

WPŁYW STOSOWANIA MINERALNYCH NAWOZÓW AZOTOWYCH (N I NPK)  
NA WYSTĘPOWANIE NITROZODAMIN I MIKOTOKSYN W GLEBACH GÓRSKICH  
I NIZINNYCH EKOSYSTEMÓW TRAWIASTYCH\*

Bolesław Smyk, Wiesław Barabasz, Edward Różycki

Katedra Mikrobiologii AR w Krakowie

Intensywne stosowanie mineralnych nawozów azotowych w nawożeniu górskich i nizinnych 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, 11].

W wyniku stosowania wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych zachodzą w glebach ekosystemów trawiastych niekorzystne zmiany biocenotyczne, związane z recesją wielu grup fizjologicznych mikroorganizmów glebowych i gatunków roślin - co z reguły doprowadza do poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu ekosystemów. W końcowym bilansie powstałych zmian i niekorzystnych zjawisk toksykologicznych następuje spadek produktywności biologicznej ekosystemów trawiastych [2, 4, 5, 7, 8, 12, 14, 15].

Wydaje się, że z punktu widzenia ekologii i toksykologii ekologicznej ekosystemów lądowych nie może być nie uwzględniany aspekt toksykologiczny wielu metabolitów drobnoustrojów, powstających w glebach przy stosowaniu wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych [1, 10, 11, 13, 16-18].

Z badań wielu autorów, specjalistów z zakresu ekotoksykologii wynika, że właśnie nitrozoaminy i mikotoksyny - stanowią potencjalne zagrożenie środowisk przyrodniczych ludzi i zwierząt [1, 2, 4, 6-9, 11-15, 17].

Celem naszych badań było poznanie wpływu stosowania mineralnych nawozów azotowych (N i NPK) na zmiany mikrobiocenotyczne i toksykologiczne, zachodzące w gle-

---

\*Praca została wykonana w ramach problemu MR.II.17: „Aktywność drobnoustrojów oraz ich wykorzystywanie i zwalczanie” - koordynowanego przez Instytut Mikrobiologii UŁ w Łodzi.

Tabela 1

Wpływ nawożenia mineralnego (N i NPK) na zmiany mikrobiocenozy i produktywność biologiczną górskich ekosystemów trawiastych

Obiekty badawcze

A. *Arrhenatherum elatioris* - Biała Woda - 610 m n.p.m.

B. *Gladiało - Agrostidetum* - Cerkiel - 724 m n.p.m.

I. Nawożenie N\*

	N <sub>0</sub>	N <sub>80</sub>	N <sub>120</sub>	N <sub>180</sub>	N <sub>240</sub>	N <sub>360</sub> kg/ha/rok	Recesja w składowie mikrobiocenozy
1. Mikrobiocenozy	1984 r.						
Obiekt A							
Gatunki dominujące							
bakterie	25/25	25	25	Recesja bakterii z rodzaju <i>Azotobacter</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Streptomyces</i> oraz grzybów ( <i>Micromycetes</i> )			24/12 = 48%
promieniowce	25/22	20	20				15/16 = 27,5%
grzyby	30/26	25	25				20/13 = 50%
Biomasa bakterii	0,4 t/ha	0,9 t/ha	1,85 t/ha				2,75 t/ha
Obiekt B							
Gatunki dominujące							
bakterie	20/18	20	20	Recesja bakterii z rodzaju <i>Azotobacter</i> <i>Arthrobacter</i> , <i>Streptomyces</i> oraz grzybów ( <i>Micromycetes</i> )			15/12 = 33%
promieniowce	15/16	15	15				10/10 = 37,5%
grzyby	20/18	20	20				15/9 = 50%
Biomasa bakterii	0,25 t/ha	0,6 t/ha	1,25 t/ha				2,0 t/ha
2. Fitocenozy							
liczba gatunków:							
w obiekcie A	64/58	57	48	44	27	27	17/10 = 82,7%
w obiekcie B	58/56	55	39	32	25	25	24/16 = 71,4%
3. Plon siana t/ha s.m.							
obiekt A	2,65	4,99	5,23	5,64	5,84	6,05	
obiekt B	1,53	2,50	2,75	3,43	3,57	4,02	

1984 r.

41,8%

40%

77%

II. Nawożenie NPK \*

	N <sub>0</sub> P <sub>0</sub> K <sub>0</sub>	N <sub>50</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>120</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>180</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>240</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>360</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	Recesja w składowie mikrobiologicznym
1. Mikrobiocenozy							1984 r.:
Objekt A							
Gatunki dominujące bakterie	25/23	25	25	Wzrost biomasy bakterii z rodzaju <i>Arthro-</i> <i>bacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Nocardia</i> i			25/17 = 26%
promieniowce	25/22	24	24	Streptomyces oraz grzybów z rodzaju <i>Asper-</i>			20/18 = 18%
grzyby	30/26	28	25	gillus, <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> i <i>Verticillium</i>			22/18 = 31%
Biomasa bakterii	0,4 t/ha	2,0 t/ha	2,4 t/ha	3,6 t/ha			3,0 t/ha
Objekt B							
Gatunki dominujące bakterie	20/18	20	20	Wzrost biomasy bakterii z rodzaju <i>Arthro-</i> <i>bacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Nocardia</i> i			18/15 = 17%
promieniowce	15/16	15	15	Streptomyces oraz grzybów z rodzaju <i>Asper-</i>			12/11 = 31%
grzyby	20/18	20	20	gillus, <i>Fusarium</i> , <i>Penicillium</i> i <i>Verticillium</i>			18/13 = 28%
Biomasa bakterii	0,25 t/ha	0,85 t/ha	1,75 t/ha	2,4 t/ha			2,1 t/ha
2. Fitocenozy							
liczba gatunków:							
w obiekcie A	64/57	55	34	24	24	22	22/10 = 82,2%
w obiekcie B	58/57	53	33	29	22	22	16/12 = 79,0%
3. Plon siana							
w t/ha s.m							
obiekt A	2,85	5,44	5,93	6,16	6,40	6,83	
obiekt B	1,42	2,75	3,05	3,42	4,22	4,45	

\* Dane uzyskane w trzecim i czwartym roku doświadczzeń z nawożeniem Ni NPK (1983-1984)

II. Nawożenie NPK\*

		N <sub>0</sub> P <sub>0</sub> K <sub>0</sub>	N <sub>50</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>120</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>180</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>240</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	N <sub>360</sub> P <sub>80</sub> K <sub>80</sub>	Recesja w składowie mikrobiocenoz	
1. Mikrobiocenozy		1984 r.:							
Obiekt A									
Gatunki dominujące bakterie		Wzrost biomasy bakterii z rodzaju Arthro-							
promieniowce		25/23	25	25	24	25	25/17 = 26%	25%	
grzyby		25/22	24	24	24	24	20/18 = 18%		
Biomasa bakterii		30/26	28	25	25	22/18 = 31%	3,0 t/ha		
Obiekt B		0,4 t/ha	2,0 t/ha	2,4 t/ha	3,6 t/ha	3,0 t/ha	2,1 t/ha		
Gatunki dominujące bakterie		Wzrost biomasy bakterii z rodzaju Arthro-							
promieniowce		20/18	20	20	20	18/15 = 17%	25,3%		
grzyby		15/16	15	15	15	12/11 = 31%			
Biomasa bakterii		20/18	20	20	20	18/13 = 28%	2,1 t/ha		
		0,25 t/ha	0,85 t/ha	1,75 t/ha	2,4 t/ha	2,1 t/ha			
2. Fitocenozy									
liczba gatunków:									
w obiekcie A		64/57	55	34	24	24	22/10 = 82,2%	80%	
w obiekcie B		58/57	53	33	29	22	16/12 = 79,0%		
3. Plon siana									
w t/ha s.m									
obiekt A		2,85	5,44	5,93	6,16	6,40	6,83		
obiekt B		1,42	2,75	3,05	3,42	4,22	4,45		

\*Dane uzyskane w trzecim i czwartym roku doświadczeń z nawożeniem Ni NPK (1983 - 1984.)

Wpływ stosowania mineralnych nawozów azotowych (N i NPK) na występowanie nitrozoamin i mikotoksyn w glebach górskich ekosystemów trawiastych

Obiekty badawcze:

- A. Arrhenatheretum elatioris - Biała Woda (J/1/III)  
 B. Gladiolo-Agrostidetum - Cerkiel (J/2/III)

Biologiczne i ekologiczne skutki ubocznego oddziaływania mineralnych nawozów azotowych (trzeci i czwarty rok stosowania nawozów)

Nawożenie - N

	N <sub>60</sub>	N <sub>120</sub>	N <sub>180</sub>	N <sub>240</sub>	N <sub>360</sub>
1. Występowanie nitrozoamin DMNA (dimetylonitrozoaminy) i DENA (dietylonitrozoaminy) w glebach					
A. Arrhenatheretum elatioris	-	+	++	++	+++
B. Gladiolo-Agrostidetum	-	+	++	++	+++
2. Występowanie grzybów toksynotwórczych w glebach <sup>1</sup>					
A. Arrhenatheretum elatioris	-	*	*	**	***
B. Gladiolo-Agrostidetum	-	*	*	**	***

Nawożenie - NPK

N<sub>60</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub>      N<sub>120</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub>      N<sub>180</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub>      N<sub>240</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub>      N<sub>360</sub>P<sub>80</sub>K<sub>80</sub>

1. Występowanie nitrozoamin DMNA (dimetylonitrozoaminy) i DENA (dietylonitrozoaminy) w glebach<sup>1</sup>

A. Arrhenatheretum elatioris	-	+	++	++	+++
B. Gladiolo-Agrostidetum	-	+	++	++	+++

2. Występowanie grzybów toksynotwórczych w glebach<sup>1</sup>

A. Arrhenatheretum elatioris	-	*	*	**	***
B. Gladiolo-Agrostidetum	-	*	*	**	***

<sup>1</sup>Aspergillus (A. chevalieri, A. ochraceus, A. terreus), Fusarium (F. scirpii, F. sporotrichioides), Penicillium (P. cyclopium, P. jensenii, P. rugulosum, P. tardum).  
Występowanie nitrozoamin: + = 0,75-2,00 ppm DMNA i DENA; ++ = 5,00-10,00 ppm DMNA i DENA; +++ = 10,00-20,00 ppm DMNA i DENA.

Wytwarzane mikotoksyny: \* - glikoksyna; ochratoksyny A i B, kwas terreinowy i inne; \*\* - scirpenol i sporofusaryna; \*\*\* - dikumarol, rugulozyna, kwas penicylinowy.

bach górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych, reprezentowanych przez zespoły roślinne *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostidetum* oraz *Alopecuretum* i *Arrhenatheretum elatioris*.

### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania mikrobiologiczne i analityczno-chemiczne, fitosocjologiczne i toksykologiczne przeprowadzono na łąkach górskich, reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne, zbliżone do zespołu *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostidetum*, położonych na terenach doświadczalnych IMUZ-u w Jaworkach koło Szczawnicy (Pieniń). Identyczne badania zostały wykonane również na łąkach nizinnych, położonych nad rzeką Nidą, a reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne zbliżone do zespołu *Alopecuretum* (*Mniszek*) i *Arrhenatheretum elatioris* (*Morawica*, *Chroberz*).

Opis obiektów doświadczalnych, stosowane metody mikrobiologiczne, gleboznawczo-chemiczne, fitosocjologiczne i ekotoksykologiczne zostały podane w opracowaniu. „Wpływ chemizacji nawozowej (N) rolnictwa na procesy mikrobiologiczne zachodzące w środowiskach glebowych górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych” [14].

Oznaczanie nitrozoamin (DMNA i DENA) w glebach badanych ekosystemów trawiastych wykonano metodą chromatografii gazowej Pancholy'ego [9]. Izolację grzybów toksynotwórczych i oznaczanie ich metabolitów (mikotoksyn) oparto na metodzie Daviesa, Dienera i Eldridge'a - zmodyfikowanej i zaadaptowanej do izolacji grzybów toksynotwórczych z gleb [12, 15, 16].

### WYNIKI BADAŃ

#### Wpływ stosowania wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych na występowanie nitrozoamin w glebie

W glebach górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych, reprezentowanych przez zbiorowiska roślinne: *Arrhenatheretum elatioris* i *Gladiolo-Agrostidetum* oraz *Alopecuretum* i *Arrhenatheretum elatioris* - jednostronnie nawożonych wysokimi dawkami azotu mineralnego (od 120 do 360 kg N/ha rocznie) w trzecim i czwartym roku nawożenia stwierdzono występowanie nitrozoamin, a mianowicie: dimetylonitrozoaminy = DMNA i dietylonitrozoaminy = DENA w stężeniach 0,75-2,0, 5,0-10,0 i nawet 20,0 ppm. Przy stosowaniu nawożenia NPK w glebach górskich i nizinnych użytków zielonych nie stwierdzono wyraźnych różnic w zawartości nitrozoamin.

Nitrozoaminy (DMNA i DENA), odznaczające się wyraźnym toksycznym wpływem na mikroorganizmy glebowe mogą wywoływać daleko idące zmiany ilościowe i jakościowe w biocenozach klimaksowych i tym samym oddziaływać destruktywnie na stabilność

ekologiczną i produktywność biologiczną ekosystemów trawiastych (tab. 1 i 2).

W trakcie prowadzonych badań zaobserwowano, że wprowadzony do badanych gleb ze spożycia roślinnego *Gladiolo-Agrostidetum* („B”) kwas askorbinowy wpłynął korzystnie na procesy metaboliczne mikroorganizmów glebowych i przyrost ich biomasy oraz na wzrost masy zielonej roślinności trawiastej [3]. Bliższe wyjaśnienie zaobserwowanych zjawisk w środowiskach glebowych użytków zielonych pod wpływem kwasu askorbinowego wymagać będzie jeszcze dalszych badań.

#### Wpływ stosowania wysokich dawek mineralnych nawozów azotowych na występowanie grzybów toksynotwórczych w glebie

W glebach górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych, nawożonych wysokimi dawkami azotu mineralnego ( $N_{120} - N_{360}$  kg/ha/r.), jak i NPK ( $N_{120}P_{80}K_{80} - N_{360}P_{80}K_{80}$  kg/ha/r.) stwierdzono występowanie grzybów toksynotwórczych z rodzaju *Aspergillus* (*A. chevalieri*, *A. ochraceus*, *A. terreus*), *Fusarium* (*F. scirpii*, *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: gliotoksyna, ochratoksyny A i B, kwas terreinowy, scirpenol, sporofuzaryna, dikumarol i rugulozyna o działaniu fitotoksycznym i o dużej toksyczności dla zwierząt gospodarskich (tab. 1 i 2).

Występowanie grzybów toksynotwórczych w badanych środowiskach glebowych może być następstwem mutagennego oddziaływania nitrozoamin (DMNA i DENA) na saprofityczne grzyby glebowe.

Powyższe mikotoksyny, jako metabolity wyżej wymienionych grzybów toksynotwórczych, mogą oddziaływać szkodliwie na stabilność ekologiczną i produktywność biologiczną badanych ekosystemów trawiastych.

#### WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników z przeprowadzonych badań można by wysnuć następujące wnioski:

1. Zastosowane nawożenie azotem mineralnym (N i NPK) gleb górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych wywołuje już w trzecim i w czwartym roku nawożenia wyraźne zmiany mikrobiocenotyczne i ekotoksykologiczne w biocenozach klimaksowych.

2. Wysokim dawkom nawożenia azotem mineralnym (120-360 kg N/ha/r.) towarzyszy w badanych warunkach ekologicznych ilościowy wzrost nitrozoamin (DMNA i DENA) oraz występowanie grzybów toksynotwórczych z rodzaju *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Verticillium*.



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

4. Zastosowane nawożenie azotem mineralnym wywołuje w badanych warunkach ekologicznych niekorzystne zmiany w stabilności ekologicznej i produktywności biologicznej górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych.

#### LITERATURA

1. Aynaba A., Verstaete W., Alexander M.: Formation of dimethylnitrosamine, a carcinogen and mutagen, in soils treated with nitrogen compounds. *Soil Science Society of America Proceedings*, 37, 4, 565-568, 1973.
2. Callen D. F.: Microbial metabolism of environmental chemicals to mutagen and carcinogen. *Chemical Mutagens*, 7, 4, 163-188, 1982.
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., B.*, 296, 563-571, 1982.
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*, 31, 1, 40-48, 1981.
7. Lai D. Y., Myers S. C., Woo Yin-tak, Greens E. J., Friedman M. A., Argus M. F., Arcos J. C.: Role of dimethylnitrosamine-demethylase in the metabolic activation of dimethylnitrosamine. *Chem. a. Biol. Interactions*, 28, 107-126, 1979.
8. Montesano R., Pegg A. E., Margison G. P.: Alkylation of DNA and carcinogenicity of N-nitroso compounds. *J. of Toxicology and Environmental Health*, 6, 5-6, 1001-1008, 1980.
9. Panchoy S. K.: Formation of carcinogenic nitrosamines in soils. *Soil Biol. a. Biochem.*, 10, 27-32, 1978.
10. Rasp H.: Nitrat, Nitrit, Nitrosamine, *Ernahrungs-Lehre und Praxis*, 3, 13-15, 4. 17-19, 1984.
11. Smyk B.: Biologiczne i biogeochemiczne skutki stosowania mineralnych nawozów azotowych w rolnictwie. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie*, 10, 169, 57-78, 1982.
12. Smyk B.: Mikroorganizmy a produktywność biologiczna gleb. *Studia Ośrodka Dokumentacji Fizjograficznej PAN w Krakowie*, 12, 97-132, 1984.
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, ICOME, IUMS and ASM., Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA* Q - 6, 70, 1983.
14. Smyk B., Różycki E., Barabasz W., Czachor M., Marcinowska K., Bis H., Karaszkiewicz A.: Wpływ chemizacji nawozowej rolnictwa (N) na procesy mikrobiologiczne, zachodzące w środowiskach glebowych górskich i nizinnych ekosystemów trawiastych. *Raport końcowy. Program badawczy MR.II.17., AR w Krakowie*, 1985.
15. Steyn P. S.: The biosynthesis of mycotoxins. *Academic Press, Inc., New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco* 1980.
16. Van Broekhoven L. W., Davies J. A. R.: The formation of volatile N-nitrosamines in grass and maize silages. *Neth. J. Agric. Sci.*, 28, 238-241, 1980.
17. Van Cleemput O., Baert L.: Nitrite a key compound in N loss processes under soil conditions?, *Plant a Soil*, 76, 233-241, 1984.
18. 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.