

Evaluation of the effect of morpholinium ionic liquids on the condition and grazing activity of slugs (Gastropoda: Arionidae) on plants

Ocena wpływu morfoliniowych cieczy jonowych na kondycję i aktywność żerowania ślimaków (Gastropoda: Arionidae) na roślinach

Jan Kozłowski¹, Monika Jaskulska¹, Juliusz Pernak², Nina Borucka²

Summary

The effect of seven morpholinium ionic liquids on the survival of *Arion lusitanicus* and *A. rufus* and damage to plants by those slugs. The pests was studied under laboratory conditions. It was found that these compounds were not lethal to the slugs. The slugs showed a different reaction to the compounds tested. The compounds [BMmorph][HSO₄] and [C₁₀OMmorph][Mig] reduced the plant damage caused by both slug species, whereas [BMmorph][MEEAc] stimulated grazing by *A. lusitanicus*. The compounds [BMmorph][MBT] and [DEmorph][H₂PO₄] reduced grazing by *A. lusitanicus* and stimulated grazing by *A. rufus*. The action of the tested morpholinium ionic liquids was of short duration. Therefore further research are needed to improve their durability of action.

Key words: slugs, morpholinium ionic liquids, damage of plants

Streszczenie

W warunkach laboratoryjnych określono wpływ siedmiu morfoliniowych cieczy jonowych na żywotność *Arion lusitanicus* i *A. rufus* oraz na wielkość powodowanych przez te ślimaki uszkodzeń roślin. Stwierdzono, że związki te nie były letalne dla ślimaków oraz, że reakcja ślimaków na poszczególne związki była silnie zróżnicowana. Związki [BMmorph][HSO₄] i [C₁₀OMmorph][Mig] ograniczały uszkodzenia roślin przez obydwa gatunki ślimaków, a [BMmorph][MEEAc] stymulował uszkodzenia przez *A. lusitanicus*. Ponadto związki [BMmorph][MBT] i [DEmorph][H₂PO₄] działały odwrotnie, ograniczały żerowanie *A. lusitanicus* i stymulowały żerowanie *A. rufus*. Działanie badanych jonowych cieczy morfoliniowych było krótkotrwałe, co wymaga prowadzenia dalszych badań nad zwiększeniem ich trwałości.

Słowa kluczowe: ślimaki, morfoliniowe cieczy jonowe, uszkodzenia roślin

¹ Instytut Ochrony Roślin – Państwowy Instytut Badawczy
Zakład Zoologii
Władysława Węgorka 20, 60-318 Poznań
j.kozlowski@iorpib.poznan.pl

² Politechnika Poznańska
Wydział Technologii Chemicznej
Pl. Marii Skłodowskiej-Curie 5, 60-965 Poznań

Wstęp / Introduction

Morfoliniowe ciecze jonowe są to sole, w których kation w swojej budowie zawiera pierścień morfoliniowy, a dodatni ładunek na atomie azotu stabilizowany jest przez anion ujemny organiczny lub nieorganiczny. Morfoliniowe ciecze jonowe są znacznie tańsze niż powszechnie stosowane ciecze jonowe z kationem imidazoliowym, pirydyniowym czy fosfoniowym. Sole morfoliniowe charakteryzuje wysoka stabilność termiczna i elektrochemiczna (Choi i wsp. 2006). Ekotoksyczność morfoliniowych cieczy jonowych nie jest jeszcze tak szczegółowo zbadana, jak ekotoksyczność cieczy imidazoliowych, pirydyniowych czy amoniowych, jednak badania toksykologiczne wykazały, że są to związki znacznie mniej toksyczne względem mikroorganizmów (Pernak i wsp. 2011a; Petkovic i wsp. 2011). Ciecze jonowe są obecnie popularną grupą związków chemicznych, bezpiecznych dla środowiska, które mają coraz szersze zastosowanie, ostatnio również w ochronie roślin, jako herbicydy, bakteriocidy i fungicydy (Pernak i wsp. 2007, 2011b; Praczyk i wsp. 2012).

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie czy morfoliniowe ciecze jonowe wykazują aktywność w stosunku do ślimaków *Arion lusitanicus* i *A. rufus*, które są groźnymi szkodnikami roślin (Kozłowski 2012). W warunkach laboratoryjnych określono wpływ nowo otrzymanych morfoliniowych soli na żywotność i aktywność żerowania ślimaków oraz na wielkość uszkodzeń roślin.

Materiały i metody / Materials and methods

W warunkach laboratoryjnych (16°C, RH 93±3%, długość dnia 12 godzin) wykonano testy bez wyboru na roślinach opryskanych badanymi związkami (rys. 1), które eksponowano na żerowanie ślimaków. Użyto roślin rzepaku

ozimego odmiana Bazyl w fazie rozwojowej 2–4 liści, które wyprodukowano z nasion wysianych w 5 cm warstwie ziemi, w półprzezroczystych zamykanych plastikowych pojemnikach (26 × 26 × 14 cm), po 6 roślin w każdym pojemniku. Rośliny opryskano roztworami cieczy jonowych w trzech stężeniach. Kontrolę stanowiły rośliny opryskane wodą. W każdym pojemniku umieszczono po jednym ślimaku o średniej masie: *A. lusitanicus* – 1,84 g i *A. rufus* – 1,23 g. Po 24 godzinach, a następnie, co dwa dni określono wielkość uszkodzeń roślin według pięciostopniowej skali (0 – brak uszkodzeń, 25, 50, 75 i 100% uszkodzonej powierzchni roślin) oraz oceniano kondycję i żywotność ślimaków. Wykonano po 5 powtórzeń dla badanych cieczy i kontroli. Wyniki poddano analizie statystycznej, stosując analizę kowariancji (uwzględniającą masę ślimaków) oraz test Fishera przy poziomie istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Istotne różnice w wielkościach uszkodzeń roślin rzepaku traktowanych cieczami jonowymi, przez ślimaki *A. lusitanicus*, wystąpiły po jednym i po trzech dniach od ich aplikacji (tab. 1). Po jednym dniu, istotnie mniejsze uszkodzenia w stosunku do kontroli stwierdzono na roślinach traktowanych [DEmorf][H₂PO₄] w stężeniu 1,0 i 0,5%. Po trzech dniach, istotnie mniejsze uszkodzenia wystąpiły na roślinach traktowanych: [DEmorf][H₂PO₄] (1,0 i 0,5%), [BMmorf][MBT] (0,5 i 0,1%), [C₁₀OMmorf][Mig] (1,0 i 0,5%) oraz [BMmorf][HSO₄] (0,5%). Istotnie silniej uszkodzone niż w kontroli, po jednym i po trzech dniach były rośliny rzepaku traktowane [BMmorf][MEEAc] w stężeniu 0,1%.

Tabela 1. Uszkodzenia roślin rzepaku powodowane przez *A. lusitanicus* (średnie poprawione, w %) traktowanego cieczami jonowymi i wyniki testu Fishera przy $\alpha = 0,05$

Table 1. Damage to rape plants caused by *A. lusitanicus* (adjusted mean, %) after the treatment with ionic liquids, and results of Fisher's test with $\alpha = 0.05$

Ciecz jonowa Ionic liquid	Stężenie Concentration [%]	Liczba dni po aplikacji związków Number of days after the application of compounds			
		1	3	5	7
1	2	3	4	5	6
1a – [BMmorf][Aces]	0,1	21,45 bcdef	72,69 abcd	81,09 a	78,85 a
	0,5	22,06 bcde	67,73 abcdef	83,26 a	81,87 a
	1,0	29,64 bc	82,65 abc	105,09 a	105,77 a
1b – [BMmorf][Sach]	0,1	23,11 bcde	77,15 abcd	97,01 a	98,71 a
	0,5	10,79 efg	57,13 bcdefgh	84,40 a	87,21 a
	1,0	22,63 bcde	66,38 bcdefg	87,06 a	72,79 a
1e – [BMmorf][MEEAc]	0,1	48,56 a	97,26 a	110,95 a	110,73 a
	0,5	24,00 bcde	86,30 ab	115,91 a	121,64 a
	1,0	13,69 defg	54,25 cdefghi	80,37 a	90,33 a

1	2	3	4	5	
1f – [BMmorf][HSO ₄]	0,1	12,46 defg	52,53 defghi	73,28 a	76,66 a
	0,5	9,69 efg	30,42 hij	69,98 a	76,62 a
	1,0	8,53 efg	47,39 defghij	73,34 a	76,56 a
1c – [BMmorf][MBT]	0,1	6,12 fg	35,03 hij	70,00 a	76,58 a
	0,5	8,52 efg	22,06 j	67,42 a	76,70 a
	1,0	8,39 efg	40,18 efghij	72,44 a	60,01 a
2g – [DEmorf][H ₂ PO ₄]	0,1	10,22 efg	41,59 efghij	73,34 a	76,57 a
	0,5	4,56 g	36,04 hij	73,32 a	76,60 a
	1,0	4,40 g	36,61 ghij	72,51 a	76,57 a
3d – [C ₁₀ OMmorf][Mig]	0,1	10,05 efg	38,19 fghij	73,18 a	76,82 a
	0,5	14,53 cdefg	37,34 ghij	73,24 a	76,73 a
	1,0	10,10 efg	25,25 ij	73,27 a	76,69 a
Kontrola – Control		17,86 cdef	67,49 bcdef	72,45 a	76,66 a

Wartości w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Values in columns marked with the same letters do not differ significantly

Tabela 2. Uszkodzenia roślin rzepaku powodowane przez *A. rufus* (średnie poprawione, w %), traktowanego cieczami jonowymi i wyniki testu Fishera przy $\alpha = 0,05$

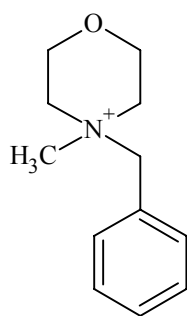
Table 2. Damage to rape plants caused by *Arion rufus* (adjusted mean, %) after the treatment with ionic liquids, and results of Fisher's test with $\alpha = 0.05$

Ciecz jonowa Ionic liquid	Stężenie Concentration [%]	Liczba dni po aplikacji związków Number of days after the application of compounds					
		1	3	5	7	9	11
1a – [BMmorf][Aces]	0,1	16,43 a	54,41 abc	82,51 a	85,12 abc	79,85 efgh	88,45 bcde
	0,5	17,98 a	55,68 ab	76,83 a	76,43 abcd	67,08 fgh	83,43 cde
	1,0	13,76 a	45,05 abcd	68,58 abc	76,42 abcd	63,66 h	76,31 de
1b – [BMmorf][Sach]	0,1	15,27 a	52,34 abcd	76,72 a	87,66 ab	86,12 bcdef	91,51 abcd
	0,5	16,46 a	45,66 abcd	55,23 bcd	66,51 cdef	67,96 fgh	83,75 cde
	1,0	8,78 a	35,34 cde	54,15 cde	71,39 bcde	69,70 fgh	84,80 cde
1e – [BMmorf][MEEAc]	0,1	20,96 a	51,99 abcd	74,38 ab	85,32 abc	84,92 cdefg	96,52 abc
	0,5	17,92 a	36,13 bcde	65,78 abc	75,54 abcd	71,37 fgh	83,16 cde
	1,0	12,19 a	34,64 cde	65,91 abc	83,94 abc	84,67 defg	93,05 abc
1f – [BMmorf][HSO ₄]	0,1	13,25 a	17,16 ef	34,37 e	49,96 f	66,31 gh	74,09 e
	0,5	10,77 a	18,38 ef	37,07 de	54,68 ef	84,43 defg	91,08 abcd
	1,0	9,30 a	10,23 f	29,35 e	48,71 f	69,88 fgh	74,00 e
1c – [BMmorf][MBT]	0,1	17,12 a	51,16 abcd	78,30 a	86,97 ab	102,88 abcd	104,79 ab
	0,5	25,40 a	55,24 ab	84,06 a	91,93 a	106,23 a	106,52 a
	1,0	22,31 a	45,66 abcd	78,56 a	78,76 abc	105,31 ab	104,56 ab
2g – [DEmorf][H ₂ PO ₄]	0,1	19,04 a	61,79 a	84,16 a	93,24 a	108,10 a	107,15 a
	0,5	12,94 a	42,61 abcd	76,94 a	91,68 a	104,24 abc	103,81 ab
	1,0	8,66 a	35,56 bcde	55,44 bcd	68,84 bcde	86,47 bcdef	85,44 cde
3d – [C ₁₀ OMmorf][Mig]	0,1	23,55 a	45,84 abcd	67,61 abc	78,22 abc	95,05 abcde	96,07 abc
	0,5	11,57 a	18,62 ef	39,68 de	58,02 def	74,34 fgh	79,78 de
	1,0	19,50 a	34,46 de	71,14 abc	82,99 abc	98,24 abcde	102,60 ab
Kontrola – Control		18,92 a	43,02 abcd	54,72 cde	63,88 def	73,08 fgh	82,13 de

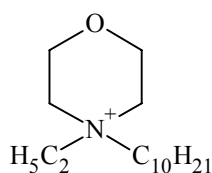
Wartości w kolumnach oznaczone tą samą literą nie różnią się istotnie

Values in columns marked with the same letters do not differ significantly

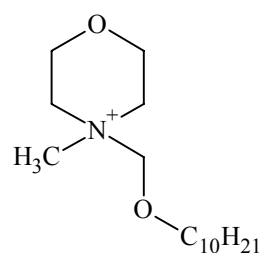
Kationy:
Cations:



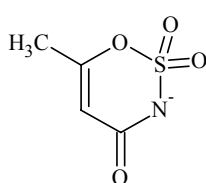
1 – [BMmorf]



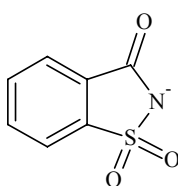
2 – [DEmorf]

3 – [C₁₀OMmorf]

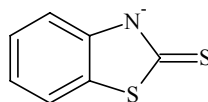
Aniony:
Anions:



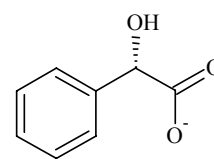
a – [Aces]



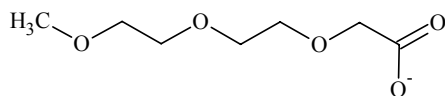
b – [Sach]



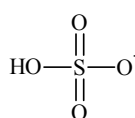
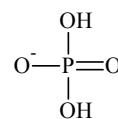
c – [MBT]



d – [Mig]



e – [MEEAc]

f – [HSO₄]g – [H₂PO₄]

- 1a – [BMmorf][Aces] – acesulfam 4-benzyl-4-metylmorfoliniowy – 4-benzyl-metylmorfolinium acesulfame
 1b – [BMmorf][Sach] – sacharynian 4-benzyl-4-metylmorfoliniowy – 4-benzyl-metylmorfolinium saccharinate
 1e – [BMmorf][MEEAc] – 2-[2-(2-metoksyetoksy)etoksy]octan 4-benzyl-4-metylmorfoliniowy – 4-benzyl-metylmorfolinium 2-[2-(2-metoksyetoksy)etoksy]acetate
 1f – [BMmorf][HSO₄] – wodorosiarczan(VI) 4-benzyl-4-metylmorfoliniowy – 4-benzyl-metylmorfolinium hydrogen sulfate
 1c – [BMmorf][MBT] – merkaptobenzotiazolan 4-benzyl-4-metylmorfoliniowy – 4-benzyl-metylmorfolinium merkaptobenzotiazolate
 2g – [DEmorf][H₂PO₄] – diwodorofosforan(V) 4-decyl-4-etylmorfoliniowy – 4-decyl-4-etylmorfolinium dihydrogen fosfonate
 3d – [C₁₀OMmorf][Mig] – (S)-(+)-migdan 4-decyloksymetylo-4-metylmorfoliniowy – 4-decyloksometyl-4-metylmorfolinium (S)-(+)-mandelate

Rys. 1. Badane morfoliniowe cieczy jonowe

Fig. 1. Tested morpholinium ionic liquids

W doświadczeniu z *A. rufus*, pierwsze różnice zaobserwowano trzeciego dnia po zastosowaniu badanych związków (tab. 2). Istotnie słabiej uszkodzone w stosunku do kontroli były rośliny rzepaku traktowane [BMmorf][HSO₄] we wszystkich stosowanych stężeniach (1,0; 0,5 i 0,1%) oraz [C₁₀OMmorf][Mig] w koncentracji 0,5%. Od piątego dnia nie obserwowano roślin istotnie słabiej uszkodzonych niż w kontroli. Stwierdzono natomiast wzrost uszkodzeń roślin traktowanych związkami: [DEmorf][H₂PO₄] (0,1 i 0,5%), [BMmorf][MBT] (1,0; 0,5 i 0,1%), [BMmorf][Aces] (0,1; 0,5%), [BMmorf][Sach] (0,1%) oraz [BMmorf][MEEAc] (0,1%). Po dziewięciu dniach istotnie większe uszkodzenia wystąpiły na roślinach traktowanych związkami: [DEmorf][H₂PO₄] (0,1 i 0,5%), [BMmorf][MBT] (1,0; 0,5 i 0,1%) oraz [C₁₀OMmorf][Mig] (1,0 i 0,1%), a po

jedenastu dniach także rośliny traktowane związkiem [BMmorf][MEEAc] w stężeniach 1,0 i 0,1%.

Wykazano, że reakcja ślimaków na poszczególne morfoliniowe cieczy jonowe była silnie zróżnicowana. Niektóre związki były deteretne dla ślimaków, co powodowało istotne zahamowanie ich żerowania i w rezultacie ograniczenie uszkodzonej powierzchni roślin, a inne stymulowały ich żerowanie, co objawiało się wzrostem uszkodzonej powierzchni roślin w stosunku do kontroli. Część testowanych związków nie wykazała żadnego działania na ślimaki. Stwierdzono, że redukcja uszkodzeń roślin wykazana dla niektórych cieczy, choć istotna statystycznie, nie była zbyt duża i utrzymywała się przez trzy dni po ich aplikacji. W porównaniu do deteretnego działania związków z innych grup chemicznych, np. metiokarbu czy abamektyny (Kozłowski i wsp.

2010) trwałość działania badanych cieczy jonowych była niska. Znacznie dłużej (11 dni po zastosowaniu) działały ciecze stymulujące żerowanie *A. rufus* – [BMmorf][MBT] i [C₁₀OMmorf][Mig]. Odwrotną reakcję na te związki, w postaci ograniczenia żerowania, wykazały natomiast ślimaki *A. lusitanicus*. Świadczy to o różnych preferencjach zapachowych i pokarmowych obydwóch gatunków ślimaków, co wielokrotnie podawano przy okazji innych badań (Briner i Frank 1998; Kozłowski i Kozłowska 2009).

Przedstawione badania stanowią pierwszą w literaturze światowej próbę sprawdzenia aktywności działania morfoliniowych cieczy jonowych na ślimaki. Trzy z nich zostały przez autorów pracy zgłoszone w grudniu 2011 r. do Urzędu Patentowego (nr zgłoszenia P. 397931) w ramach wynalazku pt.: „4,4-Dipodstawione morfoliniowe ciecze jonowe oraz sposób ich otrzymywania”. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki testów należy kontynuować badania nad efektywnością morfoliniowych cieczy jonowych w stosunku do ślimaków. Badania te powinny obejmować prace nad zwiększeniem ich trwałości. Celowe jest także poszukiwanie i syntetyzowanie nowych cieczy jonowych, zwłaszcza na bazie metiokarbu, metaldehydu i fosforanu żelaza, które są substancjami aktywnymi komercyjnych moluskocydów i wykazują wysoką skuteczność w zwalczaniu ślimaków. Duże znaczenie mają zarówno związki przeznaczone do ograniczania żerowania ślimaków, jak również stymulujące żerowanie, które można potencjalnie wykorzystać jako przynęty. Powinny to być jednak związki

charakteryzujące się długotrwałym działaniem w warunkach polowych.

Wnioski / Conclusions

1. Wpływ cieczy jonowych na poszczególne gatunki ślimaków nagich był zróżnicowany, jednak żaden z zastosowanych związków nie wykazał letalnego działania.
2. Deterentne działanie na obydwie gatunki ślimaków po trzech dniach od ich aplikacji wykazały związki (S)-(+)-migdalan 4-decyloksymetylo-4-metylomorfoliniowy i wodorosiarczan (VI) 4-benzyl-4-metylomorfoliniowy (0,5%), a stymulujące na *A. lusitanicus* wykazał 2-[2-(2-metoksyetoksy)etoksy]octan 4-benzyl-4-metylomorfoliniowy w stężeniu 0,1%.
3. Odwrotne działanie wykazały: diwodorofosforan(V) 4-decylo-4-etylomorfoliniowy (0,5%) i merkaptobenzotiazolan 4-benzyl-4-metylomorfoliniowy (0,5 i 0,1%). W przypadku *A. lusitanicus* wymienione związki ograniczały żerowanie ślimaków na roślinach, a w przypadku *A. rufus* stymulowały żerowanie.

Badania zrealizowano w ramach działalności statutowej DS 32/172/2012 i ZOR-02.

Literatura / References

- Briner T., Frank T. 1998. The palatability of 78 wildflower strip plants to the *Arion lusitanicus*. *Ann. Appl. Biol.* 133: 123–133.
- Choi S., Kim K.-S., Cha J.-H., Lee H., Oh J.S., Lee B.-B. 2006. Thermal and electrochemical properties of ionic liquids based on N-methyl-N-alkyl morpholinium cations. *Korean J. Chem. Eng.* 23 (5): 795–799.
- Kozłowski J. 2012. The significance of alien and invasive slug species for plant communities in agroecosystems. *J. Plant Prot. Res.* 52 (1): 67–76.
- Kozłowski J., Kałuski T., Jaskulska M., Kozłowska M. 2010. Initial evaluation of the effectiveness of selected active substances in reducing damage to rape plants caused by *Arion lusitanicus* (Gastropoda, Pulmonata, Arionidae). *J. Plant Prot. Res.* 50 (4): 520–526.
- Kozłowski J., Kozłowska M. 2009. Palatability and consumption of 95 species of herbaceous plants and oilseed rape for *Arion lusitanicus* Mabille, 1868. *J. Conch.* 40 (1): 79–90.
- Petkovic M., Seddon K.R., Rebelo L.P.N., Pereira C.S. 2011. Ionic liquids: a pathway to environmental acceptability. *Chem. Soc. Rev.* 42 (27): 1382–1403.
- Pernak J., Borucka N., Walkiewicz F., Markiewicz B., Fochtman P., Stolte S., Steudte S., Stepnowski P. 2011a. Synthesis, toxicity, biodegradability and physicochemical properties of 4-benzyl-4-methylmorpholinium-based ionic liquids. *Green Chem.* 13: 2901–2910.
- Pernak J., Syguda A., Janiszewska D., Materna K., Praczyk T. 2011b. Ionic liquids with herbicidal anions. *Tetrahedron* 67 (26): 4838–4844.
- Pernak J., Syguda A., Mirska I., Pernak A., Nawrot J., Prądyńska A., Griffin S.T., Rogers R.D. 2007. Choline-derivative-based ionic liquids. *Chem. Eur. J.* 13 (24): 6817–6827.
- Praczyk T., Kardasz P., Jakubiak E., Syguda A., Materna K., Pernak J. 2012. Herbicidal ionic liquids with 2,4-D. *Weed Sci.* 60 (2): 189–192.