

WPLYW STOSOWANIA MINERALNYCH NAWOZÓW AZOTOWYCH
NA WYSTĘPOWANIE NITROZOAMIN I MIKOTOKSYN
W ŚRODOWISKACH GLEBOWYCH GÓRSKICH EKOSYSTEMÓW TRAWIASTYCH[✱]

Bolesław Smyk, Edward Różycki, Wiesław Barabasz

Akademia Rolnicza w Krakowie

Intensywne stosowanie mineralnych nawozów azotowych w nawożeniu górskich użytków zielonych - niezależnie od korzystnych oddziaływań o dużym znaczeniu dla wzrostu produktywności biologicznej ekosystemów trawiastych - może wywoływać niekorzystne zmiany biologiczne w stabilności ekologicznej ekosystemów trawiastych [1, 2, 4, 6, 9, 10, 11].

W wyniku stosowania mineralnych nawozów azotowych zachodzą w środowiskach glebowych ekosystemów trawiastych różne niekorzystne zmiany biocenotyczne, związane z recesją wielu grup fizjologicznych mikroorganizmów glebowych i gatunków roślin, co z reguły doprowadza do poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu

[✱] Praca została wykonana w ramach problemu MR.II.17. „Aktywność drobnoustrojów oraz ich wykorzystywanie i zwalczanie”, koordynowanego przez Instytut Mikrobiologii UŁ w Łodzi.

ekosystemów. W końcowym bilansie powstałych zmian i szkodliwych zjawisk w biocenozach klimaksowych następuje spadek produktywności biologicznej ekosystemów trawiastych [2, 4, 7, 8, 12, 15 i 16].

Wydaje się, że z punktu widzenia ekologii i toksykologii ekologicznej ekosystemów lądowych nie może być nie uwzględniony aspekt toksykologiczny wielu metabolitów drobnoustrojów, powstających w środowiskach glebowych przy stosowaniu wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych [1, 5, 6, 10, 11, 13, 17].

Z badań Ayanaby i Verstraete [1], Callena [2], Kofoeda i wsp. [6], Lai i wsp. [7], Montesano i wsp. [8], Panchoły'ego [9], Smyka i wsp. [11, 12, 13], Steyna [14] i wielu innych autorów specjalistów z zakresu toksykologii ekologicznej wynika, że na tle powyższych oddziaływań głównie nitrozoaminy i mikotoksyny stanowią potencjalne zagrożenie środowisk przyrodniczych ludzi i zwierząt.

Celem badań było poznanie wpływu stosowania mineralnych nawozów azotowych (N i NPK) na zmiany mikrobiocenotyczne i toksykologiczne w środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych, reprezentowanych przez zespoły roślinne *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostidetum*.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania mikrobiologiczne i analityczno-chemiczne oraz toksykologiczne przeprowadzono na łąkach górskich, reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne, zbliżone do zespołu *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostidetum*, położonych na tere-

nach doświadczalnych IMUZ-u w Jaworkach koło Szczawnicy (Pieni-ny). Opis obiektów doświadczalnych, stosowane metody z zakresu badań mikrobiologicznych i fitosocjologicznych podano w pracy pt. „Wpływ nawożenia mineralnego na zmiany mikrobiocenotyczne i produktywność biologiczną wybranych górskich ekosystemów trawiastych”, opublikowanej w niniejszym tomie.

Oznaczenie nitrozoamin (DMNA i DENA) w środowiskach glebowych badanych ekosystemów trawiastych przeprowadzono na podstawie metody podanej przez Pancholy'ego oraz Kofoeda i wsp. [6, 9]. Izolację grzybów toksynotwórczych i oznaczenie ich metabolitów (mikotoksyn) oparto na metodzie Daviesa, Dienera i Eldridge'a zmodyfikowanej i zaadaptowanej do izolacji grzybów toksynotwórczych ze środowisk glebowych [12, 14].

WYNIKI BADAŃ

Wpływ wysokich dawek nawozów azotowych na występowanie nitrozoamin w środowiskach glebowych

W środowiskach glebowych badanych górskich ekosystemów trawiastych, reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne Arrhenatheretum elatioris i Gladiolo-Agrostidetum, jednostronnie nawożonych wysokimi dawkami azotu mineralnego (od 120-360 kg/N/ha/rok) stwierdzono w trzecim i w czwartym roku nawożenia występowanie nitrozoamin: DMNA i DENA w stężeniach 0,75-2,00-5,00-10,00 i nawet 20,00 ppm (tab. 1). Przy zastosowaniu nawożenia NPK na górskie użytki zielone nie stwierdzono wyraźnych różnic w zawartości nitrozoamin w badanych środowiskach glebowych (tab. 1).

Wpływ stosowania mineralnych nawozów azotowych na występowanie nitrozoamin i mikotoksyn
w środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych

Obiekt badawczy	I. Nawożenie N					N ₃₆₀ kg N/ha/rok
	N ₀	N ₆₀	N ₁₂₀	N ₁₈₀	N ₂₄₀	
1. Występowanie nitrozoamin DNNA (dwumetylonitrozoaminy) i DENA (duetylonitrozoaminy) w środowiskach glebowych						
A. ARRHENATHERETUM ELATIORIS		+	++	++	++	+++
B. GLADIOLO-AGROSTIDETUM		+	++	++	++	+++
2. Występowanie grzybów toksynotwórczych (producentów mikotoksyn) w środowiskach glebowych						
A. ARRHENATHERETUM ELATIORIS		X	X	X	XX	XXX
B. GLADIOLO-AGROSTIDETUM		X	X	X	XX	XXX
z rodzaju ASPERGILLUS (A.chevalieri, A.ochraceus, A.terreus) ^{***}						
z rodzaju FUSARIUM (F.scirpii, F.sporotrichioides) ^{***}						
z rodzaju PENICILLIUM (P.cyclopium, P.jensenii, P.rugulosum, P.tardum) ^{***}						
II. Nawożenie NPK						
	N ₀ P ₀ K ₀	N ₆₀ P ₈₀ K ₈₀	N ₁₂₀ P ₈₀ K ₈₀	N ₁₈₀ P ₈₀ K ₈₀	N ₂₄₀ P ₈₀ K ₈₀	N ₃₆₀ P ₈₀ K ₈₀ kg/ha/rok
1. Występowanie nitrozoamin DNNA (dwumetylonitrozoaminy) i DENA (duetylonitrozoaminy) w środowiskach glebowych						
A. ARRHENATHERETUM ELATIORIS		+	++	++	++	+++
B. GLADIOLO-AGROSTIDETUM		+	++	++	++	+++
2. Występowanie grzybów toksynotwórczych (producentów mikotoksyn) w środowiskach glebowych						
A. ARRHENATHERETUM ELATIORIS		X	XX	XX	XX	XXX
B. GLADIOLO-AGROSTIDETUM		X	X	X	XX	XXX
z rodzaju ASPERGILLUS (A.chevalieri, A.ochraceus, A.terreus) ^{***}						
z rodzaju FUSARIUM (F.scirpii, F.sporotrichioides) ^{***}						
z rodzaju PENICILLIUM (P.cyclopium, P.jensenii, P.rugulosum, P.tardum) ^{***}						

Działanie nitrozoamin: fitotoksyczne, mutagenne, teratogenne i ko-karcinogenne oraz bakterio- i grzybobójcze;

Występowanie nitrozoamin: + = 0,75 - 2,00 ppm DNNA i DENA; ++ = 5,0 - 10,00 ppm DNNA i DENA; +++ = 10,00 - 20,00 ppm DNNA i DENA;

Działanie wyodrębnionych mikotoksyn: bakterio- i grzybobójcze, fitotoksyczne m.in. blokada hormonu alfa-NAA odpowiedzialnego za rozogone-

zę u roślin oraz mutagenne, teratogenne i ko-karcinogenne.

Wytwarzane mikotoksyny: * Gliotoksyna, ochratoksyny A i B, kwas terreinowy i inne.

^{***} Scirpenol i sporofusaryna.

^{***} Dikumarol, rugulozyna, kwas penicylinowy i inne.

Wspomniane nitrozoaminy (DMNA i DENA), odznaczając się toksycznym wpływem na mikroorganizmy glebowe, mogą wywoływać daleko idące zmiany ilościowe i jakościowe w biocenozach glebowych i tym samym oddziaływać destruktywnie na stabilność ekologiczną i produktywność biologiczną ekosystemów trawiastych. Zaobserwowano, że wprowadzony do badanych środowisk glebowych *Gladiolo-Agrostidetum* (B) kwas askorbinowy wpływa korzystnie na procesy metaboliczne mikroorganizmów glebowych i przyrost ich biomasy oraz na wzrost masy roślinności trawiastej [3]. Bliższe wyjaśnienie zaobserwowanych zjawisk w środowiskach glebowych użytków zielonych wymagać będzie dalszych studiów.

Wpływ stosowania wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych na występowanie grzybów toksynotwórczych w środowiskach glebowych

W środowiskach glebowych górskich ekosystemów trawiastych, reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne *Arrhenatheretum elatioris* (A) i *Gladiolo-Agrostidetum* (B), nawożonych wysokimi dawkami azotu mineralnego ($N_{120-360} kg/ha/rok$, jak i NPK $N_{120}P_{80}K_{80} - N_{360}P_{80}K_{80} kg/ha/rok$) stwierdzono występowanie grzybów toksynotwórczych z rodzaju *Aspergillus* (*A.chevalieri*, *A.ochraceus*, *A.terreus*), *Fusarium* (*F.scirp*, *F.sporotrichioides*), *Penicillium* (*P.cyclopium*, *P.jensenii*, *P.rugulosum*, *P.tardum*) i *Verticillium* (*Verticillium* sp., szczep J), wytwarzających in vitro, jak i in vivo, następujące mikotoksyny: gliotoksynę, ochratoksyny A i B, kwas terreinowy, sciepenol, sporofuzaryna, dikumarol, regulozyna, kwas penicylinowy i inne

- o znanym działaniu fitotoksycznym i o dużej toksyczności dla zwierząt gospodarskich (tab. 1).

Występowanie grzybów toksynotwórczych w badanych środowiskach glebowych może być następstwem mutagennego oddziaływania nitrozoamin (DMNA i DENA), występujących w badanych środowiskach glebowych, na saprofityczne grzyby glebowe. Powyższe mikrotoksyny mogą mieć również ujemny (szkodliwy) wpływ na stabilność ekologiczną i produktywność biologiczną górskich ekosystemów trawiastych.

OGÓLNE WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonych badań mikrobiologicznych, biologicznych i chemicznych oraz z zakresu toksykologii ekologicznej gleb górskich ekosystemów trawiastych, poddanych zabiegom nawożenia N i NPK, można wysnuć następujące wnioski:

1. Zastosowane nawożenie wysokimi dawkami azotu mineralnego wywołuje w badanych warunkach ekologicznych niekorzystne zmiany w stabilności ekologicznej i produktywności biologicznej górskich ekosystemów trawiastych.

2. Nawożenie azotem mineralnym środowisk glebowych górskich ekosystemów trawiastych wywołuje w trzecim i czwartym roku nawożenia wyraźne zmiany mikrobiocenotyczne i toksykologiczne w biocenozach klimaksowych ekosystemów trawiastych.

3. Wysokim dawkom nawożenia azotem mineralnym (120-360 kg/N/ha/rok) towarzyszy ilościowy wzrost nitrozoamin oraz występowanie grzybów toksynotwórczych.

4. Wyodrębnione nitrozoaminy i mikotoksyny, odznaczając się wyraźnym działaniem fitotoksycznym, mutagennym, ko-karcinogenym i teratogennym mogą stanowić potencjalne zagrożenie zdrowia ludzi i zwierząt gospodarskich.

LITERATURA

1. Ayanaba A., Verstraete W., Alexander M.: Formation of Dimethylnitrosamine, a Carcinogen and Mutagen, in Soils treated with Nitrogen Compounds, Soil Science Society of America Proceedings, 1973, 37, 4, 565-568.
2. Callen D. F.: Microbial Metabolism of Environmental Chemicals to Mutagen and Carcinogen, Chemical Mutagens, 1982, 7, 4, 163-188.
3. Chinoy N. J.: The role of ascorbic acid in growth, differentiation and metabolism of plants, Martinus Nijhoff Dr Junk Publishers, The Hague, 1984.
4. Dowdell R. J., Morrison J., Hood A. E. M.: The fate of fertilizer nitrogen applied to grassland: uptake by plants, immobilisation into soil organic matter and losses by leaching and denitrifications. Proc. Intern. Symposium Eur. Grassland Federation on The role of Nitrogen in intensive grassland production, 129-136, Wageningen, 1980.
5. Jenkinson D. S.: The nitrogen cycle in long-term field experiments, Phil. Trans, R. Soc. Lond., 1982, B., 296, 563-571.
6. Kofoed A. D., Nemming O., Brunfeldt K., Nebelin E., Thomson J.: Investigations on the occurrence of nitrosamines in some agricultural and horticultural products, Acta Agriculturae Scandinavica, 1981, 31, 1, 40-48.
7. Lai D. Y., Myers S. C., Woo Yin-tak, Groene E. J., Friedman M. A., Argus M. F., Arcos J. C.: Role of dimethylnitrosamine-demethylase in the metabolic activation of dimethylnitrosamine, Chem.-Biol. Interactions, 1979, 28, 107-126.

8. Montesano R., Pegg A. E., Margison G. P.: Alkylation of DNA and carcinogenicity of N-Nitroso compounds, *J. of Toxicology and Environmental Health*, 1980, 6, 5-6, 1001-1008.
9. Pancholy S. K.: Formation of Carcinogenic Nitrosamines in Soils, *Soil Biol. Biochem.*, 1978, 10, 27-32.
10. Rasp H.: Nitrat, nitrit, nitrosamine, *Ernährungs-Lehre und - Praxis*, 1984, 3, 13-15; 4, 17-19.
11. Smyk B.: Biologiczne i biogeochemiczne skutki stosowania mineralnych nawozów azotowych w rolnictwie, *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej im. H. Kołłątaja w Krakowie*, 1982, 10, 169, 57-78.
12. Smyk B.: Mikroorganizmy a produktywność biologiczna gleb, *Studia Ośrodka Dokumentacji Fizjograficznej PAN w Krakowie*, 1984, 12, 97-132.
13. Smyk B., Barabasz W., Różycki E.: The effect of some nitrosamines on the growth of selected soil microorganisms, *Third Intern Symposium of Microbial Ecology*, Michigan State University, East Lansing, ICOME, IUMS and ASM, Michigan, Q-6,70, August 7-12, 1983.
14. Steyn P. S.: *The biosynthesis of Mycotoxins*, Academic Press, Inc., New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco, 1980.
15. Van Broekhoven L. W., Davies J. A. R.: The formation of volatile N-nitrosamines in grass and maize silages, *Neth. J. Agric. Sci.*, 1980, 28, 238-241.
16. Van Cleemput O., Baert L.: Nitrite: a key compound in N loss processes under acid conditions? *Plant and Soil*, 1984, 76, 233-241.
17. Veen J. A., Frissel M. J.: Simulation Model of the behaviour of N in Soil w : Simulation of Nitrogen behaviour of Soil-Plant-System, Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, 1981.

B. Smyk, E. Różycki, W. Barabasz

THE EFFECT OF APPLIED MINERAL NITROGEN FERTILIZATION
ON THE OCCURRENCE OF NITROSAMINES AND MYCOTOXINS
IN SOIL ENVIRONMENTS OF MOUNTAIN GRASSY ECOSYSTEMS

S u m m a r y

The effect of mineral nitrogen fertilization on micro-biocenotical changes and toxicology in soil environments of grassland was investigated.

On the basis of the results obtained from microbiological, biological and chemical studies, as well as from ecological toxicology of the investigated soil of mountain grassy ecosystems it was found that the applied fertilization with mineral nitrogen caused under the studied ecological conditions adverse toxicological changes in ecological stability of grassy ecosystems.

1. The applied mineral nitrogen fertilization of mountain grassy ecosystems (*Arrhenatheretum elatioris* and *Gladiolo-Agrostidetum*) results in the third and fourth year of fertilization in significant microbiological and toxicological changes in the studied grassy ecosystems.

2. The application of high doses of mineral nitrogen fertilization (120-360 kg of N/ha/y) causes the increase in the nitrosamine content as well as the occurrence of the toxin-producing Fungi (*Aspergillus chevalieri*, *A. ochraceus*, *A. terreus*; *Fusarium scirpii*, *F. sporotrichioides*; *Penicillium*

cyclopium, P.jensenii, P.rugulosum, P.tardum and Verticillium) which produce mycotoxins.

3. Nitrosamines (DMNA and DENA) and mycotoxins (gliotoxin, dicumarol, rubratoxin, rugulosin, scirpenol etc) isolated from the investigated soil environments show significant phytotoxic, mutagenic and co-acinogenic effects. Nitrosamines and mycotoxins can under specific ecological conditions constitute a potential danger to ecological stability of natural environments as well as to the health of people and animals.

Б. Смык, Э. Ружицки, В. Барабаш

ВЛИЯНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ МИНЕРАЛЬНЫХ АЗОТНЫХ УДОБРЕНИЙ
НА ПОЯВЛЕНИЕ НИТРОЗОАМИНОВ И МИКОТОКСИНОВ
В ПОЧВЕННЫХ ГОРНЫХ СРЕДАХ ТРАВЯНЫХ ЭКОСИСТЕМ

Р е з ю м е

Целью исследований было познание влияния внесения минеральных удобрений на микробиоценотические и токсикологические изменения в почвенной среде зеленых угодий.

На основании полученных результатов проведенных микробиологических, биологических и химических исследований, а также из области токсикологии исследуемых горных почв травяных экосистем установлено, что внесенное азотное минеральное удобрение вызывает в исследуемых экологических условиях отри-

цательные токсикологические изменения в экологической стабильности травяных экосистем.

1. Удобрение минеральным азотом почвенной горной среды травяных экосистем (сообществ *Arrhenatheretum a elatioris* и *Gladiolo-Agrostidetum*) вызывает уже в третьем году внесения его резкие микробиоценотические и токсикологические изменения в исследуемых травяных экосистемах.

2. Высоким дозам минеральных азотных удобрений (120-360 кг/га) соответствует количественный рост нитрозоаминов, а также появление токсинообразующих грибов (*Aspergillus chevalieri*, *A. ochraceus*, *Fusarium scirpii* и *Penicillium jensenii* - известных производителей микотоксинов).

3. Выделенные из исследуемых почвенных сред нитрозоамины (*DMNA*, *DENA*) и микотоксины (глиотоксин, дикумарол, рубратоксин, ругулозин и др.) отличаются резким фитотоксическим, мутагенным, ко-карциногенным и тератогенным действием. Они могут быть потенциальным угрозением экологической стабильности естественной среды, человека и животных.