

## ZASTOSOWANIE METODY WIRÓWKOWEJ DO EKSTRAKCJI NICIENI Z GLEBY

ADAM SZCZYGIEŁ

Zakład Naukowo-Badawczy Instytutu Sadownictwa, Brzezna

### WSTĘP

Wyizolowanie z gleby aktywnych form nicieni następuje z sporo trudności. Wynika to z wielu istotnych przyczyn, głównie jednak z dużego zróżnicowania gleby pod względem składu mechanicznego oraz zawartości cząstek organicznych, jak również ze zróżnicowania fauny nicieni. Wszystkie metody stosowane obecnie do ekstrakcji nicieni z gleby mają pewne braki, przede wszystkim nie umożliwiają wyizolowania całej populacji nicieni. Każda z nich jest w porównaniu z innymi lepiej przystosowana do ekstrakcji czy to określonej grupy nicieni, czy to z określonej gleby. W przypadku więc badań nad małą grupą nicieni łatwiej o wybór właściwej metody. Natomiast tam, gdzie chodzi o możliwie kompletną analizę nematofauny, natrafiamy na duże trudności. Dobrą metodą można by nazwać tę, która zapewniałaby wysoki procent wyizolowanych nicieni i to możliwie wszystkich gatunków, w stosunkowo krótkim czasie oraz przy małym nakładzie pracy, a także otrzymanie końcowej wodnej zawiesiny nicieni, wolnej od zanieczyszczeń organicznych i mineralnych. Wydaje się, że najbardziej zbliżoną do takiej metody jest spośród obecnie stosowanych metoda wirówkowa. Zyskuje sobie ona coraz szersze uznanie w Europie, a w USA jest dość często stosowana. Według niektórych autorów [3, 4, 5] pozwala ona wyizolować z próbek glebowych wszystkie gatunki nicieni jak również ich jaja.

Metoda wirówkowa polega na wykorzystaniu różnicy pomiędzy ciężarem właściwym nicieni i cząstek gleby. Umożliwia to oddzielenie nicieni od gleby za pomocą roztworu cukru o ciężarze właściwym takim, jak ciężar właściwy nicieni. Początkowo metoda ta była używana do ekstrakcji nicieni z bardzo małych próbek gleby. W obecnej zmodyfikowanej formie pozwala na ekstrakcję nicieni również z dużych próbek (do 0,5 kg).

W Zakładzie Naukowo-Badawczym w Brzeznej metoda ta w modyfikacji Essera i Donalsona [3] oraz własnej autora stosowana jest z dobrym wynikiem od szeregu lat. Poniżej zostaną przedstawione wyniki

porównania efektywności tej metody z efektywnością kilku innych metod stosowanych w naszym kraju.

## STOSOWANE METODY

### METODA WIRÓWKOWA

Stosowano ją w wersji do dużych próbek. Odważoną porcję gleby zalewano wodą i pozostawiano przynajmniej na jedną godzinę (przy 100 g próbkach wystarczyło dopełnić wodą do 200 ml). Następnie zawartość zlewki przenoszono do większego naczynia, dopełniano wodę do ok. 1 l, dokładnie mieszano i dekantowano przez sito o średnicy oczek ok. 2 mm do naczynia o pojemności 5 l. Do pozostałego w pierwszym naczyniu osadu dolewano powtórnie ok. 1 litra wody, mieszano i dekantowano jak poprzednio. Proces dekantacji i cedzenia powtarzano po raz trzeci. Pozostały po ostatniej dekantacji osad w pierwszym naczyniu, jak również zanieczyszczenia organiczne zatrzymane na sicie wyrzucano. Otrzymaną natomiast zawiesinę w dużym naczyniu, zawierającą oprócz nicieni drobne cząstki glebowe, cedzono 5-krotnie przez sito o średnicy oczek ok. 0,06 mm (250 mesh), spłukując każdorazowo z sita zatrzymane nicienie wraz z zanieczyszczeniami do zlewki. Zawartość zlewki pozostawiano na ok. 2 godziny, następnie zlewano nadmiar wody, a pozostałość poddawano wirowaniu. W tym celu przenoszono ją do probówek 50 lub 100 ml, dopełniając wodą do poziomu ok. 1 cm poniżej górnego brzegu probówki, mieszano dokładnie z wodą i po wyważeniu probówek poddawano wirowaniu przez 4 minuty przy 3 tysiącach obrotów na minutę. Podczas wirowania główna masa nicieni osadza się wraz z cząstkami gleby na dnie probówki, a na powierzchni wody zbierają się lekkie zanieczyszczenia organiczne. W trakcie pracy tą metodą stwierdzono jednak, że w wodzie nad osadem pozostaje spora liczba nicieni, dlatego postanowiono jej nie wylewać, ale po uprzednim usunięciu z jej powierzchni zanieczyszczeń organicznych zlewano ją do zlewki i odstawiano, a do osadu w probówkach dodawano 50% roztwór cukru (do tego samego poziomu co poprzednio wodę), mieszano dokładnie i po wyważeniu poddawano wirowaniu przez 2 minuty przy takiej samej szybkości jak poprzednio. Podczas tego wirowania cząstki gleby osadzają się na dnie probówek, natomiast główna masa nicieni pozostaje w roztworze cukru, który natychmiast zlewano i cedzono wraz z poprzednio odstawioną wodą przez gęste sitko o średnicy oczek ok. 0,04 mm (325 mesh) oraz dokładnie przepłukiwano sitko czystą wodą, aby jak najszybciej uwolnić nicienie od roztworu cukru. Nicienie zatrzymane na sitku spłukiwano do małej zlewki. Można je było bezpośrednio obserwować lub zabijać i utrwalać czy nawet używać do inokulacji.

Proces cedzenia i dekantacji przed wirowaniem ma na celu pozbycie się nadmiaru gleby, co pozwala na zwiększenie próbek oraz na otrzymanie stosunkowo czystej zawiesiny wodnej nicieni.

## METODA BAERMANNA

Stosowano ją w formie znacznie zmodyfikowanej w stosunku do pierwotnego opisu [1], ponieważ zamiast lejzków używano szalek Petri'ego o średnicy 20 cm. Glebę umieszczano na pojedynczej warstwie serwetek higienicznych produkcji angielskiej o nazwie handlowej „Kleenex tissue” rozłożonej na metalowym sicie o średnicy ok. 18 cm i oczkach o średnicy 0,6 mm. Każdorazowo stosowano 20 g próbki, rozkładając glebę cienką warstwą na całej powierzchni sita. Następnie sito wraz z glebą wkładano do szalki, dolewając wody, aby sięgała do powierzchni gleby. Odstęp pomiędzy dnem szalki a sitem wynosił ok. 7 mm. Proces wychodzenia nicieni trwał 3 dni. Codziennie zlewano wodę z szalki wraz z nicieniami i dodawano świeżej.

## METODA CHRISTIE'GO I PERRY'EGO

Jest to metoda stosowana dość często w USA [2]. Obecnie stosowano ją w następującej postaci: z próbką gleby postępowano identycznie jak w metodzie wirówkowej aż do momentu poprzedzającego proces wirowania. Następnie zamiast wirowania zawartość zlewki dawano na zmodyfikowane lejki Baermanna, używając jako filtru poprzednio wymienionych serwetek wspartych na rzadkiej drucianej siatce. Proces wychodzenia nicieni z zanieczyszczeń na lejkach trwał 3 dni. Każdego dnia zbierano je z nóżki lejka z małą ilością wody i dodawano do lejka świeżej wody.

## METODA ERLENMAJERKOWA SEDYMENTACJI

W metodzie tej pozostawiono wszystkie elementy poprzedniej metody, wprowadzając dodatkowy proces oddzielania nicieni od gleby, czyli tzw. sedymentację w kolbach Erlenmayera [9]. Modyfikacja procesu sedymentacji w stosunku do opisu polegała na tym, że zawartość zlewki C nie była cedzona przez sito o średnicy oczek 0,1 mm, ale poddawana procesowi skróconej 5 minutowej sedymentacji, a otrzymaną zawiesinę cedzono 5-krotnie przez sito o średnicy oczek 0,06 mm wraz z zawiesiną z erlenmajerek [8].

## METODA FLOTACJI OOSTENBRINKA

Metodę tę [6] stosowano według instrukcji podanej przez autora [7]. Korzystano w tym przypadku z aparatu zainstalowanego w Pracowni Nematologii IOR w Poznaniu, za udostępnienie którego dziękuję doc. A. Wilskiemu.

We wszystkich przeprowadzonych doświadczeniach metodę erlenmajerkową sedymentacji traktowano jako standardową. Jest ona bowiem stosunkowo wydajna, co zostało kilkakrotnie sprawdzone w naszej pracowni. W przypadku wszystkich metod stosowano 4 lub 5 powtórzeń oraz z wyjątkiem metody Baermanna 100 g próbki.

## WYNIKI

W pierwszym doświadczeniu stosowano 2 metody: erlenmajerkową sedymentacji i metodę Baermanna. Nicienie ekstrahowano z dwóch różnych gleb: gliny średniej i piasku gliniastego mocnego. Wyniki przedstawia tabela 1. W doświadczeniu tym metoda Baermanna okazała się mało wydajna w przypadku obu gleb. Liczba osobników niektórych gatunków czy rodzajów nicieni była 10 razy mniejsza niż otrzymana metodą erlenmajerkową sedymentacji.

Tabela 1

Efektywność dwóch metod ekstrakcji nicieni z dwóch różnych gleb wyrażona liczbą osobników na próbę

Nicienie	Glina średnia pylasta		Piasek gliniasty mocny	
	metoda sedymentacji, erlenmajerkowa	metoda Baermanna	metoda sedymentacji, erlenmajerkowa	metoda Baermanna
<i>Tylenchus</i>	358	46	243	7
<i>Tylenchorhynchus</i>	134	10	218	10
<i>Meloidogyne</i>	273	4	9	0
<i>Pratylenchus</i>	65	5	126	23
<i>Helicotylenchus</i> i <i>Rotylenchus</i>	495	76	65	0
<i>Paratylenchus</i>	22	3	12	6
<i>Criconemoides</i>	0	0	0	0
<i>Xiphinema</i>	0	0	46	20
<i>Trichodorus</i>	0	1	3	0
Ogółem pasożyty roślin	1347	145	722	66
<i>Aphelenchoidea</i>	67	23	213	3
<i>Dorylaimoidea</i>	87	20	130	15
<i>Mononchidae</i>	65	7	96	12
<i>Rhabditoidea</i>	521	188	1044	126
Pozostałe nicienie	128	14	357	8

W drugim doświadczeniu stosowano 3 metody: wirówkową, erlenmajerkową sedymentacji i metodę Christie'go i Perry'ego oraz 3 różne gleby: pył ilasty, glinę średnią i piasek gliniasty mocny. Wyniki przedstawia tabela 2. Porównując dwie pierwsze metody, należy stwierdzić, że metoda wirówkowa dała lepsze wyniki ekstrakcji w przypadku nicieni z rodzaju *Tylenchus* i *Criconemoides* oraz z niektórych gleb również *Helicotylenchus* i *Rotylenchus*. Procent wydobywania nicieni z rodzaju *Tylenchorhynchus* był taki sam lub mniejszy (z gleby piaszczystej). Poza tym wydajność obydwu metod była podobna. Metoda Christie'go i Perry'ego była natomiast w przypadku dwóch pierwszych zwięzłych gleb stosunkowo mało wydajna, a w przypadku gleby piaszczystej jej wydajność była

podobna do wydajności metody erlenmajerkowej. Ponadto, metoda ta w jednym przypadku (z pyłu ilastego) dała najlepsze wyniki ekstrakcji nicieni z rodzaju *Pratylenchus* i *Paratylenchus*.

Tabela 2

Efektywność 3 metod ekstrakcji nicieni z 3 różnych gleb wyrażona liczbą osobników na próbę

Nicienie	Pył ilasty			Gлина średnia			Piasek gliniasty		
	wirówkowa	sedymen- tacji, er- lenma- jerkowa	Christ- ie'go i Per- ry'ego	wirów- kowa	sedymen- tacji, er- lenma- jerkowa	Christ- ie'go i Per- ry'ego	wirów- kowa	sedymen- tacji, er- lenma- jerkowa	Christ- ie'go i Per- ry'ego
<i>Tylenchus</i>	843	330	241	558	300	105	563	300	295
<i>Tylenchorhynchus</i>	41	41	24	63	63	12	162	609	552
<i>Meloidogyne</i>	7	9	4	6	0	0	3	0	0
<i>Pratylenchus</i>	71	83	218	66	63	21	123	90	117
<i>Helicotylenchus</i>	87	35	17	735	744	180	75	21	33
<i>Paratylenchus</i>	26	33	72	9	54	3	33	9	42
<i>Criconemoides</i>	34	7	1	9	0	3	—	—	—
<i>Xiphinema</i>	23	37	12	—	—	—	—	—	—
Ogółem pasożyty	1132	575	589	1446	1224	324	959	1032	1039
<i>Aphelenchoidea</i>	44	54	57	3	6	0	15	6	3
<i>Dorylaimoidea</i>	111	81	55	255	213	69	351	282	171
<i>Mononchidae</i>	48	35	56	81	132	45	12	3	3
Pozostałe nicienie	1139	699	753	537	785	309	1293	1821	2070

W doświadczeniu trzecim zastosowano również 3 metody ekstrakcji: wirówkową, erlenmajerkową sedymentacji i metodę flotacji Oostenbrinka oraz 4 gleby: glinę średnią, pył ilasty, glinę lekką i piasek gliniasty mocny. Wyniki przedstawia tabela 3. Pierwsze dwie metody okazały się w przypadku 3 ostatnich gleb jednakowo wydajne z tym, że liczba tzw. pozostałych nicieni, wśród których przeważały *Rhabditoidea*, była nieco wyższa przy metodzie erlenmajerkowej. Natomiast w przypadku pierwszej gleby metoda wirówkowa była bardziej wydajna w stosunku do *Helicotylenchus* spp. oraz tak samo wydajna w stosunku do *Tylenchorhynchus* spp., natomiast w stosunku do innych nicieni była mniej wydajna niż metoda erlenmajerkowa. Metoda flotacyjna Oostenbrinka była w przypadku wszystkich gleb mniej wydajna niż poprzednie dwie metody. Jej wydajność była najlepsza w przypadku gleby piaszczystej.

Przy metodzie wirówkowej w opisanym powyżej doświadczeniu proces ekstrakcji nicieni za pomocą roztworu cukru wykonywano dwukrotnie, licząc nicienie oddzielnie z każdego wirowania. Wyniki zawarte w tabeli 3 oparte są tylko na sumie nicieni otrzymanych z wody i roztworu

Tabela 3  
Efektywność 3 metod ekstrakcji nicieni z 4 różnych gleb wyrażona liczbą osobników na próbce

Nicienie	Gлина średnia pylasta				Pył ilasty				Gлина lekka				Piasek gliniasty mocny			
	wirów- kowa	flotacji Oosten- brinka	sedymen- tacji erlenma- jerkowa	wirów- kowa	flotacji Oosten- brinka	sedymen- tacji erlenma- jerkowa	wirów- kowa	flotacji Oosten- brinka	sedymen- tacji erlenma- jerkowa	wirów- kowa	flotacji Oosten- brinka	sedymen- tacji erlenma- jerkowa	wirów- kowa	flotacji Oosten- brinka	sedymen- tacji erlenma- jerkowa	
<i>Tylenchus</i>	280	82	346	89	20	56	64	13	58	29	6	20	6	20		
<i>Tylenchorhynchus</i>	143	60	152	36	12	40	40	21	70	64	60	70	60	70		
<i>Meloidogyne</i>	202	94	339	8	9	16	0	2	0	63	64	108	64	108		
<i>Pratylenchus</i>	117	78	268	690	104	744	105	38	120	61	52	42	52	42		
<i>Helicotylenchus</i>	111	24	66	—	—	—	8	1	18	0	2	0	2	0		
<i>Paratylenchus</i>	—	—	—	64	2	30	44	19	36	0	0	10	0	10		
<i>Criconemoides</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	10	0	0	0	0		
<i>Trichodorus</i>	—	—	—	—	—	—	42	13	52	127	48	80	48	80		
Ogółem pasożyty	913	338	1171	887	147	886	303	107	354	354	232	330	232	330		
<i>Aphelenchus</i>	8	4	19	32	0	58	22	3	38	18	8	30	8	30		
Pozostałe nicienie	1175	458	1566	712	99	1088	686	154	974	698	440	782	440	782		

Tabela 4

Procent nicieni uzyskany po drugim wirowaniu z roztworem cukru w stosunku do sumy nicieni uzyskanych z wody i roztworu cukru po pierwszym wirowaniu

Nicienie	Glina średnia pylasta	Pył ilasty	Glina lekka	Piasek gliniasty mocny
<i>Tylenchus</i>	27,5	11,2	6,2	13,8
<i>Tylenchorhynchus</i>	17,5	2,8	10,0	7,8
<i>Meloidogyne</i>	17,8	0	—	3,2
<i>Pratylenchus</i>	20,4	5,4	11,4	9,8
<i>Helicotylenchus</i>	10,8	—	0	—
<i>Paratylenchus</i>	—	1,9	2,3	—
<i>Criconemoides</i>	—	—	—	0
<i>Trichodorus</i>	—	—	7,1	12,6
Ogółem pasożyty roślin	20,4	5,5	7,9	9,8
<i>Aphelenchoidea</i>	12,5	0	9,1	0
Pozostałe nicienie	10,6	7,4	5,0	6,8

cukru po pierwszym wirowaniu. Natomiast wyniki powtórnego wirowania z roztworem cukru przedstawia tabela 4. Liczba nicieni pasożytniczych, otrzymanych po drugim wirowaniu z roztworem cukru była w przypadku jednej z gleb dość duża, bo wynosiła aż 20% w stosunku do sumy nicieni z wody i roztworu cukru po pierwszym wirowaniu. W przy-

Tabela 5

Procent nicieni w wodzie nad osadem po pierwszym wirowaniu w stosunku do sumy nicieni z wody i z roztworu cukru

Rodzaje nicieni	Glina średnia pylasta	Glina lekka
<i>Tylenchus</i>	7,1	4,2
<i>Tylenchorhynchus</i>	4,5	6,7
<i>Meloidogyne</i>	8,6	20,0
<i>Pratylenchus</i>	19,8	20,7
<i>Helicotylenchus</i>	11,4	6,7
<i>Paratylenchus</i>	9,6	0
<i>Trichodorus</i>	34,5	0
<i>Criconemoides</i>	0	0
Ogółem pasożyty roślin	10,2	6,4
<i>Aphelenchus</i>	21,7	10,5
<i>Dorylaimoidea</i>	34,0	13,2
<i>Mononchidae</i>	71,4	42,9
<i>Rhabditoidea</i>	21,9	22,5
Pozostałe nicienie	17,8	6,4

padku jednak pozostałych gleb oraz innych nicieni liczba ta na ogół nie przekraczała 10<sup>0</sup>‰.

Tabela 5 zawiera wyniki jednego z doświadczeń nie omawianych bliżej w obecnej pracy, a które dotyczą ilości nicieni pozostających w wodzie nad osadem. Okazuje się, że w przypadku niektórych nicieni, zwłaszcza *Mononchidae*, *Rhabditoidea*, *Pratylenchus* i in. stanowi to dość duży procent. Więcej nicieni pozostawało w wodzie w przypadku gleby zwężłej niż piaszczystej.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przedstawionych wyników okazuje się, że metoda Baermanna jest mało wydajna nawet w przypadku gleby piaszczystej. Znacznie lepsza jest metoda Christie'ego i Perry'ego, chociaż stosunkowo dobre wyniki dawała ona przy glebie lekkiej. W przypadku gleb zwężłych pozostawała wciąż zbyt duża ilość zanieczyszczeń glebowych, co następnie utrudniało aktywność nicieni i przechodzenie ich przez filtr. Metodę tę jako prostą w zastosowaniu można polecać do ekstrakcji nicieni głównie z gleb lekkich. Wyniki dotyczące tej metody są na ogół zgodne z przytaczanymi na ten temat w literaturze.

Zastanawiający jest jednak fakt małej wydajności metody flotacyjnej Oostenbrinka, ponieważ według opinii jej autora oraz przedstawionych przez niego wyników [7] jest ona metodą wydajną i stosunkowo uniwersalną. Niestety nie miałem możliwości sprawdzenia ewentualnej przyczyny jej małej efektywności w omawianym doświadczeniu. Można przypuszczać, że spowodowane to było niedostatecznym rozdrobnieniem gleby przemywanej do aparatu przez sito i w związku z tym pozostawianiem sporej ilości dużych cząstek gleby z nicieniami. Cząstki te opadały szybko na dno i w ten sposób zmniejszały liczbę pozyskanych nicieni. Wskazuje na to również fakt najmniejszej efektywności tej metody w przypadku gleb ciężkich, które trudno rozpuszczają się w wodzie.

Wydajność pozostałych dwóch metod: wirówkowej i erlenmajerkowej była dobra i w większości przypadków podobna. Różnice były następujące: metoda wirówkowa dawała niekiedy lepsze wyniki w ekstrakcji nicieni z rodzaju *Helicotylenchus*, *Rotylenchus* i *Tylenchus* oraz była jedyną metodą umożliwiającą wyizolowanie z gleby nicieni z rodzaju *Cricone-moides*. Natomiast metoda erlenmajerkowa była w pewnych przypadkach bardziej wydajna w ekstrakcji nicieni z rodzaju *Tylenchorhynchus* i *Pratylenchus* oraz prawie zawsze — nicieni saprobiotycznych.

Ogólnie metoda wirówkowa posiada przewagę nad metodą erlenmajerkową, jest bowiem szybsza i mniej pracochłonna. Jedna osoba w ciągu 8 godzin może za pomocą tej metody wyekstrahować nicienie z 25 próbek, podczas gdy metodą sedymentacji niewiele ponad 10. Ponadto, pod-



czas gdy przy metodzie erlenmajerkowej trzeba czekać na wyniki ekstrakcji ok. 3 dni, to przy metodzie wirówkowej tylko kilka godzin.

Przy stosowaniu metody wirówkowej należy pamiętać jednak o tym, aby nie wylewać wody z nad osadu po pierwszym wirowaniu, ponieważ zawiera ona na ogół spory procent nicieni. Wodę tę należy zlać do zlewki i następnie cedzić wraz z roztworem cukru. Ponadto, w niektórych przypadkach może być wskazane powtórne wirowanie z roztworem cukru, chociaż w większości przypadków nie wydaje się to konieczne. Dodatkowa ilość nicieni otrzymana w ten sposób nie jest bowiem zbyt duża, a zwiększa się nakład pracy oraz otrzymane w ten sposób nicienie są w znacznie gorszej kondycji niż po pierwszym wirowaniu.

W podsumowaniu należy stwierdzić, że metoda wirówkowa jest godną polecenia zwłaszcza tam, gdzie chodzi o ekstrakcję możliwie wszystkich gatunków nicieni, a co ma miejsce często w badaniach faunistycznych i ekologicznych. Ponadto, metoda ta pozwala na ekstrakcję z gleby martwych nisieni i to z bardzo dobrym wynikiem (de Grisse, nie publikowane dane), co może mieć duże znaczenie w tych przypadkach, gdy nie ma możliwości ekstrakcji bezpośrednio po pobraniu próbek oraz brak warunków na ich właściwe przechowywanie. Można w tym przypadku nicienie zabić w glebie, utrwalając w ten sposób poziom populacji, a w odpowiednim czasie wykonać ekstrakcję.

Warto jeszcze wspomnieć o możliwości uproszczonej ekstrakcji nicieni z małych próbek gleby. Gdy te ostatnie nie przekraczają 20 g, można je poddawać procesowi wirowania bezpośrednio, a więc bez wstępnej dekantacji i cedzenia. Proces wirowania jest identyczny jak w przypadku dużych próbek.

#### STRESZCZENIE

W przeprowadzonych doświadczeniach porównywano wydajność kilku metod stosowanych w Polsce do ekstrakcji nicieni z gleby. Specjalną uwagę zwrócono na metodę wirówkową, którą przebadano bardziej szczegółowo.

Metoda Baermanna okazała się mało wydajna nawet w przypadku gleby piaszczystej (tab. 1). Metoda Christie'ego i Perry'ego dała wyniki raczej złe przy glebach ciężkich, natomiast przy glebie piaszczystej jej wydajność była stosunkowo dobra (tab. 1). Również metoda flotacyjna Oostenbrinka nie wykazała dostatecznej wydajności (tab. 1). Jej wydajność była najlepsza przy glebie piaszczystej. Najwyższy procent wyizolowanych nicieni otrzymano za pomocą metody wirówkowej i erlenmajerkowej sedymentacji. Wydajność obydwóch metod była w większości przypadków podobna, jednak metoda wirówkowa zapewniała czasem większy procent wyizolowanych nicieni z rodzajów *Helicotylenchus*, *Rotylenchus* i *Tylenchus* oraz była jedyną metodą umożliwiającą ekstrakcję

z gleby dostatecznej ilości nicieni z rodzaju *Criconemoides*. Natomiast metoda erlenmajerkowa dawała w niektórych przypadkach większy procent nicieni z rodzaju *Tylenchorhynchus* i *Pratylenchus* oraz we wszystkich przypadkach — nicieni saprobiotycznych.

W oparciu o otrzymane wyniki oraz dane z literatury metoda wirówkowa wydaje się lepsza niż inne badane metody. Dając w większości przypadków podobne wyniki co metoda erlenmajerkowa, jest od niej szybsza i mniej pracochłonna. Jednak w stosunku do dotychczasowych opisów wymaga drobnej modyfikacji. Okazało się mianowicie, że w wodzie znad osadu po pierwszym wirowaniu pozostaje spory procent niektórych nicieni, głównie *Mononchidae*, *Rhabditoidea* i *Pratylenchus* (tab. 5). Wody tej nie powinno się więc wylewać, ale po usunięciu zanieczyszczeń z jej powierzchni precedzić wraz z roztworem cukru.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Baermann G.: 1917, Gonnesc. Tijdschr. ned. Ind. 37, 131-137.
2. Christie J. R., Perry V. G.: 1951, Proc. helm. Soc. Wash. 18, 106-108.
3. Esser R. P., Donalson F.: 1962, Div. Plant Industry Dept. Agric. State Florida, Mimeo., N-47, 12 pp.
4. Jenkins W. R.: 1964, Plant Dis. Repr. 48, 692.
5. Miller P. M.: 1957, Plant Dis. Repr. 41, 194.
6. Oostenbrink M.: 1954, Meded. LandbHogsh. Gent, 19, 377-408.
7. Oostenbrink M.: 1960, [in Nematology: fundamentals and recent advances]. Chapel Hill, 85-102.
8. Seinhorst J. W.: 1956, Tijdschr. Plziekt., 61/6, 188-190.
9. Szczygieł A.: 1963, Biul. Inst. Ochr. Rośl. 21, 83-107.

Адам Щигел

#### ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ ДЛЯ ИЗВЛЕЧЕНИЯ НЕМАТОД ИЗ ПОЧВЫ

##### Краткое содержание

В проведенных опытах сравнивалась эффективность нескольких, применяемых в Польше, методов извлечения нематод из почвы. Более подробно испытан метод центрифугирования.

Метод Бермана оказался мало эффективным даже в случае песчаной почвы (табл. 1). Метод Christie и Perry дал не очень хорошие результаты для тяжелой почвы и удовлетворительные для песчаной почвы (табл. 2). Тоже и флотационный метод Oostenbrinka не оказался достаточно эффективным (табл. 3), лучшие результаты получено этим методом для песчаной почвы. Больше всего нематод извлекалось из почвы при использовании метода центрифугирования и метода седиментации в конических колбах. Эффективность этих методов в большинстве случаев почти одинакова, однако метод центрифугирования обеспечивал иногда высший процент изолированных нематод родов *Helicotylenchus*, *Rotylenchus* и *Tylenchus*, а также являлся единственным методом извлечения достаточного количества нематод рода *Criconemoides*. Зато метод седиментации в некоторых слу-

чаях давал высший процент нематод родов *Tylenchorhynchus* и *Pratylenchus*, а также во всех случаях больше сапробиотических нематод.

На основании полученных результатов, а также литературных данных можно считать метод центрифугирования лучшим методом по сравнению с другими сравниваемыми методами. Давая сходные результаты с седиментационным методом он менее трудоёмкий и более быстрый. Однако требует он небольших модификации по сравнению с его описанием. Оказывается именно, что в воде над осадком после первого центрифугирования остаётся довольно много нематод, главным образом *Mononchidae*, *Rhabditoidea*, *Pratylenchus* (табл. 5). Тогда этой воды не надо сливать, только после удаления загрязнений с её поверхности процедить вместе с раствором сахара.

*Adam Szczygiel*

#### USE OF CENTRIFUGAL FLOTATION TECHNIQUE FOR EXTRACTING NEMATODES FROM SOIL

##### S u m m a r y

The effectiveness of several techniques used in Poland for the extraction of nematodes from soil was compared in the experiments conducted. Special attention was paid to the centrifugal flotation method, which was investigated in greater detail.

Baermann's technique gave very poor recovery of nematodes from both heavy and light sandy soil (Tab. 1). Christie and Perry's technique was ineffective in the case of heavy soils, but it gave relatively good results when applied to sandy soil (Tab. 2). Oostenbrink's flotation method, also appeared insufficiently effective, but was more suitable for light sandy soil than for heavy ones (Tab. 3). Two other methods, Seinhorst's two-Erlenmayer flask sedimentation and centrifugal flotation, gave fairly good recovery of nematodes from all soils. The results obtained by these two techniques were in most cases similar. The centrifugal flotation method however gave better recovery of nematodes of the genera *Helicotylenchus*, *Rotylenchus* and *Tylenchus* in some cases and it was the only method allowing recovery of sufficient percentage of *Criconemoides* spp. On the other hand, the Erlenmayer flask sedimentation technique some times gave better recovery of *Tylenchorhynchus* spp. and *Pratylenchus* spp., and of saprobic nematodes in all cases.

On the basis of the results obtained and data presented in literature the centrifugal flotation technique seems to be the best of all the methods tested, since it gives similar results to the Erlenmayer flask sedimentation technique in the extraction of most nematode genera, but is much faster and less laborious. It requires, however a slight modification in relation to previous descriptions. It appeared that a relatively high percentage of some nematodes (*Mononchidae*, *Rhabditoidea*, *Pratylenchus* and some others) remain in the water after the first centrifugation (Tab. 5). This water should not therefore be discarded but after debris was been removed from its surface should be sieved together with the sugar solution in order to collect the nematodes present in it.