

WPLYW WYBRANYCH PESTYCYDÓW NA DROBNOUSTROJE GLEBOWE

Alicja Niewiadomska, Dorota Swędrzyńska, Justyna Klama

Katedra Mikrobiologii Rolnej,
Akademia Rolnicza im Augusta Cieszkowskiego w Poznaniu

Wstęp

Powszechne stosowanie w praktyce rolniczej wielu preparatów chemicznych przeciwko chwastom, szkodnikom oraz chorobom roślin powoduje nagromadzenie się tych związków w glebie oraz ich zaleganie w tym środowisku przez dłuższy lub krótszy okres. Powstaje wskutek tego możliwość oddziaływania pestycydów na mikroflorę, będącą głównym czynnikiem w kształtowaniu i odtwarzaniu żyzności gleby. Środki ochrony roślin w zależności od swojej budowy mogą stanowić łatwiej lub mniej przyswajalne źródło energii dla mikroorganizmów glebowych i ze zróżnicowaną prędkością podlegają rozkładowi biologicznemu i chemicznemu [NOWAK 1998].

Nie wszystkie jednak gatunki mikroorganizmów glebowych są zdolne do degradowania pestycydów. Tego rodzaju właściwości wykazują w największym stopniu grzyby i promieniowce. Nie zawsze jednak oddziaływanie drobnoustrojów na pestycydy prowadzi do zaniku ich toksyczności. Niektóre metabolity są toksyczniejsze niż macierzyste związki [RÓŻAŃSKI 1998].

W praktyce obserwuje się dość znaczne różnice w zachowaniu się określonych identycznych pestycydów w glebie i ich reakcji na mikroorganizmy. Spowodowane jest to zmiennością środowiska glebowego, a zwłaszcza takich właściwości jak: zawartość określonych związków organicznych i mineralnych, odczyn, temperatura, wilgotność, czynniki agrotechniczne [BANASZKIEWICZ 1993].

Celem pracy była analiza wpływu fungicydowej zaprawy nasiennej Funaben T (substancja biologicznie czynna: karbendazim 20%, tiuram 45%) i herbicydu Pivot 100SL (imazetapir 100 g·dm⁻³) na przeżywalność rdzennych szczepów bakterii z rodzaju *Rhizobium* oraz innych wybranych grup drobnoustrojów glebowych w doświadczeniu modelowym.

Materiały i metody

Doświadczenie prowadzono w warunkach laboratoryjnych w wazonach z glebą i miało charakter doświadczenia modelowego. Gleba użyta do inkubacji, pochodziła ze Stacji Doświadczalnej AR w Złotnikach i należała do typu gleb

płowych. Miała odczyn lekko kwaśny i była średnio zasobna w K, P i Mg.

Użyte pestycydy fungicyd – Funaben T (substancja biologicznie czynna: karbendazim 20%, tiuram 45%) i herbicyd – Pivot 100SL (s.b.cz. imazetapir 100 g·dm⁻³), pochodziły z Zakładów Chemicznych „Organika – Sarzyna”. Za wyborem w/w środków ochrony roślin przemawiała powszechność ich stosowania w uprawach rolniczych roślin motylkowych, niski stopień toksyczności i brak danych na temat ich wpływu na drobnoustroje glebowe.

W przeprowadzonym doświadczeniu glebę inkubowano w wazonach w temperaturze 25°C w następujących kombinacjach: 1) gleba – kontrola, 2) gleba z dodatkiem fungicydu, 3) gleba z dodatkiem herbicydu, 4) gleba z dodatkiem fungicydu i herbicydu. Każdą kombinację doświadczalną przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Zastosowane dawki pestycydów były przeliczeniem polowej dawki według zaleceń IOR i wynosiły odpowiednio: fungicyd 0,002 g·kg⁻¹, a herbicyd 0,002 ml·kg⁻¹.

W 3, 7, 14, 30 i 60 – tym dniu inkubacji określano wpływ pestycydów na wybrane grupy drobnoustrojów: *Rhizobium*, *Azotobacter*, grzyby, ogólna liczebność bakterii i promieniowców.

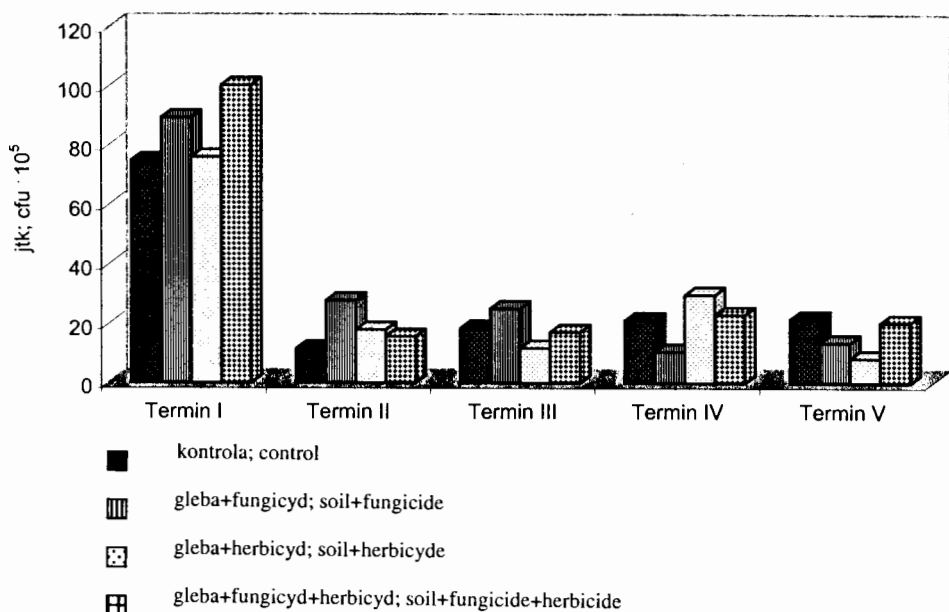
W pobranych próbkach glebowych oznaczano w 1 g s.m. gleby liczebność drobnoustrojów, metodą rozcieńczeń płytek lanych, na odpowiednich pożywkach agarowych (w pięciu powtórzeniach):

- bakterie z rodzaju *Rhizobium* oznaczano na pożywce wybiórczej YM [SOMASEGARAN, HOBEN 1994], po 5-ciu dniach inkubacji w temp. 28°C;
- liczebność *Azotobacter* oznaczano wsypując na płytkę Petriego 1 g próbki glebowej i wymieszano z pożywką wg Jensena [FENGLEROWA 1965]. Płytki inkubowano przez 3 dni w temp. 24°C;
- ogólną liczebność bakterii oznaczano na gotowej pożywce Merck-Standar count agar po 5-ciu dniach inkubacji, w temp. 25°C;
- grzyby oznaczano na pożywce Martina [MARTIN 1950] po 5-ciu dniach inkubacji w temp. 24°C;
- promieniowce oznaczano na pożywce wg Pochona [GRABIŃSKA-ŁONIEWSKA 1999] po pięciu dniach hodowli w temp. 25°C.

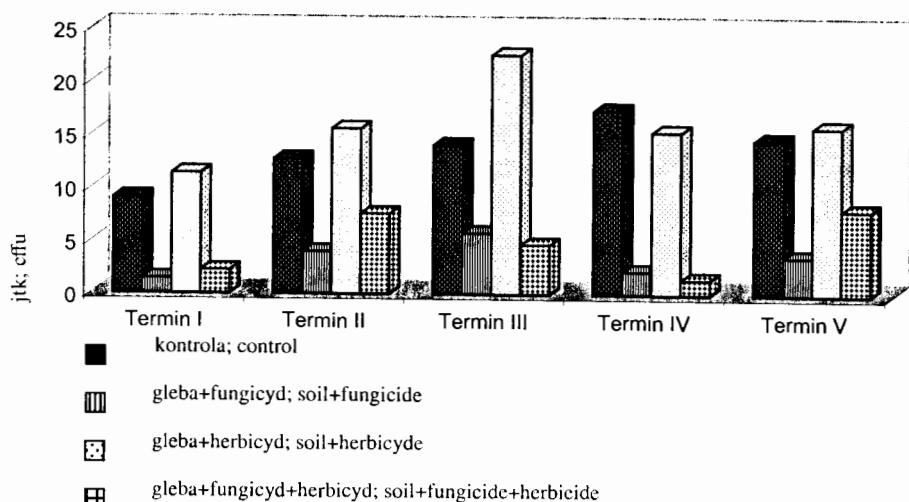
Wyniki i dyskusja

Zastosowane środki ochrony roślin okazały się nie obojętne na rdzenne *Rhizobia* glebowe. Zaobserwowano stymulujące działanie zastosowanego fungicydu w terminie I, II i III, natomiast hamujące w terminie IV i V (rys. 1). Użyty natomiast herbicyd wpływał stymulująco na badane bakterie w terminie II i IV, a hamująco w III i V. W kombinacji, gdzie zastosowano oba pestycydy łącznie stymulujące działanie zanotowano tylko w terminie I.

Na temat działania pestycydów na populację bakterii z rodziny *Rhizobiaceae* istnieje wiele doniesień. Wykazano m.in. szczególnie duże różnice wrażliwości szczepów *Rhizobium* na zastosowane herbicydy pomiędzy szybko i wolno rosnącymi gatunkami. Herbicydy triazynowe (atrazyna, symazyna) nie działały toksycznie na szybko rosnące *Rhizobia*, podczas gdy chlorowcopochodne (fluometuron) okazały się dla nich toksyczne w różnych stężeniach od 10–2000 mg·kg⁻¹ [KASZUBIAK 1968].



Rys. 1. Wpływ Funabenu T i Oivotu 100SL na rdzenne *Rhizobia*
 Fig. 1. The effect of Funaben T i Pivot 100SL on the number of *Rhizobia*



Rys. 2. Wpływ Funabenu T i Pivotu 100SL na wzrost bakterii *Azotobacter*
 Fig. 2. The effect of Funaben T and Pivot 100SL on the number of *Azotobacter*

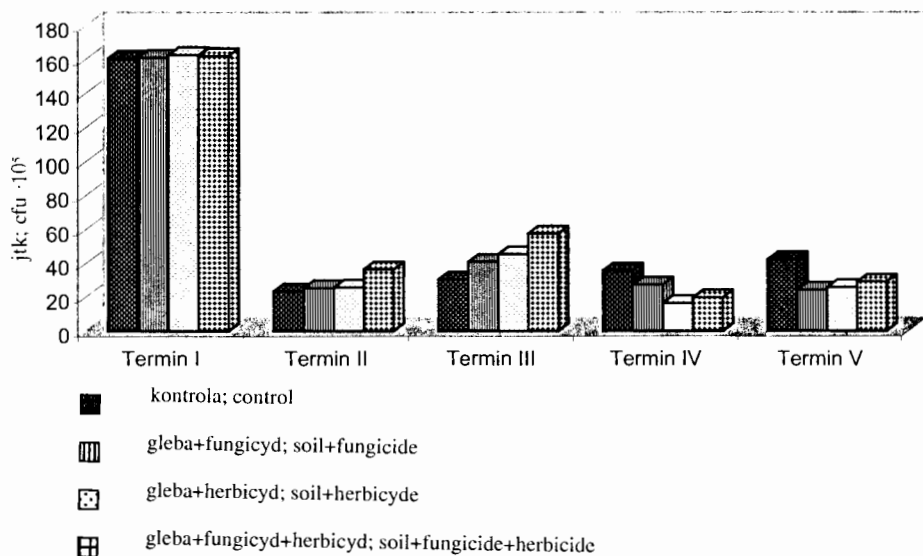
Ujemnie reagowanie bakterii z rodziny *Rhizobiaceae* na fungicydy odpowiada zebranym przez STRZELEC i MARTYNIUK [1994] wynikom świadczącym o ich wrażliwości na te preparaty. Wykazali oni, że obecność Funabenu T w podłożu hodowlanym wyraźnie opóźniła tempo wzrostu testowanych szczepów oraz zmniejszała liczebność i wielkość ich kolonii, co również miało odbicie w przeprowadzonym przez nas doświadczeniu.

Zanotowano wyraźną stymulację Pivotu 100SL w trzecim, siódmym i czternastym dniu doświadczenia, gdzie liczba kolonii bakterii z rodzaju *Azotobacter* wzrosła odpowiednio o 24%, 22% i 57% w stosunku do kontroli (rys. 2). W pozostałych terminach analiz obserwowano ujemne działanie użytego herbicydu. Wytłumaczyć to można działaniem substancji czynnej herbicydu (imazetapiru) powodującej zaburzenia w gospodarce azotowej, które mogą być przyczyną procesów transaminacji, powstawania łańcuchów peptydowych, lub też mogą wpływać na przepuszczalność błony cytoplazmatycznej, wskutek czego zmienia się natężenie wypływu aminokwasów poza komórkę, co może być przyczyną spadku ilości drobnoustrojów [BALICKA, PIETR 1983].

Ujemny wpływ zastosowanych środków na wzrost wyżej omawianej grupy bakterii zaznaczył się również, gdy do gleby dodano sam fungicyd oraz gdzie zastosowano oba pestycydy łącznie (fungicyd + herbicyd).

W literaturze istnieje niewiele prac na temat działania fungicydów na niesymbiotyczne bakterie wiążące azot. Niemniej uzyskane wyniki z tego zakresu wskazują, że niektóre substancje czynne powszechnie stosowanych preparatów są toksyczne w stosunku do komórek *Azotobacter* szczególnie na początku, zaraz po ich zastosowaniu, potem ta toksyczność spada [NIEWIADOMSKA, SAWICKA 2002; NIEWIADOMSKA 2004].

W inkubowanych próbach glebowych we wszystkich kombinacjach, w których użyto pestycydy zanotowano stymulujący wpływ Funabenu T i Pivotu 100SL, w pierwszych trzech terminach analiz (trzecim, siódmym i czternastym dniu doświadczenia) na wzrost promieniowców (rys. 3).



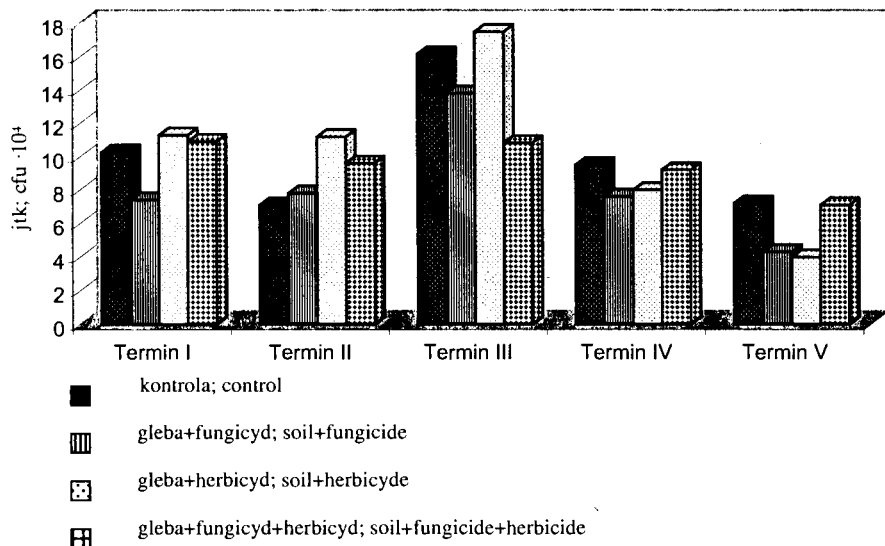
Rys. 3. Wpływ Funabenu T i Pivotu 100SL na liczebność promieniowców w 1 g s.m. gleby

Fig. 3. The effect of Funaben T and Pivot 100SL on the number of actinomycetes in 1 g DM of soil

Tłumaczone to może być m.in. tym, że wprowadzone ksenobiotyki do gleby stały się dla nich dodatkowym źródłem pokarmu. Nie mały jest udział promienio-

wców w rozkładzie pestycydów w glebie. Te drobnoustroje glebowe są m.in. zdolne do wytworzenia enzymów zarówno pozostających wewnątrz komórki, jak i przenikających na zewnątrz błony komórkowej, które powodują w ten sposób degradację środków ochrony roślin [RÓŻAŃSKI 1998]. Stąd mogą się one stać dla nich dodatkowym źródłem C i energii.

Podobnie jak w przypadku omawianej grupy promieniowców, również grzyby na użyte pestycydy zareagowały albo całkowitą niewrażliwością albo obojętnością. Dodatkowo zanotowano wyraźną stymulację w przypadku zastosowanego herbicydu, w pierwszych trzech terminach analiz (rys. 4).



Rys. 4. Wpływ Funabenu T i Pivotu 100SL na liczebność grzybów w 1 g s.m. gleby

Fig. 4. The effect of Funaben T and Pivot 100SL on the number of fungi in 1 g DM of soil

Podobnie jak promieniowce, grzyby mogą wykorzystywać środki ochrony roślin jako substancje pokarmowe, co wynika z aktywności ich enzymów konstytucyjnych. Grzyby spośród drobnoustrojów w największym stopniu wykazują zdolność do degradowania ksenobiotyków, ponieważ charakteryzują się większą odpornością na niekorzystne warunki środowiska oraz dużą żywotnością w układach o odczynie kwaśnym [NOWAK 1993].

Ujemny wpływ środków ochrony roślin na grzyby zanotowano tylko w kombinacjach z fungicydem. Z literatury wynika, że niektóre fungicydy wyraźnie zmieniają skład jakościowy mikroflory grzybowej gleby. Gleba po zastosowaniu fungicydu często traci część gatunków grzybów i występuje ekologiczna sukcesja ilościowa innych gatunków drobnoustrojów [RUSSEL 1974].

Wnioski

1. Zastosowane środki ochrony roślin wpływały na zmianę liczebności analizowanych grup drobnoustrojów. W przeprowadzonych doświadczeniach zano-

towano zarówno stymulujące jak i hamujące oddziaływanie pestycydów na rozwój mikroflory glebowej.

2. Bardziej toksyczny względem drobnoustrojów był fungicyd, aniżeli zastosowany herbicyd.
3. Najmniej wrażliwe na Funaben T i Pivot 100SL były grzyby i promieniowce, co mogło być przyczyną wykorzystania tych pestycydów, jako dodatkowego źródła pokarmu przez te grupy drobnoustrojów.

Literatura

- BALICKA N., PIETR ST. 1983. *Różne formy wzajemnego oddziaływanie drobnoustrojów z herbicydami*. Post. Mikrob. XXII(3/4): 291–297.
- BANASZKIEWICZ T. 1993. *Przemiany pestycydów w glebie i ich wpływ na środowisko*. Ochrona Roślin XXXVII: 8–9.
- FENGLEROWA W. 1965. *Simple method for counting Azotobacter in soil samples*. Acta Microbiol. Polon. 14: 203–207.
- GRABIŃSKA-ŁONIEWSKA A. 1999. *Ćwiczenia laboratoryjne z mikrobiologii ogólnej*. Oficyna Wydaw. Politech. Warszawska: 130 ss.
- KASZUBIAK H. 1968. *The effect of herbicides on Rhizobium, susceptibility of Rhizobium to herbicides*. Acta Microbi. Pol. 15: 39–49.
- NIEWIADOMSKA A., SAWICKA A. 2002. *Effect of carbendazim, imazetapir and thiram on nitrogenase activity, number of microorganisms in soil and yield of Hybrid Lucerne (Medicago media)*. Pol. J. of Envi. Stud. 11(6): 737–744.
- NIEWIADOMSKA A. 2004. *Effect of carbendazim, imazetapir and thiram on nitrogenase activity, number of microorganisms in soil and yield of Red clover (Trifolium pratense L.)*. Pol. J. of Envi. Stud. 13(4): 403–410.
- NOWAK A. 1993. *Oddziaływanie uboczne pestycydów na mikroflorę i niektóre właściwości biochemiczne gleby*. Post. Mikrob. XXII(1/2): 95–107.
- NOWAK A. 1998. *Mikrobiologia*. AR Szczecin: 122 ss.
- MARTIN J.P. 1950. *Use of acid, rose Bengal and streptomycin in the plate method for estimating*. Soil. Sci. 69: 215–219.
- RÓŻAŃSKI L. 1998. *Przemiany pestycydów w organizmach żywych i środowisku*. Wyd. Agra-Envirolab, Poznań: 32 ss.
- RUSSEL S. 1974. *Drobnoustroje a życie gleby*. PWN W-wa: 291 ss.
- SOMASEGERAN P., HOBEN J.P. 1994. *Handbook for Rhizobia*. Springer-Verlag: New York, Berlin, Heidelberg: 450 ss.
- STRZELEC A., MARTYNIUK M. 1994. *Uboczne działanie fungicydów tiuramowych na rozwój szczepów Rhizobium, ich przeżywalność na nasionach i aktywność symbiozy z koniczyną i lucerną*. Pam. Puławski 104: 101–112.

Słowa kluczowe: pestycydy, herbicyd, fungicyd, *Rhizobium*, mikroorganizmy

Streszczenie

Określono wpływ fungicydowej zaprawy nasiennej Funaben T i herbicydu Pivot 100SL na przeżywalność rdzennych bakterii z rodzaju *Rhizobium* oraz innych wybranych grup drobnoustrojów glebowych w doświadczeniu modelowym.

W przeprowadzonym doświadczeniu glebę inkubowano w słojach w temperaturze 25°C w następujących kombinacjach: 1) gleba – kontrola, 2) gleba z dodatkiem fungicydu, 3) gleba z dodatkiem herbicydu, 4) gleba z dodatkiem fungicydu i herbicydu. W 3, 7, 14, 30 i 60-tym dniu inkubacji określano dla każdej kombinacji, wpływ zastosowanych pestycydów na: *Rhizobium*, *Azotobacter*, grzyby, ogólna ilość bakterii i promieniowców.

Nie bez wpływu okazały się zastosowane pestycydy dla badanych grup drobnoustrojów glebowych, powodując hamownie lub stymulowanie ich namnażania, szczególnie w pierwszych dniach po zastosowaniu, w dalszych terminach często stymulowały ich rozwój.

EFFECT OF SELECTED PESTICIDES ON SOIL MICROORGANISMS

Alicja Niewiadomska, Dorota Swędrzyńska, Justyna Kłama

Department of Agricultural Microbiology, Agricultural University, Poznań

Key words: pesticides, fungicides, herbicides, *Rhizobium*, microorganisms

Summary

The effect of fungicide seed dressing Funaben T and herbicide Pivot 100SL on the survival of indigenous population of nodule bacteria and other group of microorganisms was determined.

In this investigation soil was incubated at 25°C. We used four combinations in this investigation: 1) soil – control, 2) soil with fungicide, 3) soil with herbicide, 4) soil with fungicide and herbicide. After 3, 7, 14, 30 and 60 days of incubation the number of microorganisms (*Rhizobium*, *Azotobacter*, actinomyces, fungi and bacteria) was determined using the dilution plate method and the appropriate agar media (in three replications). The number of colonies was calculated for 1 g of dry soil (cfu·g⁻¹ DM).

The obtained results showed that the crop protection preparations applied in the experiment reduced the number of indigenous population of nodule bacteria, *Azotobacter* and soil bacteria in the first days after application, while later they were found to stimulate their multiplication.

Dr Alicja Niewiadomska
Katedra Mikrobiologii Rolnej
Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego
ul. Wołyńska 35
60-637 POZNAŃ
e-mail: niewiadomskaalicja@op.pl