

OCENA WPŁYWU RÓŻNYCH SYSTEMÓW OCHRONY CHEMICZNEJ STOSOWANYCH W UPRAWIE ZIEMNIAKA NA MIKROFLORE GLEBY ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM PROCESU NITRYFIKACJI

Krystyna Przybulewska

Katedra Mikrobiologii, Akademia Rolnicza, Szczecin

1 WSTĘP

W związku z intensyfikacją rolnictwa walka z chwastami, chorobami i szkodnikami roślin opiera się na systemach ochrony poszczególnych upraw zawierających kilka lub kilkanaście zabiegów przeprowadzanych przy użyciu różnych pestycydów w ciągu okresu wegetacyjnego.

Zagrożenie środowiska ze strony pestycydów pojawiło się w momencie wprowadzenia ich do ochrony roślin uprawnych. Substancje te, o wysokiej aktywności biologicznej - obok szeregu pozytywnych skutków wywieranych przede wszystkim na wielkość i jakość uzyskiwanych plonów mogą powodować wiele niepożądanych zmian. Pestycydy przyczyniają się do niszczenia naturalnej, przez wieki ukształtowanej w przyrodzie równowagi. Skutki uboczne, wynikające ze stosowania tych związków są rozległe i wielorakie. Ich przyczyną mogą być między innymi: działanie substancji czynnej, toksyczne dodatki formulacyjne zawarte w chemicznych preparatach ochrony roślin, toksyczne produkty przemian pestycydów i ich mobilność w glebie oraz tworzenie pozostałości związanej.

W glebie istnieje ścisła zależność pomiędzy aktywnością drobnoustrojów, a jej żyznością. Środki chemiczne po przedostaniu się do gleby mogą wywoływać ilościowe i jakościowe zmiany w składzie mikroflory, a także w ważnych procesach mikrobiologicznych. Bardzo duży wpływ na żyzność gleby ma przebieg procesu nitryfikacji i wiązanie azotu, które to procesy zawdzięczamy bakteriom z dwóch rodzin: *Ni-*

trobacteriaceae i *Azotobacteraceae*. Utleniają one formę amonową azotu i asymilują azot z powietrza, przekształcając go do postaci przyswajalnej dla roślin. Niszczenie więc lub hamowanie rozwoju tych bakterii obniża żyzność gleby. W obecnych czasach przy intensywnym nawożeniu azotanowym produkty procesu nitryfikacji ze względu na ekologię środowiska mogą jednak budzić pewne obawy.

Pomimo tego, korzyści związane ze stosowaniem pestycydów stanowią na tyle silny argument, że zrezygnowanie z nich we współczesnym świecie jest niezwykle trudne, a wydaje się nawet niemożliwe.

2 CEL PRACY

Ze względu na bogactwo przejawów aktywności mikrobiologicznej gleby i ich znaczenie dla kształtowania żyzności, badania muszą obejmować wiele składników charakteryzujących środowisko. Dobrym wskaźnikiem ogólnego stanu mikroflory jest pomiar ilości biomasy żywych mikroorganizmów oraz liczebność głównych grup drobnoustrojów, jak bakterie, promieniowce i grzyby. Obok tego jednak należałoby określić zachodzące pod wpływem pestycydów zmiany w mikroflorze związanej z głównymi cyklami przemian zachodzącymi z ich udziałem, zwłaszcza cykl przemian węgla i azotu oraz w procesach znanych ze swojej wrażliwości na działanie tych związków, jak np. nitryfikacja.

W związku z powyższym, celem niniejszej pracy było określenie wpływu zestawu pestycydów stosowanych w chemicznej ochronie ziem-

niaka na mikroflorę glebową, zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i polowych. Określono działanie pojedynczych preparatów, jak i ich zestawów dobranych według zaleceń agrotechnicznych. Jako wskaźniki mikrobiologicznej aktywności przyjęto ilość biomasy żywych mikroorganizmów, liczebność bakterii, promieniowców i grzybów oraz ważniejsze elementy cyklu przemian węgla i azotu (rozkład celulozy w glebie, liczebność organizmów proteolitycznych, nityfikatorów i azotobakter). Szczególną uwagę poświęcono pomiarom zmian w przebiegu nityfikacji w obecności pestycydów. Obok określania działania pojedynczych preparatów i ich kombinacji dokonywano obserwacji wpływu warunków środowiskowych (temperatury i wilgotności) na ten proces, a także podjęto próbę matematycznego modelowania wpływu wywieranego przez pestycydy na nityfikację w tych warunkach.

Informacja ogólna:

Praca w oryginale obejmuje 171 stron. Zawiera 66 rycin, 8 fotografii, 8 tabel oraz 175 pozycji literatury. W końcowej części pracy zamieszczono aneks zawierający 26 tabel analiz statystycznych przedstawionych na 16 nie numerowanych stronach.

3 MATERIAŁ I METODYKA

3.1 Materiał do badań

Badania obejmowały dwa doświadczenia laboratoryjne i jedno doświadczenie polowe. Badania laboratoryjne przeprowadzono z użyciem gleby lekkiej, pobranej z poziomu próchniczego z głębokości 0-10 cm. Na tej samej glebie założono doświadczenie polowe, zlokalizowane w prywatnym gospodarstwie w okolicach Recza Pomorskiego w 1998 roku. W związku z brakiem w badanej glebie wolnożyjących asymilatorów azotu z rodzaju *Azotobacter*, do określenia wpływu badanych pestycydów na te bakterie użyto gleby pochodzącej z hali wegetacyjnej Akademii Rolniczej w Szczecinie.

W doświadczeniu użyto 8 pestycydów; 3 herbicydy przeznaczone do niszczenia chwastów jedno- i dwuliściennych, 1 insektycyd do zwalczania stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata*) oraz 4 fungicydy do zwalczania chorób grzybowych, a głównie zarazy ziemniaczanej (*Phytophthora infestans*). Wszystkie preparaty i ich kombinacje użyte w niniejszych ba-

daniach są powszechnie stosowane w ochronie roślin rolniczych i zalecane przez Instytut Ochrony Roślin w Poznaniu (tabela 1).

3.2 Metodyka analiz chemicznych i mikrobiologicznych

Oznaczenie azotanów w glebie wykonano metodą kolorymetryczną z użyciem kwasu fenyldwusulfonowego.

Zawartość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie oznaczono w oparciu o fizjologiczną metodę opracowaną przez Andersona i Domscha [2]. Pomiary wykonano za pomocą automatycznego analizatora ULTRAGAS „U4S” firmy Wosthoff OHG.

Określenie liczebności mikroorganizmów w glebie przeprowadzono metodą płytkową Roberta Kocha. Obejmowała ona określenie ogólnej liczebności bakterii, grzybów, promieniowców, drobnoustrojów proteolitycznych oraz tlenowych asymilatorów z rodzaju *Azotobacter*. Ponadto określono najbardziej prawdopodobną liczbę (NPL) nityfikatorów I i II fazy, korzystając z metody rozcieńczeń zaproponowanej przez Pochona i Tardieuxa [25].

Ogólną liczebność bakterii oznaczono na podłożu Bunta i Roviry [5] z wyciągiem glebowym, liczebność grzybów oznaczono na podłożu glukozowo-peptonowym wg Martina [12], liczebność promieniowców na podłożu wg Cyganowa (1964), liczebność drobnoustrojów proteolitycznych oznaczono na podłożu wg Kędzi i Konara [8] oraz liczebność asymilatorów azotu z rodzaju *Azotobacter* na podłożu Fenglerowej (1965).

Do oznaczenia szybkości rozkładu celulozy zastosowano powszechnie używaną metodę zakopywania do gleby materiału celulozowego i oznaczenia występującego z upływem czasu ubytku wagi, wprowadzoną przez Kuźniara [1]. Uzyskana różnica wagi przed zakopaniem i po wykopaniu była miarą intensywności rozkładu celulozy w glebie, którą przedstawiono jako procent rozkładu.

3.3 Schemat doświadczeń

Badania obejmowały dwa doświadczenia laboratoryjne określone w pracy jako modelowe oraz doświadczenie polowe.

3.3.1 Doświadczenie modelowe nr 1.

Pierwsze doświadczenie modelowe polegało na określeniu wpływu temperatury i wilgotności na działanie wywierane przez pojedyncze pestycydy na intensywność procesu nityfikacji w glebie. W doświadczeniu użyto następujące

pestycydy: Dithane, Linuron, Fusilade, Decis, Ridomil, Bravo, Miedzian i Reglone, które opisano powyżej (tabela 1)

Tabela 1. Pestycydy użyte w doświadczeniu

Nr	Nazwa handl. pestycydu	Rodzaj preparatu	Substancja czynna			Dawka polowa	Klasa toksycz.	Producent
			Nazwa zwyczajowa	% lub g w 1 l	Nazwa chemiczna			
1	Dithane M 45	fungicyd	mankozeb	80	kompleks cynku z etyleno-bis-dwutiokarbaminianem manganu	200g / 100 kg bulw	IV	Rohm and Haas Company-USA
2	Linuron 50 WP	herbicyd	linuron	50	N-(3,4-dwuchlorofenylo-)-N-metaksy-N-metylomocznik	2 kg /ha	IV	I.Pi.Ci-Włochy
3	Fusilade Super	herbicyd	fluazifop-P-butylu	12,5	związki z grupy fenoksykwasów	2,5-3 l /ha	IV	ICI Agrochemicals UK
4	Decis 2,5 EC	insektycyd	deltametryna	2,5	związki z rodz. pyretroidów	0,2-0,3 l ha	IV	Roussel Uclaf-Francja, Zakł. „Organika”
5	Ridomil MZ 72 WP	fungicyd	metalaksyl mankozeb	8 64	ester metylowy D,L-IV (metoksyacetylo)-alaniny tlenochlorek miedziowy	2 kg /ha	IV	Ciba-Geigy AG Szwajcaria, Zakł. Chem. Jaworzno
6	Brawo 500 SC	fungicyd	chlorotalonil	500	1,3-dicjan-2, 4, 5, 6-tetrachlorobenzen	2-3 kg /ha	V	ISK Biotech Europe.Ltd. UK
7	Miedzian 50 WP	fungicyd	tlenochlorek miedziowy	50	tlenochlorek miedzi	5 kg /ha	IV	Zakł. Przem. „Organika” Wola Krzysztopor.
8	Reglone 200 SL	herbicyd	dikwat	195-200	dwubromek 1,1'-etyleno-2,2'-dwupirydyliowy	4-5l/ha	IV	ICI Agrochemicals-UK, Zakł. „Organika”

Przygotowane próby glebowe o masie 200 g doprowadzono do wilgotności 20, 40, 60 i 80% maksymalnej pojemności wodnej. Dla każdej wilgotności przygotowano grupę próbek przeznaczoną do inkubacji w temperaturze 5, 15, 25 i 35°C. Następnie nanoszono na nie pestycydy w postaci emulsji wodnej lub zawiesiny w celu uzyskania stężenia preparatów 1, 10, 100 i 1000 mg/kg gleby w przeliczeniu na substancję aktywną. Glebę wzbogacono siarczanem amonowym w ilości 40 mg na przygotowaną próbkę glebową, po czym inkubowano je w laboratorium w odpowiedniej temperaturze, kontrolując co kilka dni wilgotność i ewentualnie uzupełniając wodą w razie potrzeby.

W poszczególnych dniach inkubacji 1, 3, 7, 14, 21, 28 i 48 pobierano próbki glebowe do analiz i oznaczano zawartość azotanów.

Wszystkie oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach.

3.3.2 Doświadczenie modelowe nr 2

Doświadczenie polegało na określeniu wpływu systemów zabiegów stosowanych w chemicznej ochronie ziemniaków na mikroflorę gleby. W tym celu przygotowano próby glebowe o masie 2 kg, które następnie doprowadzono do wilgotności 60% maksymalnej pojemności wodnej i inkubowano w temperaturze 25°C. W terminach odpowiadającym zaleceniom agrotechnicznym w warunkach polowych (Tabela 2), do gleby wprowadzano poszczególne pestycydy w dawce 0, 1, 10, 100, 1000 mg/kg gleby. Próby do analiz zarówno mikrobiologicznych, jak i chemicznych pobierano raz w miesiącu. W każdym analizowanym terminie określano liczebność bakterii, promieniowców, grzybów, nityfikatorów, mikroorganizmów

proteolitycznych, wolnożyjących asymilatorów azotu z rodzaju *Azotobacter* i aktywność celulo-lityczną.

Aktywność nityfikatorów określono w pracy mianem „potencjału nityfikacji”, mierzonego poprzez maksymalną ilość azotanów, jaką mogą wyprodukować obecne w glebie nityfikatory. Określenie tej aktywności jest możliwe między innymi przy ciągłym dostępie w glebie azotu w formie amonowej. W tym celu w poszczególnych kombinacjach doświadczalnych tworzono podpróby glebowe o masie 100g i wzbogacano je siarczanem amonowym w ilości 20 mg każda. Tak przygotowane próby inkubowano w temperaturze 25⁰C prze 21 dni. Zawartość azotanów w inkubowanych próbach glebowych oznaczono kolorymetrycznie z użyciem kwasu fenylohdwusulfonowego i obliczono przyrost ich ilości jaki miał miejsce podczas inkubacji. Doświadczenie trwało 6 miesięcy.

3.3.3 Doświadczenie polowe

Doświadczenie polowe przeprowadzono jednocześnie z doświadczeniem modelowym nr 2, które trwało przez pełny okres wegetacji ziemniaków. Założono je metodą bloków kompletnie zrandomizowanych w trzech replikacjach. Powierzchnia poletek doświadczalnych wynosiła 25 m². Zastosowano dawkę połową pestycydów (1x) zalecaną przez Instytut Ochrony Roślin (Pruszyński 1997) oraz dawkę dziesięciokrotnie wyższą (10x). Wariantem kontrolnym była gleba, w której nie stosowano pestycydów. Terminy stosowania pestycydów przedstawiono w tabeli nr 2. Glebę utrzymywano w ugorze, stosując w miarę potrzeby zabiegi mechaniczne

Tabela 2. Terminy przeprowadzania zabiegów chemicznych

Pestycydy	Terminy nanoszenia preparatów	
	System Ekstensywny (E)	System Intensywny (I)
Dithane M 45		23.IV
Linuron 50 WP	4.V	4.V
Fusilade Super		15.V
Decis 2,5 EC	25.VI	25.VI
Ridomil MZ 72 WP	1.VII	1.VII
Brawo 500 SC		7.VII
Miedzian 50 WP		20.VII
Reglone 200 SL		15.IX

Zbiornicze próby glebowe o masie 0,5 kg pobierano z warstwy powierzchniowej gleby (0-10 cm) każdego obiektu doświadczalnego. Bezpośrednio po przewiezieniu ich do laboratorium

wykonywano analizy, które były analogiczne jak w doświadczeniu modelowym nr 2. Wyjątkowo nie określano liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter* w związku z brakiem ich w badanej glebie.

Interpretację statystyczną otrzymanych wyników wykonano stosując analizę wariancji poprzedzoną częściowo transformacją danych. Istotność poziomów zastosowanych czynników testowano testem Duncana. Analizę wariancji w doświadczeniu polowym wyliczono stosując łączenie efektów z błędem, uwzględniając zmienność blokową. Zależności pomiędzy zmiennymi określono przy pomocy współczynnika korelacji liniowej Pearsona. Model matematyczny uzyskano przez aproksymację danych doświadczalnych metodą quasi-Newtona. Wyniki przedstawiono na różnorodnych wykresach korzystając z kilku modułów programu *STATISTICA*.

4 WYNIKI

Przeprowadzona analiza wariancji uzyskanych wyników wskazuje na wysoko istotny wpływ wszystkich czynników doświadczalnych: temperatury, wilgotności, dawki i terminu wykonania analizy na ilość azotanów powstałą w procesie nityfikacji (Tabela 3). Jak wynika z uzyskanych wyników (Rys. 1) podczas inkubacji w glebie kontrolnej bez dodatku herbicydu, zawartość azotanów zwiększa się w ciągu pierwszych 40 dni, przy czym największe wartości obserwuje się w glebie o wilgotności 40% maksymalnej pojemności wodnej oraz w temperaturze 25⁰C. W miarę oddalania się zarówno temperatury jak i wilgotności gleby od warunków optymalnych, wzrost ilości azotanów jest coraz mniejszy, osiągając najmniejsze wartości w warunkach skrajnych, zwłaszcza w najwyższej zastosowanej temperaturze (35⁰C) i wilgotności (80% maksymalnej pojemności wodnej). Stwierdzone prawidłowości potwierdzają ogólną tendencję do zmian aktywności mikroflory glebowej w różnych warunkach temperatury i wilgotności, stwierdzoną w odniesieniu do zawartości biomasy żywych mikroorganizmów w glebie [14]. Także inne czynniki, jak ilość dostępnych substancji odżywczych i pH powodują analogiczne zmiany intensywności wzrostu hodowli grzyba glebowego *Trichoderma viride* w hodowlach *in vitro* [16].

Wspomniane obniżenie intensywności nityfikacji, wyrażające się przyrostem ilości azotanów w glebie nasilają się w sposób regularny, proporcjonalnie do zmian temperatury i wilgotności. Po przeprowadzeniu aproksymacji możliwe było dopasowanie danych doświadczalnych określających ilość azotanów w glebie jako funkcji temperatury, wilgotności oraz czasu (ilości dni inkubacji). Zależność tą przedstawia poniższe równanie, ($R = 0,9477$, wyjaśniające 89,8% wariancji):

$$\text{Ilość mg NO}_3 = a + b \cdot \text{temperatura} + c \cdot \text{wilgotność} + d \cdot \text{dzień} + e \cdot \text{temperatura} \cdot \text{wilgotność} + f \cdot \text{wilgotność} \cdot \text{dzień} + g \cdot \text{temperatura} \cdot \text{dzień} + h \cdot \text{temperatura} \cdot \text{wilgotność} \cdot \text{dzień} + i \cdot \text{temperatura}^2 + j \cdot \text{wilgotność}^2 + k \cdot \text{dzień}^2$$

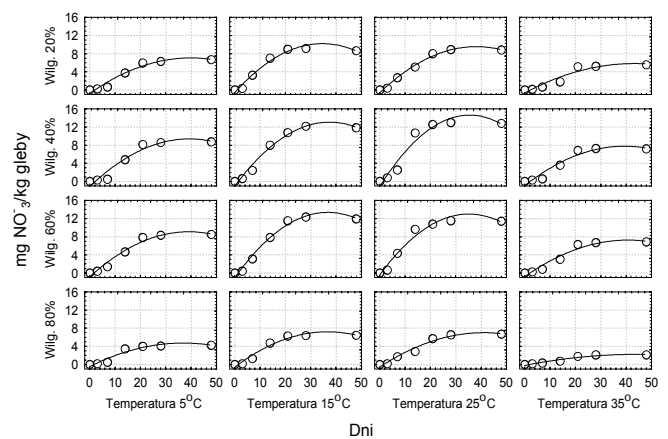
Przeprowadzone porównanie wyników oznaczeń azotanów w glebie w różnych warunkach temperatury i wilgotności oraz w różnym czasie (Rys. 2) z wynikami obliczonymi przy pomocy podanego wyżej równania świadczy o dużej zgodności modelu matematycznego z danymi doświadczalnymi. Tak więc podana funkcja może być użyta do prognozowania przebiegu tego procesu w badanej glebie dla dowolnych wartości parametrów.

Po wprowadzeniu do gleby Reglone intensywność nityfikacji ulega zmniejszeniu. Obniżenie to nasila się wraz ze wzrostem stężenia herbicydu, osiągając dla najwyższej z zastosowanych dawek wartości zaledwie kilku procent w porównaniu z kontrolą. Dodatkowo, podobnie jak to miało miejsce w przypadku przebiegu nityfikacji w glebie bez herbicydu, uwidacznia się wyraźny i cechujący się dużą regularnością wpływ temperatury i wilgotności.

Tabela 3. Analiza wariancji uzyskanych wyników.

Czynnik	Il. st. swobody	Śr. Σ kwadr.	Il. st. sw. błędu	Śr. Σ kw. błędu	Wartość F	Wartość p	Istotność
1	3	295,0	559	0,0202	14634,70	0,0000	**
2	3	262,8	559	0,0202	13035,50	0,0000	**
3	6	1088,7	559	0,0202	54000,70	0,0000	**
4	4	644,3	559	0,0202	31956,71	0,0000	**
12	9	5,7	559	0,0202	283,50	0,0000	**
13	18	24,7	559	0,0202	1227,48	0,0000	**
23	18	30,3	559	0,0202	1503,20	0,0000	**
14	12	22,4	559	0,0202	1113,25	0,0000	**
24	12	15,7	559	0,0202	779,23	0,0000	**
34	24	67,8	559	0,0202	3363,43	0,0000	**
123	54	1,4	559	0,0202	70,57	0,0000	**
124	36	1,1	559	0,0202	52,26	0,0000	**
134	72	2,0	559	0,0202	101,31	0,0000	**
234	72	1,9	559	0,0202	95,85	0,0000	**
1234							

Czynniki: 1 - temperatura, 2 - wilgotność, 3 - terminy, 4 - dawka = działanie czynnika nieistotne, * = działanie czynnika istotne, ** = działanie czynnika wysoko istotne



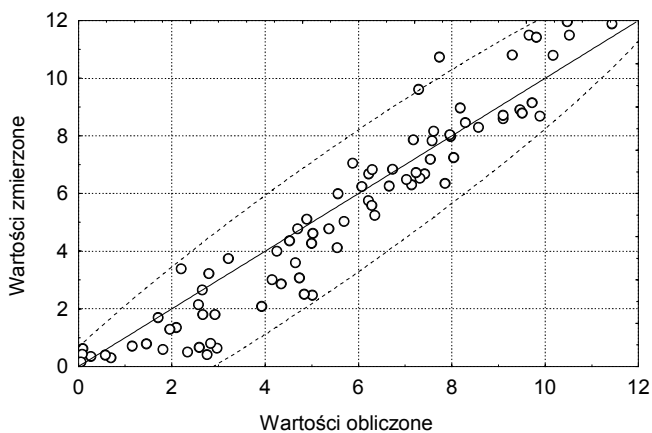
Rys. 1. Przebieg nityfikacji w glebie po dodaniu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ w różnych warunkach temperatury i wilgotności (wg Nowak, Przybulewska 2000)

Ilość azotanów w glebie zadanej Reglone wyrażona w procentach w stosunku do gleby kontrolnej zmniejsza się tym bardziej, im więcej temperatura i wilgotność odbiega od wartości optymalnych. Podobne zjawisko zostało stwierdzone również w odniesieniu do wpływu Afalonu i Gramoxone na ilość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie w różnych warunkach temperatury i wilgotności [17] a także zmian wpływu tych herbicydów w pożywkach o różnym stężeniu i pH w czystych kulturach *Verticillium* sp. [19]. Patoran wpływa także z niejednakową intensywnością na aktywność amylolityczną promieniowców glebowych hodowanych w różnych temperaturach [18].

Współczynniki dopasowanego równania przedstawia Tabela 4.

Tabela 4. Współczynniki równania zależności ilości azotanów powstałych w procesie nityfikacji od temperatury i wilgotności gleby.

Rodzaj współczynnika	Wartość współczynnika
a	-11,0876
b	0,561289
c	0,304897
d	0,625661
e	-0,000096
f	-0,000627
g	-0,000321
h	-0,000013
i	-0,014234
j	-0,003116
k	-0,007844
R	0,94772
Procent wariacji wyjaśnionej	89,816



Rys. 2. Dopasowanie wyników pomiarów przyrostu ilości azotanów w glebie w procesie nityfikacji w glebie o różnej temperaturze i wilgotności i wyników obliczonych przy użyciu modelu (wg Nowak, Przybulewska 2000).

Wspomniana wyżej prawidłowość zmian wielkości hamowania przebiegu nityfikacji w glebie zadanej Reglone związanych z temperaturą i wilgotnością może być ujęta równaniem matematycznym. Po przeprowadzeniu prób aproksymacji funkcji okazało się, że najlepiej opisuje zależność procentowej ilości azotanów w glebie w stosunku do kontroli od temperatury, wilgotności i dawki herbicydu w poszczególnych dniach inkubacji gleby poniższe równanie:

$$\text{Procent mg NO}_3 \text{ w stosunku do kontroli} = a + b \cdot \text{temperatura} + c \cdot \text{wilgotność} + d \cdot \text{dzień} + e \cdot \text{dawka} + f \cdot \text{temperatura}^2 + g \cdot \text{wilgotność}^2 + h \cdot \text{dzień}^2 + i \cdot \text{dawka}^2$$

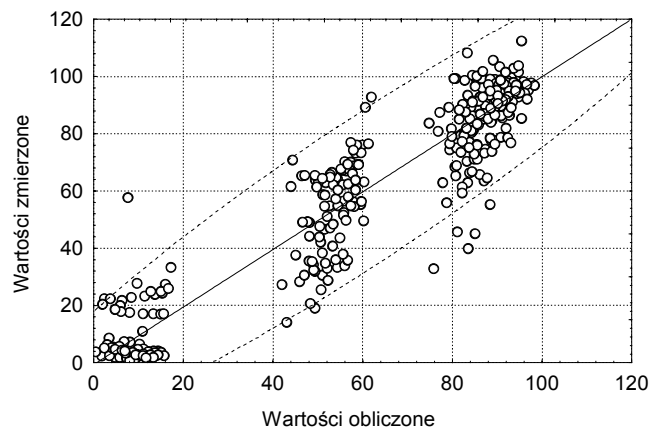
Współczynnik R wynosi 0,9398 a ilość wariacji wyjaśnionej 88,32%, natomiast współ-

czynnik równania podaje tabela 5. Porównanie wyników analiz uzyskanych w doświadczeniu z wynikami obliczonymi na podstawie dopasowanej funkcji wykazuje dużą zgodność wyników, co przedstawia Rys. 3.

Na podstawie obydwu przedstawionych wyżej funkcji możliwe stało się skonstruowanie modelu pozwalającego określić ilość azotanów w glebie powstałą w procesie nityfikacji w każdych warunkach temperatury i wilgotności oraz po dowolnym czasie trwania inkubacji tej gleby [20].

Tabela 5. Współczynniki równania zależności zmniejszenia ilości azotanów powstałych w procesie nityfikacji w różnych warunkach temperatury i wilgotności gleby po zadaniu jej Reglone

Rodzaj współczynnika	Wartość współczynnika
a	82,67264
b	-0,180481
c	0,287939
d	0,584477
e	-0,399395
f	0,001215
g	-0,003718
h	-0,007262
i	0,000318
k	-0,007844
R	0,93977
Procent wariacji Wyjaśnionej	88,316



Rys. 3. Dopasowanie wyników pomiarów procentowego obniżenia ilości azotanów w glebie o różnej temperaturze i wilgotności zadanej Reglone w stosunku do gleby kontrolnej i wyników uzyskanych przy użyciu modelu (wg Nowak, Przybulewska 2000)

Dla ułatwienia obliczeń model został utworzony przy użyciu arkusza kalkulacyjnego. W pierwszej fazie, na podstawie wartości temperatury i wilgotności przeprowadzane jest przy pomocy pierwszego z przedstawionych równań obliczenie ilości azotanów, jaka w tych warunkach wytwarzana jest w glebie przez bakterie

nitryfikacyjne. Następną fazę stanowi obliczenie przy pomocy drugiego równania, jaką wartość w procentach osiąga zawartość azotanów w takich warunkach w porównaniu do kontroli w glebie zadanej określoną dawką Reglone. Wreszcie w końcowej fazie obliczana jest rzeczywista ilość azotanów w glebie na podstawie uzyskanych wcześniej wartości dla gleby kontrolnej oraz określonej w drugiej fazie procentowej wartości obniżenia w glebie zadanej herbicydem.

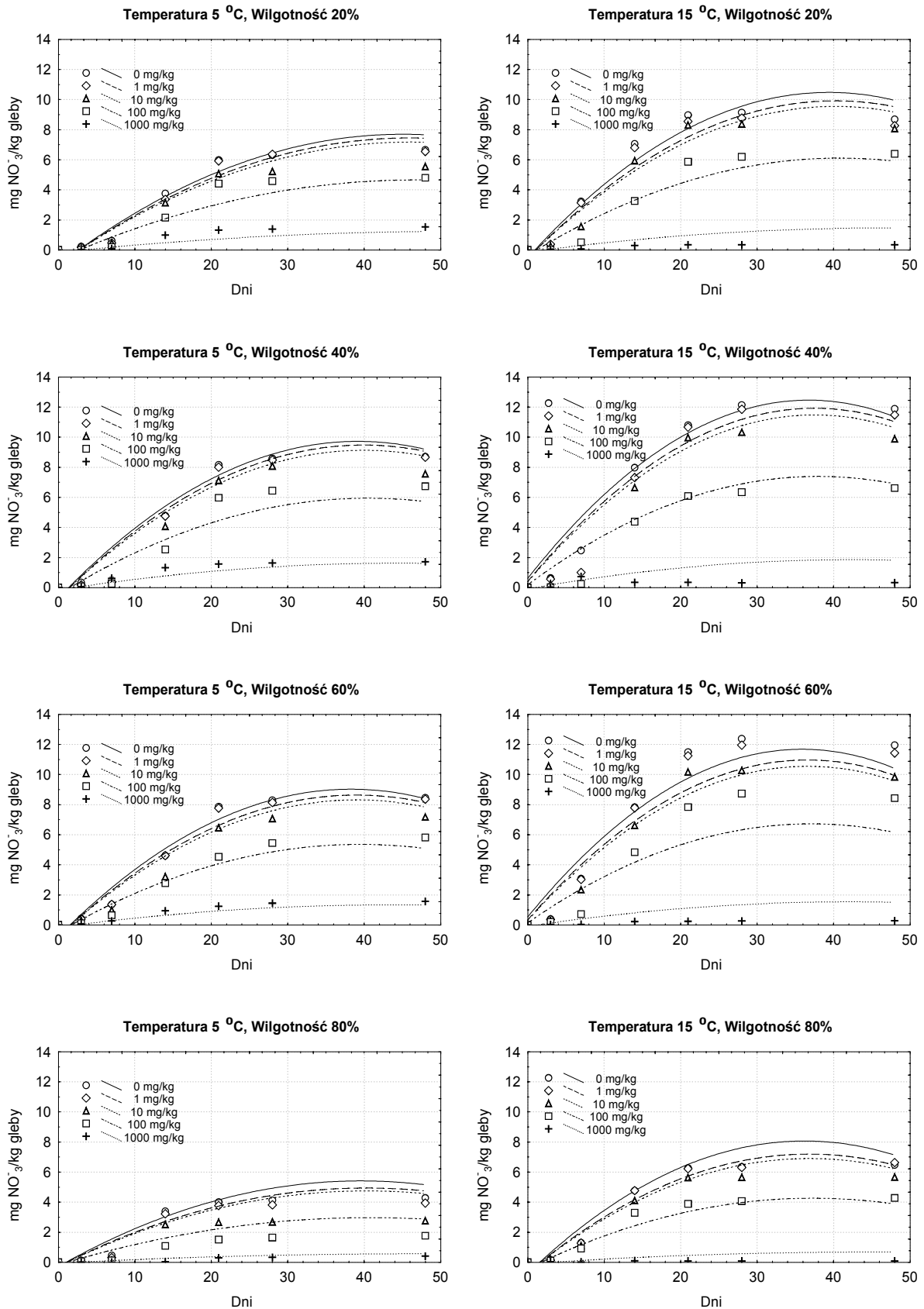
Porównanie danych doświadczalnych dotyczących ilości powstających w glebie w procesie nitryfikacji azotanów z wynikami obliczeń wskazuje na wysoką zgodność (Rys. 4, Rys. 5). Współczynniki korelacji pomiędzy tymi danymi zarówno dla kolejnych faz obliczeń jak i dla całego modelu są wysokie i mieszczą się w granicach 0,93 – 0,95 (tabela 6) a wykres przedstawiający dopasowanie danych obliczonych do doświadczalnych potwierdza, że mieszczą się one w granicach przedziału ufności (Rys. 6).

Przeprowadzone badania pozwoliły stwierdzić istnienie zależności pomiędzy temperaturą i wilgotnością gleby a intensywnością przebiegającej w niej nitryfikacji. Intensywność tego procesu zmniejsza się w miarę odchylenia się wartości tych parametrów od optimum, a zmiany te możliwe są do opisanie równaniem matematycznym.

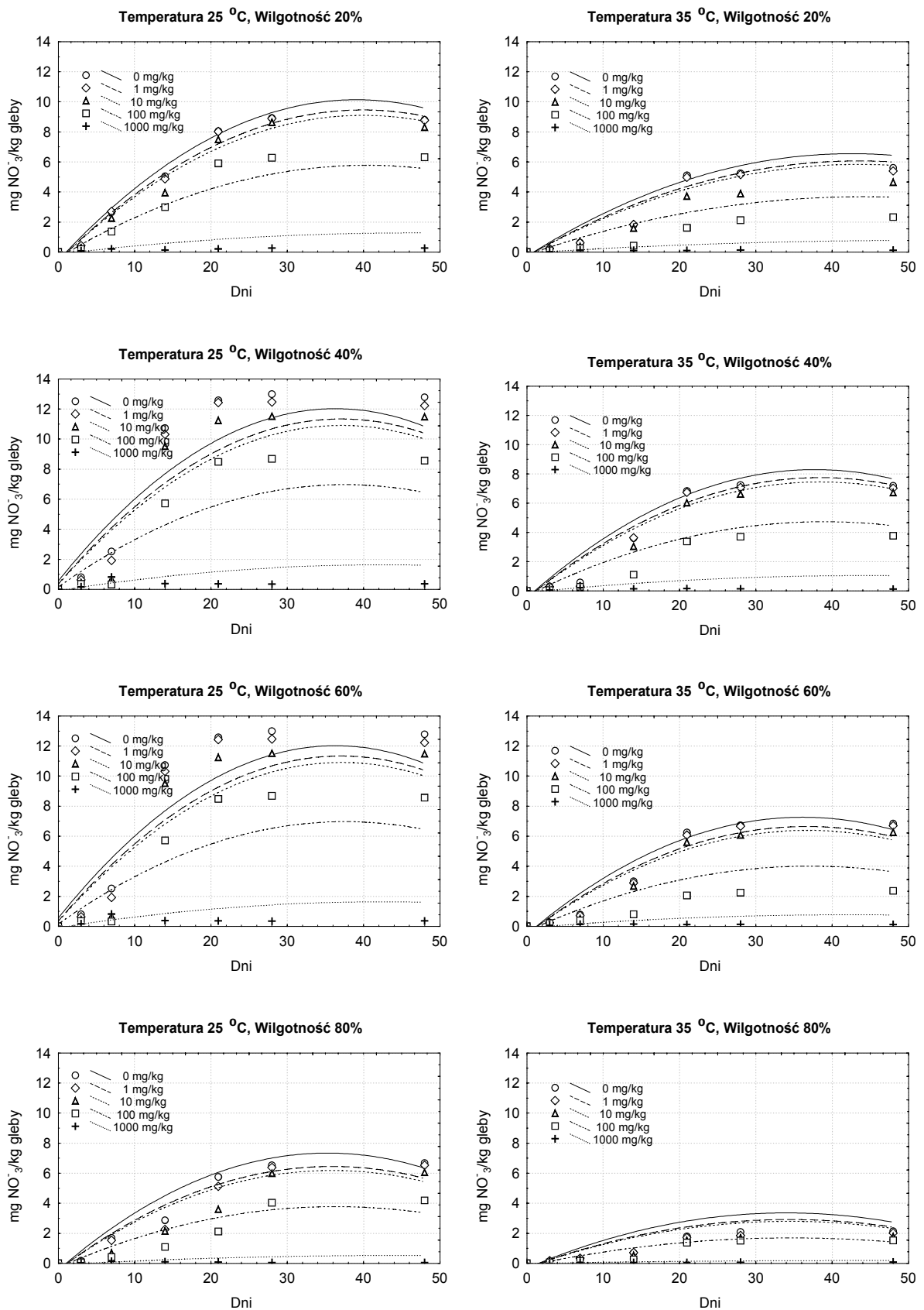
Podobnym prawidłowościom podlegają zmiany w działaniu Reglone na nitryfikację. Wpływ herbicydu hamujący ten proces nasila się wyraźnie dla skrajnych wartości temperatury i wilgotności. Skonstruowany na podstawie uzyskanych wyników model matematyczny cechuje wysoka zgodność pomiędzy danymi doświadczalnymi i uzyskanymi z obliczeń. Może on posłużyć do oceny intensywności nitryfikacji w dowolnych warunkach temperatury i wilgotności i po zadaniu jej dowolną dawką Reglone oraz do prognozowania wpływu herbicydu na ilość azotanów wytwarzanych przez nitryfikatory.

Podczas inkubacji gleby z dodatkiem pestycydów w różnych warunkach temperatury i wilgotności zawartość azotanów ulegała zmianie w porównaniu do ilości azotanów w glebie kontrolnej, przy czym w glebie zadanej zestawem pestycydów określonym jako system intensywny jest o 20% mniej azotanów niż w kombinacji z mniejszą liczbą pestycydów.

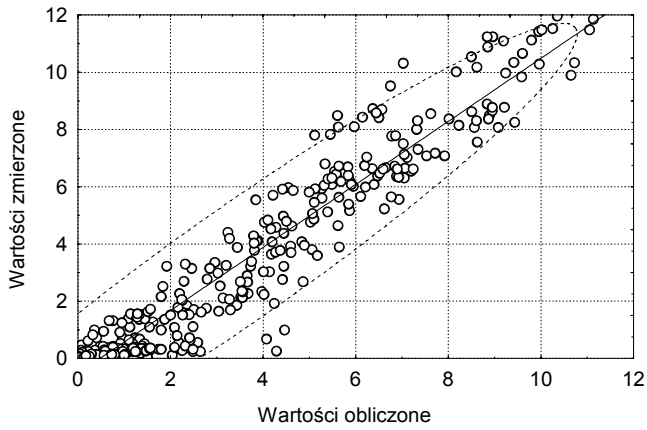
Wpływ badanych kombinacji na liczebność nitryfikatorów zaznacza się silniej, niż na samo utlenianie azotu. Użyte w zastosowanych systemach pestycydy miały większy wpływ na bakterie nitryfikacyjne z grupy „nitro”, niż na bakterie z drugiej fazy nitryfikacji.



Rys. 4. Wyniki pomiarów przyrostu ilości azotanów w glebie w procesie nityfikacji w glebie o temperaturze 5°C i 15°C i różnej wilgotności zadanej Reglone (punkty) oraz obliczeń przy użyciu modelu (linie) (wg Nowak, Przybylowska 2000).



Rys. 5. Wyniki pomiarów przyrostu ilości azotanów w glebie w procesie nityfikacji w glebie o temperaturze 25°C i 35°C i różnej wilgotności zadanej Reglone (punkty) oraz obliczeń przy użyciu modelu (linie), (wg Nowak, Przybulewska 2000).



Rys. 6. Dopasowanie wyników pomiarów przyrostu ilości azotanów w glebie w procesie nityfikacji w glebie o różnej temperaturze i wilgotności zadanej Reglone z wynikami obliczonymi przy użyciu modelu, (wg Nowak, Przybulewska 2000)

Tabela 6. Współczynniki korelacji pomiędzy wynikami pomiarów intensywności przebiegu nityfikacji w glebie zadanej Reglone a wynikami uzyskanymi w wyniku modelowania matematycznego tego procesu

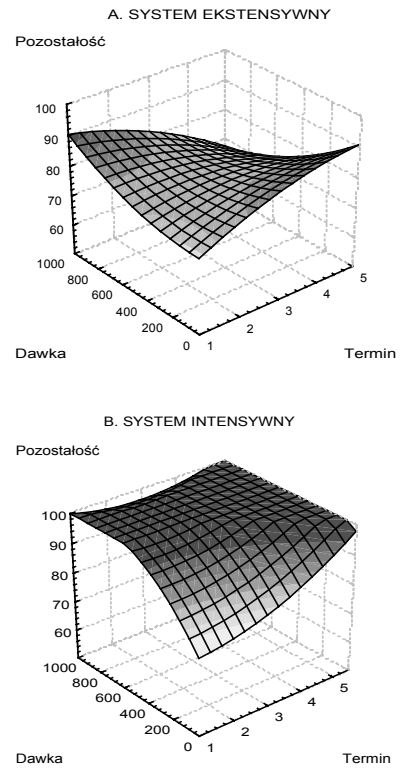
Współczynnik	Faza modelowania		
	gleba kontrolna	obniżenie procentowe	model ogólnie
Współczynnik korelacji	0,9477	0,9398	0,9517
Istotność	0,00**	0,00**	0,00**

Kolejnym badaniem w niniejszej pracy mikroorganizmem, biorącym udział w przemianach azotu jest *Azotobacter*. Najsilniejszy wpływ użytych kombinacji pestycydów stwierdzono w glebie zadanej ich większą ilością (system intensywny), w dawkach najwyższych (100 i 1000 mg/kg). Wprowadzone do gleby zestawy pestycydów równie silnie wpływały na mikroflorę proteolityczną.

Użyte pestycydy nie były obojętne dla mikroorganizmów glebowych. Substancje czynne zawarte w tych preparatach wywierały różny wpływ na drobnoustroje - od silnego hamowania - do działania stymulującego.

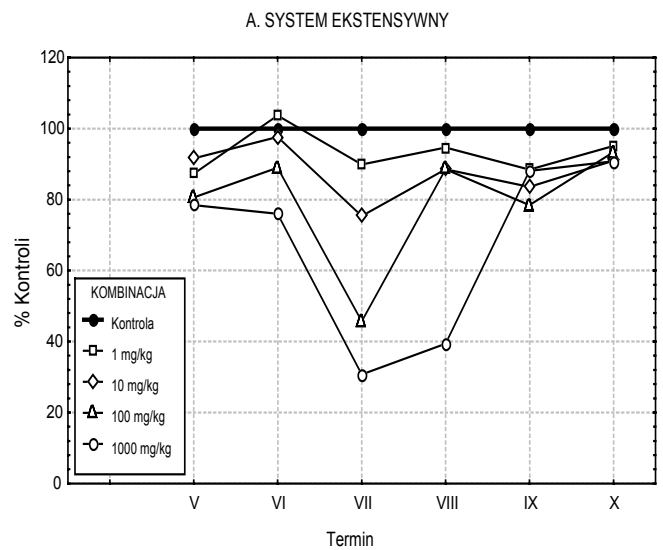
Uzyskane wyniki wskazują na ilościowe przesunięcia badanych grup mikroorganizmów. Takie przesunięcia mikroorganizmów opisuje wskaźnik SR według Myśkova [13], wyrażający stosunek sumy liczebności bakterii i promienioców do liczebności grzybów.

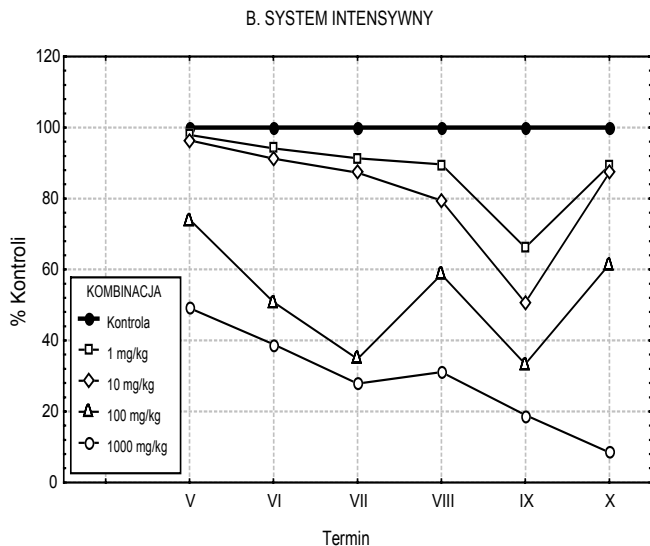
Reakcje drobnoustrojów rozkładających błonnik na obecność pestycydów w glebie były różne (Rys. 7)



Rys. 7. Wpływ różnych systemów chemicznej ochrony roślin stosowanych w uprawie ziemniaka (doświadczenie modelowe) na pozostałość celulozy w glebie wyrażoną w procentach.

Jednym z najczęściej stosowanych wskaźników aktywności gleby a zarazem najbardziej odzwierciedlającym wpływ pestycydów na środowisko jest zawartość w glebie biomasy żywych mikroorganizmów, od ilości której istotnie zależy jej żyzność. Zastosowane w pracy kombinacje pestycydów istotnie wpływały na wielkość biomasy żywych mikroorganizmów w glebie (Rys. 8)





Rys. 8. Wpływ różnych systemów chemicznej ochrony roślin stosowanych w uprawie ziemniaka (doświadczenie modelowe) na biomasa żywych mikroorganizmów wyrażoną jako procent kontroli.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Agnihotri V.P., Peristance of captan and its effects on micrflora, respiration, and nityfikation of a forest nursery soil. *Canadian Journal of microbiology*, vol., 17, 1971, 377-383.
- 2) Anderson J.P.E., Domsch K. H., 1978. A Physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 10, s. 215 – 221
- 3) Barabasz W., Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. *Post. Mikrobiol.*, XXXI,1, 1992, s. 3-33.
- 4) Beck T., Über die Eigung von Modellversuchen bei der Messung der biologischen Aktivität von Böden. *Landw. Jahrbuch Buch*, 3, 1974, 271-289.
- 5) Bunta J. S., Rowira A. D., 1955. Microbiological studies of some subantaretic soil. *J. Soil Sci.* 6 (1), s. 119 – 128.
- 6) Fenglerowa W., 1970. Simple Method for Counting Azotobacter in Soil Samples – *Acta Microbiol. Pol.*, 14, 2, s. 203-206.
- 7) Furczak J. Kościelecka., Ocena ubocznego oddziaływania fungicydu tetrakonazolu na grzyby saprofityczne oraz aktywność biochemiczną gleby piaszczystej i gliniastej. *Roczniki Gleboznawcze*, t. XLVIII ½, W-wa 1997, s. 49-58.
- 8) Kędzia W., Konar H., 1974. Diagnostyka mikrobiologiczna. PZWL, Warszawa
- 9) Kołodyński J., Mikroorganizmy w biomonitoringu skażeń chemicznych. *Aura*, 3, 1996, s 6-7.
- 10) Kuźniar K., 1956. Energia Rozkładu błonnika w glebach leśnych. *Ekol. Pol.*, 4, 2, s. 21-26.
- 11) Malkomes H.P., Die Nityfikation als ökotoxikologoscher Indikator für Agrochemikalien im Boden bei varierten Testbedingungen. *Zentralbl. Mikrobiol.* 147 1992, 250-260.
- 12) Martin J.P., 1950. Use of Acid, Rose Bengales and Streptomycin in the plate Method for Estimting Soil Fungi. *Soil Sci.* 69, s. 215-233.
- 13) Myśków W., 1981. Próby wykorzystania wskaźników aktywności mikrobiologicznej do oceny żywności gleby. *Post. Mikrobiol.*, XX, 3/4.
- 14) Nowak A., Ein mathematisches Modell zum Einfluss von Monolinuron auf die mikrobielle Biomasse des Bodens. *Z. PflKrankh. PflSchutz*, 1984, Sh. X, s. 203-210.
- 15) Nowak A., Wpływ intensywnego systemu zabiegów chemicznych, stosowanych w uprawie pszenicy ozimej, na niektóre właściwości biochemiczne gleby. *Rozprawy*, 86, AR Szczecin 1982.
- 16) Nowak A., Wpływ stężenia pożywki oraz pH na działanie wywierane przez Afalon na wzrost *Trichoderma sp.* w hodowlach in vitro. *Phytopathologia Polonica XI*, Mat. z symp. "Niepatogeniczna mikroflora w patologii roślin", Szczecin 12-14 września 1990, PTFit, Poznań 1990 s. 25-38.
- 17) Nowak A., K. Hurle, Abhängigkeit der Wirkung des Herbizids Afalon auf *Verticillium sp.* von Konzentration und pH des Nahrmediums. *Z. PflKrankh. PflSchutz*, Sh. XII. s. 367-371.
- 18) Nowak A., W. Michalcewicz, Susceptibility of Growth and Amyolytic Activity of Some Soil Actinomycetes on Patoran in Different Temperature Conditions. *Zbl. Mikrobiol.*, 143, 1988, s. 457-464
- 19) Nowak A., W. Michalcewicz, Untersuchungen zur Wirkung von Afalon und Gramoxone auf die mikrobielle Biomasse im Boden in Abhängigkeit von Temperatur und Feuchtigkeit. *Z. PflKrankh. PflSchutz, Sonderh.* XIII, 1992, s. 387-395.]
- 20) Nowak A., Przybulewska K., Wpływ herbicydu Reglone na nityfikację w glebie oraz próba matematycznego modelowania tego procesu. *Chemia I Inżynieria 2000*, (w druku)
- 21) Parylak D., Możliwości ograniczenia zużycia pestycydów w rolnictwie. *Aura*, 1 1997, s. 13-15.
- 22) PIOŚ., Stan gleb użytkowanych rolniczo w Polsce w latach 1980-1990. *Biblioteka Monitoringu Środowiska*, W-wa 1993, s. 35-39.
- 23) Perucci P., Scarponi L., Effects of the herbicide imazethapyr on soil microbial biomass and various soil enzyme activities. *Biol. Fertl. Soils*, 17, 1994, 237-240.
- 24) Popławski Z., Filipiak K., Kształtowanie się zawartości azotu związków nieorganicznych gleby na tle zmiennych opadów atmosferycznych i temperatur. *Roczniki Gleboznawcze t. XXXII*, 1, W-wa 1981, s.33-53.
- 25) Pochon J., Tardieux P., 1962. *Technique d'analyse en microbiologie*. Editions de la Tourelle 5.
- 26) Pruszyński S., 1995. Zalecenia ochrony roślin na lata 1995/96. *Zakł. Upowsz. Post. i Dosk. Zaw. IOR Poznań*.
- 27) Sobieszynski J., Rodziewicz A., Stempniewicz R., Microbiological transformation of herbicides in catabolic process. *Roczniki Gleboznawcze*, t. XXXII, 3, W-wa 1981, s. 93-113.
- 28) Strzelec A., Wpływ herbicydów na przemiany biochemiczne zachodzące w glebach. *Roczniki Gleboznawcze t. XXXV*, 2 W-wa 1984, s. 108-121.
- 29) Strzelec A., Kobus J., Czaban J., The influence of s-triazine and urea herbicides on the development of soil microorganisms in various types of soil. *Roczniki Gleboznawcze*, t. XXXVI, 4, W-wa 1995, s. 75-87.
- 30) Strzelec A., Wpływ właściwości gleb na reakcje ich mikroflory na herbicydy. *Roczniki Gleboznawcze t. XXXVII*, 1, W-wa 1986, s. 129-138.
- 31) Węgorok W., Badanie wpływu pestycydów na środowisko rolnicze. *Postępy Nauk Rolniczych*, 2, 1994, s. 59-63.