

*Władysław Węgorek, Henryk Kaszubiak, Maria Muszyńska, Grażyna Durska
Instytut Ochrony Roślin, Katedra Mikrobiologii Rolnej Akademii Rolniczej w Poznaniu*

Wpływ pestycydów na mikroflorę glebową

Wstęp

Na polach doświadczalnych w majątku "Winnogóra", należącym do Instytutu Ochrony Roślin w Poznaniu, prowadzone są od 1964 roku badania nad skutecznością zwalczania agrofagów przy zastosowaniu pestycydów lub zabiegów mechanicznych i biologicznych. W kilku pracach opublikowano już wyniki tych badań [8–10]. W celu uzyskania pełnego obrazu oddziaływania pestycydów na agroce-nozy, w latach 1990–1992 badano na polach doświadczalnych wpływ pestycy-dów na mikroflorę glebową.

Materiały i metody

Badania były przeprowadzone na dwóch jednohektarowych polach sąsiadują-cych ze sobą i oznakowanych PI i PII. Gleba obu pól jest typu bielcowego. Warstwę orną stanowi piasek gliniasty mocny, podglebie zaś — glina lekka; pH gleby w KCl wynosi 6,4–7,3 i gleba zakwalifikowana jest do klasy III. Na każdym polu stosowano inny czteroletni płodozmian. Na polu PI uprawiano kolejno w latach 1990–1992: groch, pszenicę ozimą i ziemniaki, a na polu PII odpowiednio: peluszkę, rzepak ozimy i buraki cukrowe. Obydwa pola podzielono na połowy: na jednej z nich prowadzono od 1964 roku wyłącznie mechaniczne i ręczne zabiegi ochrony przed szkodnikami, chorobami i chwastami, a na drugiej połowie — intensywne zabiegi ochrony chemi-cznej. Na obu polach wykonano jednakowe zabiegi agrotechniczne i ręczne.

Do analiz mikrobiologicznych pobierano glebę z obu pól — wiosną i późnym latem. Oddziaływanie pestycydów na mikroflorę gleby określono badając:

- biomasę bakterii — mikroskopowo [4];
- liczebność promieniowców — metodą płytkową [5];
- liczebność bakterii — metodą płytkową, a mianowicie: liczebność bakterii eutro-ficznych i oligotroficznych wg Ohta i Hattori [6], a liczebność azotobaktera wg Fenglerowej [2];

- aktywność oddechową — oznaczając C–CO₂ wydzielony z pobranych z pola prób glebowych metodą sorpcyjną [3];
- aktywność amonifikacji argininy — na podstawie ilości N–NH₃ wydzielonego z argininy wprowadzonej do pobranych z pola prób glebowych [1];
- aktywność nitryfikatorów — oznaczając ilość wytworzonych azotanów w hodowlach wyprowadzonych z inokulum glebowego [7].

Wyniki

W tab. 1 podano ilość pestycydów zużytych na polach chronionych chemicznie. Zestaw i dawki tych środków były tak dobrane i wyliczone dla poszczególnych upraw, aby skutecznie i szybko rozkładały się. W tab. 2 podano plony z pól chronionych i nie chronionych chemicznie. Jak widać, straty plonów z pól nie chronionych były bardzo wysokie.

Przedstawione w tab. 3–5 wyniki trzyletnich badań, prowadzonych w latach 1990–1992 na omawianych polach doświadczalnych w Winnogórze, świadczą, że liczebność i aktywność mikrokroflory glebowej tych pól zależała w dużym stopniu od uprawianej rośliny i od terminu analiz. Na przykład rozmiary oznaczanej mikroskopowo biomasy bakterii różniły się niekiedy o ponad sto procent, pomimo że są one powszechnie uznawane za stosunkowo mało zmienny parametr mikrobiologiczny. Z kolei różnice w liczebności drobnoustrojów oznaczanych za pomocą metod hodowlanych, to jest w liczebności promieniowców, bakterii eutroficznych lub oligotroficznych, a także różnice w potencjalnej aktywności oddechowej i amonifikacji argininy

Tabela 1. Pestycydy stosowane na polach PI i PII chronionych chemicznie

Rok	Pole	Roślina	Grupy pestycydów [kg·ha ⁻¹]			Razem [kg·ha ⁻¹]
			insektycydy	fungicydy	herbicydy	
1990	I	groch	1,00	—	5,70	6,70
	II	peluszka	1,00	—	6,70	7,70
1991	I	pszenica ozima	0,10	0,50	0,80	1,40
	II	rzepak ozimy	0,50	—	3,00	3,50
1992	I	ziemniaki	0,30	—	0,88	1,18
	II	buraki cukrowe	0,42	—	4,40	4,82

Tabela 2. Plon z pól PI i PII chronionych i nie chronionych chemicznie w latach 1990–1992

Rok	Pole	Roślina	Plon [$q \cdot ha^{-1}$]		Różnica w plonie [$q \cdot ha^{-1}$]	Uwagi
			pole chronione	pole kontrolne		
1990	I	groch	26,5	19,6	6,9	silne zachwaszcz. pole kontr.
	II	peluszką	36,7	15,4	21,3	
1991	I	pszenica ozima	64,3	38,9	25,4	jw.
	II	rzepak ozimy	38,2	22,6	15,6	
1992	I	ziemniaki	344,4	282,4	62,0	jw. i żer stonki ziemn.
	II	buraki cukrowe	447,0	400,0	47,0	

były rzędu kilkuset procent, a różnice w potencjalnej aktywności nityfikatorów — rzędu ponad tysiąc procent. W szczególnie szerokich granicach wahała się liczebność azotobacteria, od jednej do ponad stu komórek w 1 g s.m. gleby.

Stosowanie pestycydów również nie było pozbawione wpływu na mikroflorę glebową, przyczyniało się jednak do mniejszych w niej zmian niż uprawiana roślina lub termin, pomimo że na poletkach chronionych chemicznie pestycydy stosowano od 1964 roku, to jest co najmniej przez 27 lat, czyli przez okres, w którym na poletkach kontrolnych prowadzone były jedynie zabiegi mechaniczne lub ręczne. Różnica między rozmiarem biomasy bakterii w glebie spod upraw chemicznie chronionych a jej rozmiarem na poletkach kontrolnych nie przekraczała 22%, a różnice w liczebności lub aktywności drobnoustrojów tylko wyjątkowo przekraczały 100%, i to nieznacznie.

Już w 1990 roku, to jest w pierwszym roku badań mikrobiologicznych, zróżnicowanie biomasy, liczebności lub aktywności drobnoustrojów spowodowane zastosowaniem pestycydów niekiedy tylko można było udowodnić statystycznie (tab. 3). Takie udowodnione różnice stwierdzano przeważnie tylko w jednym terminie przeprowadzonych analiz. Ponadto, niektóre zróżnicowania wynikały z dodatniego reagowania drobnoustrojów, a inne z reakcji ujemnej.

Udowodnione statystycznie zróżnicowanie liczebności promieniowców, bakterii eutroficznych lub oligotroficznych wynikało zawsze z namnożenia się drobnoustrojów przy zastosowaniu pestycydów.

Tabela 3. Wpływ wieloletniego stosowania pestycydów na mikroflorę gleby pól uprawnych w Winnogórze w 1990 roku

Pole	Roślina	Termin analiz	Biomasa bakterii ¹	Promieniociec ²	Bakterie eutroficzne ²	Bakterie oligotroficzne ²	Azotobacter ³	Aktywność oddechowa ⁴	Amonifikacja argininy ⁵	Aktywność nitryfikatorów ⁶
PI	groch	14 V	289	2,9	0,5	1,2	5	2,6	5,6	68
	kontrolny	30 VIII	364	6,3	1,9	1,9	3	2,8	13,3	95
	groch	14 V	234**	2,9	0,9	1,4	26*	2,3*	6,5**	34**
	chroniony	30 VIII	321	5,1	2,7*	2,7*	6	2,8	13,1	85*
PII	peluszka	14 V	263	1,7	0,6	0,9	13	2,7	3,8	55
	kontrolna	30 VIII	301	5,1	1,3	1,9	101	3,1	12,4	77
	peluszka	14 V	235	2,6*	0,3	0,9	47*	2,3	4,1	31**
	chroniona	30 VIII	245**	5,7	0,9	2,3	7**	2,8**	10,2**	56**

¹ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ² $10^6\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ³ $\text{komórek}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ^{4,5} $\mu\text{g C-CO}_2$ i $\mu\text{g N-NH}_3\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot 24$ godz.⁻¹; ⁶ $\mu\text{g N-NO}_3$ w hodowli.

* ** Zróżnicowanie statystycznie istotne (na poziomie $t = 0,005$) i wysoce istotne (na poziomie $t = 0,001$).

W przypadku azotobaktera, aktywności oddechowej lub amonifikacji argininy zróżnicowanie wynikające z zastosowania pestycydów miało ukierunkowanie zmienne, notowano bowiem zarówno wartości zwiększone, jak i zmniejszone przez te środki, w zależności od rośliny uprawianej w 1990 roku i terminu analiz.

Biomasa bakterii była zawsze mniejsza pod uprawami chronionymi niż kontrolnymi, ale tylko niektóre różnice były statystycznie udowodnione.

Wyraźnie ujemne reagowanie drobnoustrojów na pestycydy stwierdzono jedynie określając energię nitryfikatorów w hodowlach wyprowadzonych z gleb badanych pól. Wszystkie notowane spadki aktywności były udowodnione.

Rozpatrując dane uzyskane nie tylko w pierwszym, lecz także w drugim i trzecim roku badań mikrobiologicznych (tab. 4 i 5), można zauważyć, że w warunkach pól uprawnych Winnogóry zmiana uprawianej rośliny na danym polu w następujących po sobie sezonach wegetacyjnych, a tym samym zmiana zestawu stosowanych pestycydów, wpływała w dużym stopniu na zróżnicowanie mikroflory glebowej. Na przykład różnice w biomacie bakterii w glebie pola PI w pierwszym terminie analiz były statystycznie udowodnione tylko przy chemicznej ochronie uprawy grochu i pszenicy. Z kolei zróżnicowanie liczebności bakterii eutroficznych w glebie pola PII było tylko istotne w przypadku uprawy rzepaku.

Tabela 4. Wpływ wieloletniego stosowania pestycydów na mikroflorę gleby pól uprawnych w Winnogórze w 1991 roku

Pole	Roślina	Termin analiz	Biomasa bakterii ¹	Promieniowce ²	Bakterie eutroficzne ²	Bakterie oligotroficzne ²	Azotobacter ³	Aktywność oddechowa ⁴	Amonifikacja arginy ⁵	Aktywność nitryfikatorów ⁶
PI	pszenica ozima	17 VI	153	4,7	0,9	1,7	1	4,5	6,3	38
	kontrolna	3 IX	222	4,4	0,7	1,7	3	2,6	8,0	316
	pszenica ozima	17 VI	135*	5,0	0,8	2,3**	7	4,0**	6,1	72**
	chroniona	3 IX	213	5,7	0,5	2,7**	2	2,3**	8,1	236**
	rzepak ozimy	17 VI	234	2,9	1,1	2,5	4	4,2	9,3	109
	kontrolny	3 IX	284	6,3	0,8	2,1	2	2,4	8,5	407
PII	rzepak ozimy	17 VI	183*	5,5*	0,6*	3,1	10	4,3*	8,4**	178**
	chroniony	3 IX	270	5,7	1,5*	3,2**	9	2,6*	9,9**	305*

¹ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ² $10^6\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ³ komórek $\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ^{4,5} $\mu\text{g C-CO}_2$ i $\mu\text{g N-NH}_3\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot 24$ godz.⁻¹; ⁶ $\mu\text{g N-NO}_3$ w hodowli.

* ** Zróżnicowanie statystycznie istotne (na poziomie $t = 0,005$) i wysoce istotne (na poziomie $t = 0,001$).

W kolejnych sezonach wegetacyjnych zmieniało się też ukierunkowanie oddziaływania pestycydów na poszczególne grupy drobnoustrojów, co stwierdzono określając na przykład liczebności promieniowców oraz bakterii eutroficznych i oligotroficznych. W uprawach prowadzonych w sezonach wegetacyjnych 1991 i 1992 roku, w przeciwieństwie do upraw prowadzonych w sezonie roku 1990, obserwowano nie tylko zwiększanie się liczebności tych drobnoustrojów, ale niekiedy także zmniejszanie się ich liczby. Energia nitryfikatorów, bytujących w glebie pod uprawami prowadzonymi w 1991 roku na polu PI i PII, była wskutek stosowania pestycydów zwiększona, a pod uprawami prowadzonymi na tych polach w latach 1990 i 1992 — zmniejszona.

Z uwagi na słabe i zmienne efekty oddziaływania pestycydów na mikroflorę glebową przedstawione w tab. 6 przeciętne dla 3-letniego okresu badań, dotyczące biomasy, liczebności i aktywności drobnoustrojów, nie wykazywały statystycznie istotnego zróżnicowania tak w glebie pola PI, jak i pola PII.

Tabela 5. Wpływ wieloletniego stosowania pestycydów na mikroflorę gleby pól uprawnych w Winnogórze w 1992 roku

Pole	Roślina	Termin analiz	Biomasa bakterii ¹	Promieniowce ²	Bakterie eutroficzne ²	Bakterie oligotroficzne ²	Azotobacter ³	Aktywność oddechowa ⁴	Amonifikacja argininy ⁵	Aktywność nityfikatorów ⁶
PI	ziemniak	26 V	233	3,6	0,4	2,2	1	2,6	9,1	267
	kontrolny	1 IX	296	9,7	1,3	3,5	3	3,8	3,3	509
	ziemniak	26 V	230	3,2	0,4	1,5**	9*	2,8*	9,5	172**
	chroniony	1 IX	268	5,2**	0,5**	2,2*	10*	2,7*	2,0**	286**
PII	burak	26 V	252	2,2	0,3	0,9	1	3,8	5,5	191
	cukrowy	1 IX	247	5,2	0,6	1,9	7	1,9	1,8	176
	kontrolny									
	burak	26 V	237*	2,3	0,3	1,5**	1	2,4*	4,0**	133**
	cukrowy	1 IX	232**	3,9**	0,5	1,1**	1**	1,7	0,0	152
	chroniony									

¹ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ² $10^6\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ³ komórek $\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ^{4,5} $\mu\text{g C-CO}_2$ i $\mu\text{g N-NH}_3\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot 24$ godz.⁻¹; ⁶ $\mu\text{g N-NO}_3$ w hodowli.

* ** Zróżnicowanie statystycznie istotne (na poziomie $t = 0,005$) i wysoce istotne (na poziomie $t = 0,001$).

Tabela 6. Wpływ wieloletniego stosowania pestycydów na przeciętną biomasa, liczebność i aktywność drobnoustrojów w glebie pól uprawnych w Winnogórze w latach 1990–1992

Pole	Roślina	Biomasa bakterii ¹	Promieniowce ²	Bakterie eutroficzne ²	Bakterie oligotroficzne ²	Azotobacter ³	Aktywność oddechowa ⁴	Amonifikacja argininy ⁵	Aktywność nityfikatorów ⁶
I	kontrolne	243	4,7	0,9	1,8	2	2,8	6,9	196
	chronione ⁻	223	4,1	0,9	1,9	9	2,6	6,8	130
II	kontrolne	238	3,5	0,7	1,5	19	2,7	6,4	148
	chronione ⁻	218	3,4	0,6	1,8	10	2,4	6,6	129

¹ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ² $10^6\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ³ komórek $\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby; ^{4,5} $\mu\text{g C-CO}_2$ i $\mu\text{g N-NH}_3\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot 24$ godz.⁻¹; ⁶ $\mu\text{g N-NO}_3$ w hodowli.

⁻ Wszystkie podane wartości nie są statystycznie zróżnicowane istotnie.

Podsumowanie

Pestycydy stosowane w ilościach znacznie zwiększających plony roślin uprawianych w płodozmianie oddziaływały na mikroflorę glebową w różny sposób: korzystny dla niej lub niekorzystny.

Zmiany w mikroflorze glebowej, pomimo wieloletniego stosowania tych środków, były stosunkowo nieduże, mniejsze od zmian wywoływanych przez uprawianą roślinę lub zmian związanych z terminem. Ponadto występowały one często tylko przez część określonego sezonu wegetacyjnego lub też wykazywały tendencje do zanikania w sezonie następnym.

Literatura

- [1] Alef K., Kleiner D. 1986. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biol. Biochem.* **18**: 233–235.
- [2] Fenglerowa W. 1965. Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. *Acta Microbiol. Polon.* **14**: 203–206.
- [3] Kaczmarek W., Kaszubiak H., Guzek H. 1973. Comparison of changes in the number of microorganisms in the soil by the plate and microscopic procedures. *Pol. J. Soil Sci.* **6**: 133–139.
- [4] Kaszubiak H., Kaczmarek W. 1976. Ocena współcześnie stosowanych metod oznaczania liczebności, biomasy i produktywności drobnoustrojów w glebie. PTG, Prace z Dziedziny Mikrobiologii Gleby, Warszawa.
- [5] Lingappa Y., Lockwood J. L. 1962. Chitin media for selective isolation and culture of Actinomycetes. *Phytopath.* **52**: 317–323.
- [6] Ohta H., Hattori T. 1983. Oligotrophic bacteria on organic debris and plant roots in a paddy field soil. *Soil Biol. Biochem.* **1**: 1–8.
- [7] Winogradski S. 1925. Etudes sur la microbiologie du sol. Premier memoire. Sur la methode. *Ann. Inst. Pasteur* **39**: 299–325.
- [8] Węgorek W., Mackiewicz S., Trojanowski H. 1976. Wpływ wieloletniego stosowania pestycydów na ilość plonu oraz na niektóre elementy środowiska. *Mat. XVI Sesji Nauk. IOR*, 237–270.
- [9] Węgorek W., Dąbrowski J., Trojanowski H. 1982. Ekonomiczne i środowiskowe skutki intensywnego stosowania chemicznej ochrony roślin. *Mat. XXII i XXIII Sesji Nauk. IOR*, 11–40.
- [10] Węgorek W., Trojanowski H., Rudny R. 1990. Wpływ intensywnego stosowania pestycydów na plony i wybrane elementy środowiska rolniczego. Cz. I i II. *Prace Naukowe IOR*, **32**: 99–128.