, żywych i martwych.

W celu obliczenia pod mikroskopem ilości żywych i martwych nicieni, z każdej próby cieczy, po dokładnym jej wymieszaniu, pobierano pipetą po trzy próbki o pojemności 0,050 ml. Za żywe uznawano te nicienie, które poruszyły się po dotknięciu ich igłą. Martwe nicienie występowały w całości lub w ich segmentach, w zależności od poziomu zniszczenia. W celu obliczenia całkowitej liczby nicieni posłużono się wzorem (2) zaczerpniętym z prac [2, 3].

$$N_t = N_l + N_d + N_{dP}/2 + N_{dQ}/4 \quad (2)$$

gdzie:

N_d – liczba martwych nicieni,

N_{dP} – liczba segmentów nicieni uznanych wielkością za półówkę nicienia,

N_{dQ} – liczba segmentów nicieni uznanych wielkością za ćwiartkę nicienia.

Innym sposobem oceny zmian ilości żywych nicieni w biologicznym środku ochrony roślin jest oznaczanie nie przeżywalności względnej nicieni, lecz ich śmiertelności względnej. Przeżywalność względna służy do wyznaczania jakości biologicznego środka, natomiast śmiertelność względna służy do wyznaczania strat nicieni. Jest to stosunek liczby martwych nicieni do całkowitej ich liczby w próbach.

$$M_r = \frac{N_t - N_l}{N_t} \cdot 100 \quad (3)$$

gdzie:

M_r – śmiertelność względna nicieni, %

Można ją również wyznaczyć ze wzoru (4).

$$M_r = 100 - V_r. \quad (4)$$

4. Analiza wyników pomiarów

Opór przepływu cieczy przez pompę i przewody zasilające w ciecz badane dysze oraz zmiany temperatury cieczy mogły przyczynić się do zakłócenia pomiarów. Na podstawie wyników pomiaru temperatury wykonanych podczas przeprowadzania eksperymentów nie stwierdzono przekroczenia wartości 32°C. Maksymalną wartość temperatury równą 27,6°C otrzymano przy ciśnieniu równym 2,0 MPa i 22-krotnym przepływie cieczy przez kryżę z otworem o średnicy 1,5 mm. Temperatura cieczy poniżej 32°C nie ma wpływu na przeżywalność owadobójczych nicieni [12].

Pomierzone zmiany ciśnienia cieczy, podczas jej przepływu wyłącznie przez przewody zasilające instalację i czujniki wskazały, że przy największej wartości natężenia przepływu cieczy równej 0,090 dm³·s⁻¹ wzrost ciśnienia wyniósł 0,0126 MPa. Do porównania wartości przeżywalności względnej nicieni *Heterorhabditis bacteriophora* i *Heterorhabditis megidis* po przepływie 22-krotnym przez instalację przy natężeniu przepływu równym 0,090 dm³·s⁻¹

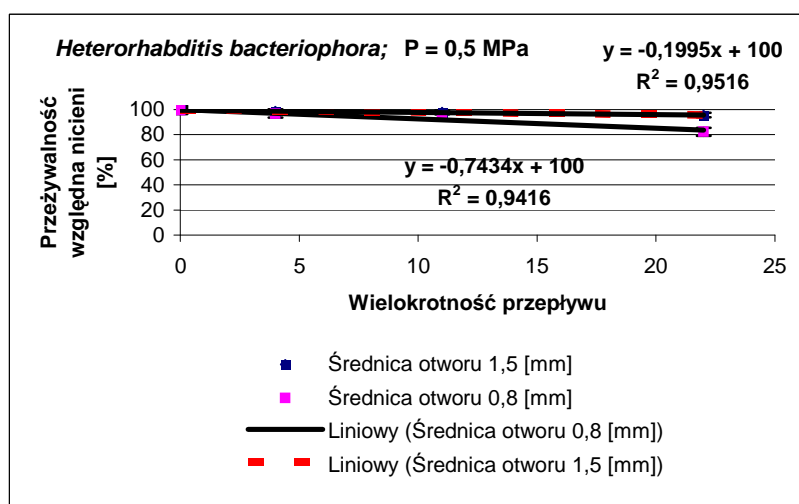
bez zamontowanych kryz z wartościami przeżywalności względnej dla tych nicieni w próbach kontrolnych zastosowano analizę wariancji. Otrzymane wartości współczynnika istotności P były większe od 0,05.

Przyjęto więc, że na wyniki przeprowadzonych badań przeżywalności względnej nicieni w cieczy przepływającej przez dysze nie mają wpływu następujące zakłócenia:

1. wzrost temperatury cieczy w badanych instalacjach,
2. zmiany przeżywalności względnej nicieni na skutek wzrostu ciśnienia cieczy przepływającej przez instalację bez zamontowanej dyszy.

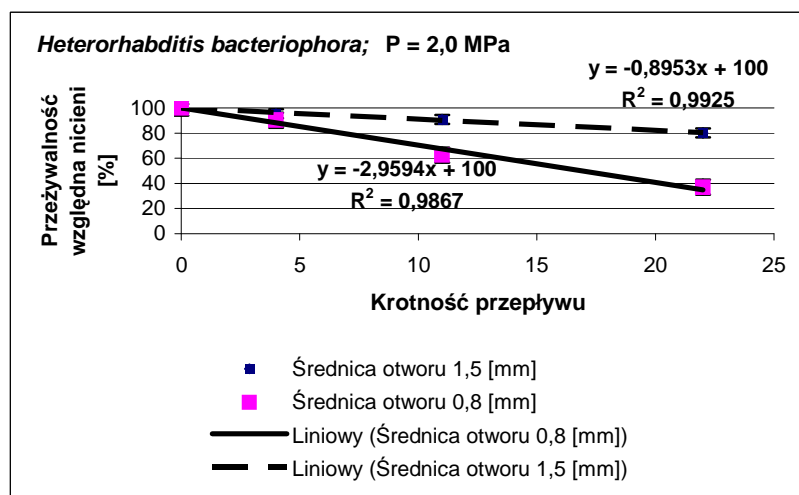
Badanie istotności wpływu ciśnienia cieczy, rozmiaru otworów w kryzach oraz wielokrotności przepływu cieczy przez instalację na zmiany przeżywalności względnej nicieni, wykonane zostało również za pomocą analizy wariancji. Wszystkie obliczone współczynniki istotności spełniały warunek P<0,01.

Wyniki badań przeżywalności względnej nicieni *H. bacteriophora* i *H. megidis* przedstawione są na rys. 3 i 3a oraz 4 i 4a.



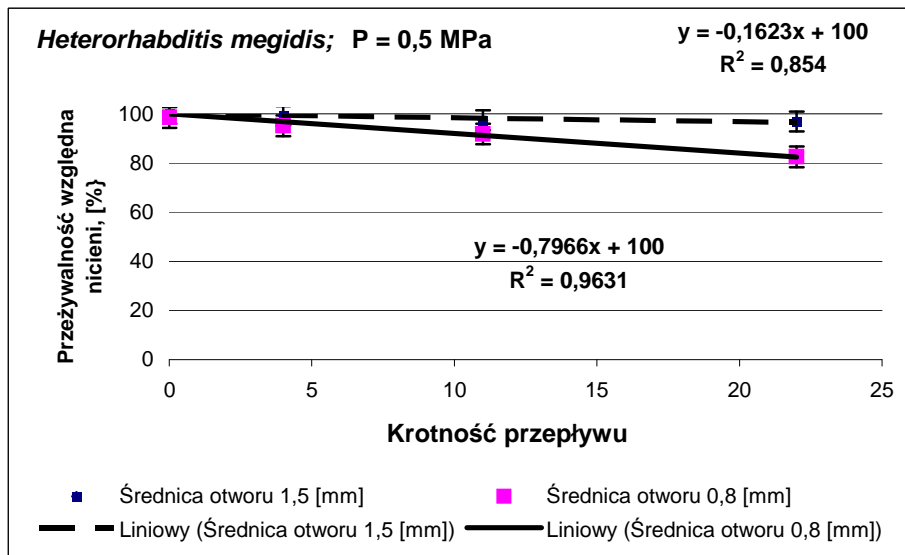
Rys. 3. Wpływ średnicy otworu i wielokrotności przepływu cieczy na przeżywalność nicieni *Heterorhabditis bacteriophora* przy ciśnieniu cieczy 0,5 MPa

Fig. 3. Influence of diameter of orifice and flow multiplicity on relative viability of *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes at liquid pressure 0,5 Mpa



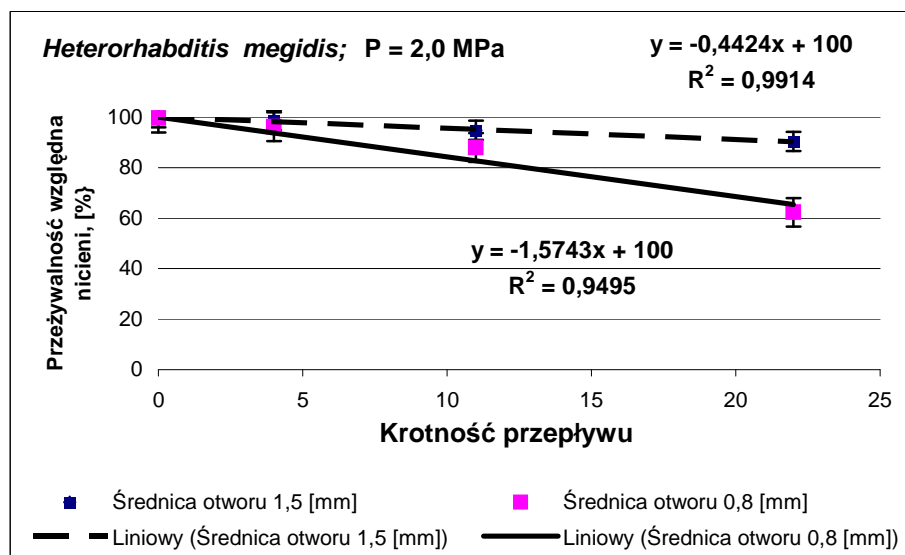
Rys. 3a. Wpływ średnicy otworu i wielokrotności przepływu cieczy na przeżywalność nicieni *Heterorhabditis bacteriophora* przy ciśnieniu cieczy 2,0 MPa

Fig. 3a. Influence of diameter of orifice and flow multiplicity on relative viability of *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes at liquid pressure 2,0 MPa



Rys. 4. Wpływ średnicy otworu i wielokrotności przepływu cieczy na przeżywalność nicieni *Heterorhabditis megidis* przy ciśnieniu cieczy 0,5 MPa

Fig. 4. Influence of diameter of orifice and flow multiplicity on relative viability of *Heterorhabditis megidis* nematodes at liquid pressure 0,5 MPa



Rys. 4a. Wpływ średnicy otworu i wielokrotności przepływu cieczy na przeżywalność nicieni *Heterorhabditis megidis* przy ciśnieniu cieczy 2,0 MPa

Fig. 4a. Influence of diameter of orifice and flow multiplicity on relative viability of *Heterorhabditis megidis* nematodes at liquid pressure 2,0 MPa

Założono liniową zależność zmian przeżywalności względnej nicieni od wielokrotności przepływu cieczy przez otwory. Przyjęto model równania regresji liniowej według wzoru (5)

$$y = -A x + 100 \quad (5)$$

gdzie:

y – przeżywalność względna V_r po n–krotnym przepływie cieczy,

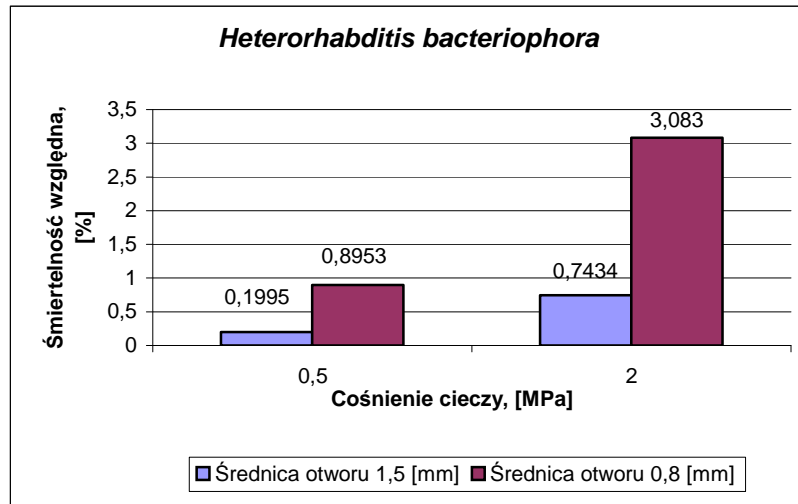
x – wielokrotność przepływu,

A – śmiertelność względna po jednokrotnym przepływie cieczy, zgodnie ze wzorem (4).

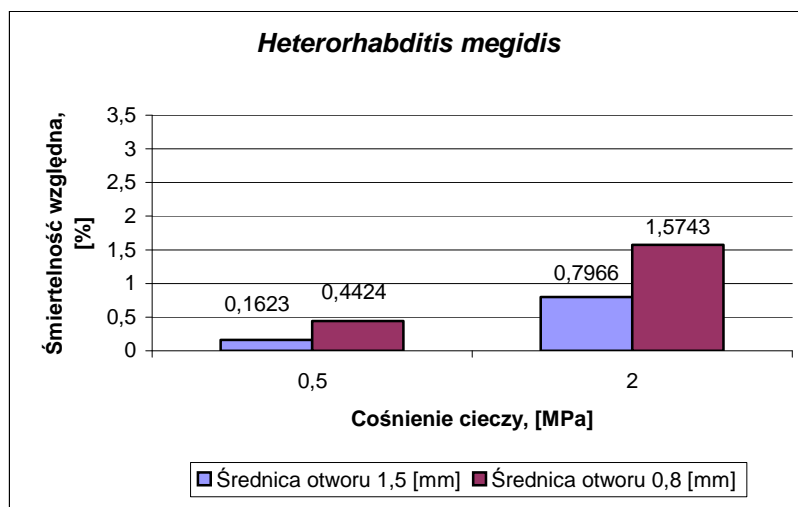
Równania regresji opisujące zmiany przeżywalności względnej nicieni dla poszczególnych ciśnień i natężeń

przepływu, w zależności od wielokrotności przepływu, wraz ze współczynnikiem dopasowania funkcji R^2 , znajdują się na wykresach (rys. 3, 3a, 4, 4a).

Na podstawie znalezionych równań regresji opisujących zmiany przeżywalności wyznaczono straty nicieni przy jednokrotnym przepływie cieczy. Wartości tych strat są współczynnikami A ze wzorów regresji liniowej. Przy przepływie wielokrotnym całkowita wartość strat jako śmiertelność względna nicieni M , będzie wynikiem iloczynu strat przy jednokrotnym przepływie i ilości przepływów. Jednostkowe straty nicieni *H. bacteriophora* i *H. megidis* przedstawiono na rys. 5 i 6.



Rys. 5. Śmiertelność względna nicieni *Heterorhabditis bacteriophora* po jednokrotnym przepływie cieczy
 Fig. 5. Relative mortality of *Heterorhabditis bacteriophora* nematodes after single liquid flow



Rys. 6. Śmiertelność względna nicieni *Heterorhabditis megidis* po jednokrotnym przepływie cieczy
 Fig. 6. Relative mortality of *Heterorhabditis megidis* nematodes after single liquid flow

5. Dyskusja

Podczas badań przeżywalność względna nicieni *Heterorhabditis bacteriophora* i *Heterorhabditis megidis* wzrosła wraz ze wzrostem ciśnienia cieczy oraz wraz z zastosowaniem mniejszego otworu w kryzie. Dla nicieni *H. megidis* była wyższa, przy tych samych parametrach przepływu cieczy, niż dla nicieni *H. bacteriophora*, mimo że przeciętna długość larw inwazyjnych *H. megidis* jest większa niż *H. bacteriophora*. Badania pokazały, że straty nicieni przepływających przez otwory w dyszach mogą zależeć od gatunku nicieni. Z literatury wynika, że również mogą zależeć od wieku nicieni [2].

Założenie, przy opracowaniu wyników badań, że istnieje liniowość przebiegu zmian przeżywalności w zależności od liczby przepływów cieczy, pozwoliło na wyznaczenie zmian przeżywalności względnej i śmiertelności względnej owadobójczych nicieni po jednokrotnym przepływie cieczy przez otwory badanych dysz. W przeprowadzonych eksperymentach największe straty wystąpiły dla nicieni *H. bacteriophora* przy ciśnieniu 2,0 MPa i średnicy otworu 0,8 mm. Wyniosły one około 3% dla pojedynczego przepływu cieczy.

6. Wnioski

1. Ciśnienie cieczy, rozmiar średnicy otworu i liczba przepływów cieczy, mają istotny wpływ na zmiany przeżywalności względnej nicieni w cieczy przepływającej przez otwory dysz.
2. Dla większych średnic otworów w dyszach i mniejszych ciśnieniach cieczy występują mniejsze spadki względnej przeżywalności nicieni zawartych w przepływającej cieczy.
3. Spadek przeżywalności względnej owadobójczych nicieni podczas przepływu zawierającej je cieczy przez otwory kryz zależy od gatunku nicieni.

7. Literatura

- [1] Chojnacki J.: Zjawiska termiczne w opryskiwaczu w aspekcie aplikacji biologicznych środków ochrony roślin. Inżynieria Rolnicza, 2007, 8(96), s. 37-42.
- [2] File J. P., Derksen R. C., Ozkan H. E., Grewal P. S. The effect of pressure differentials on the viability and infectivity of entomopathogenic nematodes. Biological Control, 2003, 27, s. 65-72.

- [3] Fife J. P., Derksen R. C., Ozkan H. E., Grewal P. S.: Using CFD Methods to Predict Damage of a Biological Pest Control Agent during Passage through a Hydraulic Nozzle *Paper Number: 033002* ASAE Annual International Meeting Las Vegas, Nevada, USA, 27-30 July 2003.
- [4] Fife J. P., Ozkan H. E., Derksen R. C., Grewal P. S., Krause C. R.: Viability of a biological pest control agent through hydraulic nozzles. *Transactions of the ASAE*, 2005, 48(1), s. 45–54.
- [5] Gajtkowski A. *Technika ochrony roślin*. AR Poznań, 2000.
- [6] Grewal P., S. Peters A.: Formulation and quality. *Nematodes as Biocontrol Agents*. Grewal, Echlers, Shapiro-Ilan. CABI Publishing, CAB International Wallingford Oxfordshire OX10 8DE UK. 2005, s. 79–90.
- [7] Hołownicki R. *Technika opryskiwania roślin dla praktyków*. Kraków: Plantpress, 2006.
- [8] Łączyński A., De Moor A., Dierikx W., Moens M., Darius P., Sonck B., Ramon H.: The effect of hydraulic agitation on the viability of nematode *Heterorhabditis bacteriophora*. *Crop Protection*, 2006, 25, s. 1135–1141.
- [9] Mason J., M., Matthews G. A., Wright D., J.: Evaluation of spinning disc technology for the application of entomopathogenic nematodes against foliar pest. *Journal of Invertebrate Pathology*, 1999, 73, s. 283–288.
- [10] Nilsson U., Gripwall E.: Influence of application technique on the viability of the biological control agents *Verticillium lecanii* and *Steinernema feltiae*. *Crop Protection*, 1999, 18 (1), s. 53–59.
- [11] Orzechowski Z., Prywer J., Zarzycki R.: *Mechanika płynów w inżynierii środowiska*. Warszawa: WNT, 2001.
- [12] Poinar Jr., G.O.: Entomopathogenic nematodes. In: Franz, J.M. (Ed), *Biological Plant and Health Protection*. Fischler. Verlag. Stuttgart, 1986, s. 95.
- [13] Poinar G. O. Jr.: Taxonomy and Biology of *Steinernematidae* and *Heterorhabditidae*. *Entomopathogenic nematodes in biological control*. Eds. Gaugler R. and Kaya H.K. CRC Press Inc., Boca Ration, Florida, USA 1990, s. 23–58.
- [14] Shapiro-Ilan D. I., Gouge D. H., Piggott S. J., Fife J. P.: Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control *Biological Control*. 2006, 38, s. 124–133.
- [15] Tomalak, M.: Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against winter moths (*Operophtera brumata* and *O. fagata*) (Lepidoptera: Geometridae) infesting urban trees. *Biocontrol Science and Technology*, 2003, 13, 517–527.
- [16] Wright D. J., Peters A., Schroer S., Fife J. P.: Application technology. *Nematodes as Biocontrol Agents*. Grewal, Echlers, Shapiro-Ilan. CABI Publishing, CAB International Wallingford Oxfordshire OX10 8DE UK. 2005, s. 91–106.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2007–2010 jako projekt badawczy nr N 310 049 32/2537.