

Krystyna GOSTKOWSKA, Teresa KORNIŁŁOWICZ,
Alicja SZWED, Jolanta KUSYK

**Obserwacje nad wpływem herbicydów na zespoły mikroflory bakteryjnej
w ryzosferze pszenicy przy zróżnicowanym poziomie nawożenia***

Наблюдение влияния гербицидов на систему бактериальной микрофлоры
в ризосфере пшеницы с разным уровнем удобрения

Observations on the Effect of Herbicides on the Complexes of Bacterial Microflora
in Wheat Rhizosphere at a Differentiated Level of Fertilizing

Powszechnie przyjmuje się, że głównym czynnikiem decydującym o rozwoju specyficznej mikroflory w ryzosferze roślin są wydzieliny korzeniowe (8, 10, 12). Wiadomo również, że herbicydy z grupy regulatorów wzrostu ulegają przemieszczeniu w roślinie i wywołują zmiany w jej metabolizmie (1, 4). Takie zmiany mogą wpłynąć modyfikująco na skład ilościowy i jakościowy wydzielin korzeniowych. Istnieją informacje świadczące o zwiększeniu liczebności bakterii ryzosferycznych wskutek zastosowania herbicydów, między innymi również fenoksyoctowych (1, 6, 14). Według Westlake (cyt. za 1) stymulacja niektórych grup mikroorganizmów w ryzosferze może być spowodowana zmianami w składzie wydzielin korzeniowych roślin opryskiwanych pochodnymi 2,4-D.

Dotychczas niewiele uwagi poświęcono mikroflorze ryzosferycznej roślin traktowanych herbicydami w zależności od poziomu nawożenia mineralnego. Stąd też interesujące wydawało się określenie wpływu oprysku chwastoksem (substancja czynna MCPA) na zespoły bakterii w strefie przykorzeniowej pszenicy przy zróżnicowanej dawce NPK.

* Praca w części finansowana przez Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach (Problem nr 103).

MATERIAŁ I METODY

Do obserwacji wykorzystano model doświadczenia polowego z uprawą pszenicy ozimej w monokulturze i zmianowaniu. Doświadczenie to założone było na glebie pseudobielicowej wytworzonej z lessu. Analizy mikrobiologiczne wykonywano pobierając średnie próbki korzeni z poletek reprezentujących następujące kombinacje uprawowe:

1. Monokultura: a) uprawa z przeciętnym nawożeniem mineralnym NPK przy zastosowaniu chwastoksu i bez chemicznego odchwaszczania (Aa; Ab); b) uprawa z podwójną dawką NPK opryskiwana chwastoksem i nie potraktowana herbicydem (Ba; Bb).

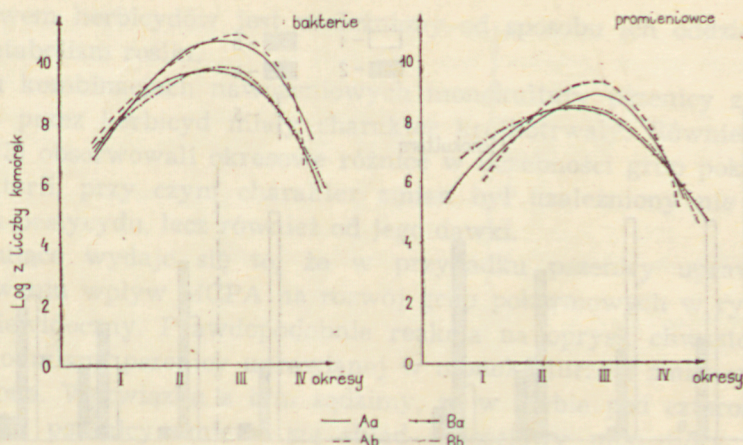
2. Zmianowanie z 50% udziałem zbóż i przeciętną dawką NPK z opryskiem i bez stosowania chwastoksu (Za; Zb).

Opryskiwanie chwastoksem stosowano w późnym okresie krzewienia roślin. Analizy wykonywano w okresie krzewienia, strzelania w źdźbło i dojrzałości młecznej pszenicy.

W ryzosferze pochodzącej z różnych wariantów uprawowych określano liczebność bakterii i promieniowców, na nieselektywnej pożywce z wyciągiem glebowym i dodatkiem 0,1% ekstraktu drożdżowego, oraz grupy pokarmowe bakterii metodą *Lochheada* (11). Ponadto określano wpływ dawki MCPA, zbliżonej do polowej, na wzrost bakterii ryzosferycznych w pożywce mineralnej wg *Lochheada* (11). Poza analizami mikrobiologicznymi oznaczano zawartość wolnych aminokwasów w korzeniach pszenicy w okresie krzewienia, strzelania w źdźbło i kłoszenia. W tym celu 3 g świeżych dokładnie przemytych korzeni pszenicy rozdrobniono przez rozcieranie z piaskiem. Następnie przeprowadzono ekstrakcję na zimno za pomocą etanolu, wstrząsając próbki przez 2 godziny. Wyciąg etanolowy odwirowywano i zadržano chloroformem. Po rozdzieleniu, frakcję chloroformową odparowywano do sucha, a następnie rozpuszczano w 0,5 ml 10% izo-propanolu w 0,1 n HCl. Azot aminokwasowy oznaczano kolorymetrycznie stosując 1% alkoholowy roztwór ninhydryny. Ilość aminokwasów w ekstraktach odczytywano ze skali standardów sporządzonych dla kwasu asparaginowego i przeliczano na 1 g suchej masy korzeni.

WYNIKI I DYSKUSJA

W licznych badaniach wykazano, że herbicydy, a wśród nich fenoksyoctowe stosowane w dawkach zalecanych dla praktyki rolniczej, nie oddziałują na liczebność mikroorganizmów glebowych (cyt. za 2). Analizy mikrobiologiczne przeprowadzone w niniejszej pracy (z użyciem płytkowej metody wskaźnikowej) również nie ujawniły wpływu oprysku MCPA na tzw. ogólną liczebność bakterii i promieniowców w ryzosferze pszenicy (ryc. 1). Niektórzy autorzy (6, 7, 14) donosili jednak o zmianach w liczebności bakterii ryzosferycznych wskutek zastosowania herbicydów, ale dotyczyło to dawek przekraczających normy polowe. Z dalszych obserwacji wynika, że herbicyd fenoksyoctowy stosowany w naszym doświadczeniu oddziałował wyraźnie na rozwój niektórych grup pokarmowych (ryc. 2). W ryzosferze pszenicy nawożonej przeciętną dawką



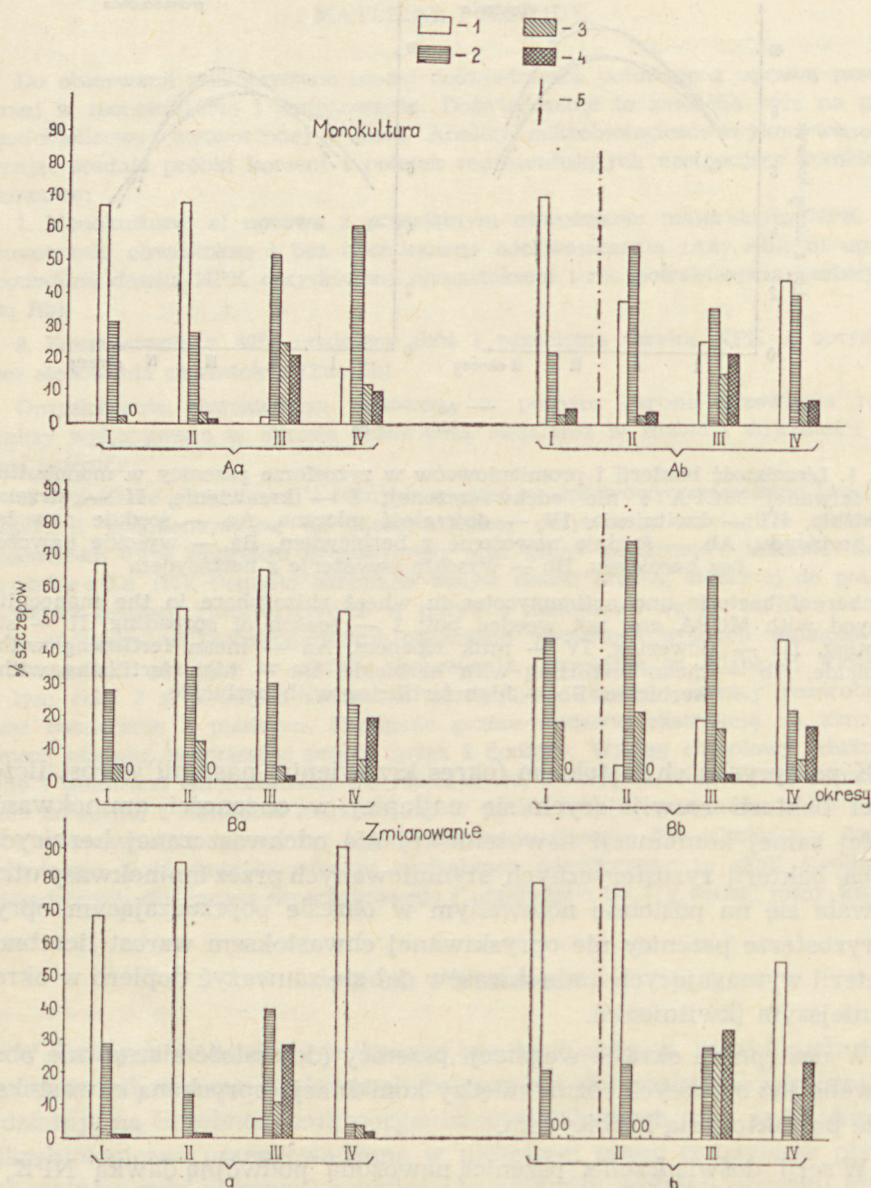
Ryc. 1. Liczebność bakterii i promieniowców w ryzosferze pszenicy w monokulturze opryskiwanej MCPA i nie odchwaszczanej; I — krzewienie, II — strzelanie w źdźbło, III — kwitnienie, IV — dojrzałość mleczna, Aa — średnie nawożenie bez herbicydu, Ab — średnie nawożenie z herbicydem, Ba — wysokie nawożenie bez herbicydu, Bb — wysokie nawożenie z herbicydem

Number of bacteria and actinomycetes in wheat rhizosphere in the monoculture sprayed with MCPA and not weeded out; I — season of spreading, II — stalk shooting, III — flowering, IV — milk ripeness, Aa — mean fertilizing without herbicide, Ab — mean fertilizing with herbicide, Ba — high fertilizing without herbicide, Bb — high fertilizing with herbicide

NPK po oprysku chwastoksem (okres krzewienia) nastąpił wzrost liczebności bakterii rozwijających się najlepiej w obecności aminokwasów. W tej samej kombinacji nawożeniowej nie odchwaszczanej herbicydem liczba bakterii ryzosferycznych stymulowanych przez aminokwasy utrzymywała się na poziomie notowanym w okresie poprzedzającym oprysk. W ryzosferze pszenicy nie opryskiwanej chwastoksem wzrost liczebności bakterii wymagających aminokwasów dał się zauważyć dopiero w okresie późniejszym (kwitnienie).

W następnym okresie wegetacji pszenicy (dojrzałość ziarna) nie obserwowano już opisanych różnic między kombinacją opryskaną chwastoksem i nie potraktowaną herbicydem.

W serii doświadczeń z pszenicą nawożoną podwójną dawką NPK, podobnie jak w uprawie z niższym poziomem nawożenia, opryskiwanie MCPA zwiększało liczebność bakterii wymagających aminokwasów do optymalnego wzrostu. Odmienne wyniki uzyskał Kaszubiak (7), badając wpływ prometryny, liro-betarexu i aretиту. Autor ten stwierdził spadek liczebności bakterii wymagających aminokwasów w ryzosferze seradeli w obecności wspomnianych herbicydów. Najprawdopodobniej jednak kierunek zmian w rozwoju grup pokarmowych bakterii ryzosferycznych



Ryc. 2. Wpływ chwastoksu na występowanie niektórych grup pokarmowych bakterii w rykosferze pszenicy; I — krzewienie, II — strzelanie w źdźbło, III — kwitnienie, IV — dojrzałość mleczna, A — średnie nawożenie, B — wysokie nawożenie, a — uprawa bez herbicydu, b — uprawa z herbicydem, 1 — bakterie rozwijające się najlepiej w pożywce podstawowej, 2 — bakterie rozwijające się najlepiej w pożywce podstawowej zawierającej aminokwasy, 3 — bakterie rozwijające się najlepiej w pożywce podstawowej zawierającej witaminy z grupy B, 4 — bakterie rozwijające się najlepiej w pożywce podstawowej zawierającej wyciąg drożdżowy i glebowy, 5 — oprysk herbicydem, 0 — brak szczepów

pod wpływem herbicydów jest uzależniony od sposobu ich oddziaływania na metabolizm roślin.

W obu kombinacjach nawożeniowych monokultury pszenicy zmiany wywołane przez herbicyd miały charakter krótkotrwały. Również inni autorzy (13) obserwowali okresowe różnice w liczebności grup pokarmowych bakterii, przy czym charakter zmian był uzależniony nie tylko od rodzaju pestycydu, lecz również od jego dawki.

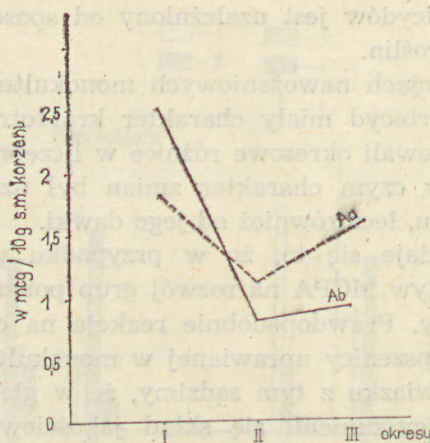
Interesujące wydaje się to, że w przypadku pszenicy uprawianej w zmianowaniu wpływ MCPA na rozwój grup pokarmowych w ryzosferze był niewidoczny. Prawdopodobnie reakcja na oprysk chwastoksem tej samej odmiany pszenicy uprawianej w monokulturze i zmianowaniu była podobna. W związku z tym sądzimy, że w glebie pod czteroletnią monokulturą pszenicy zmienił się skład jakościowy mikroflory. Tym można tłumaczyć, że zabieg odchwaszczania wywołał inny efekt mikrobiologiczny w ryzosferze monokultury niż w zasięgu korzeni rośliny uprawianej w zmianowaniu.

We wszystkich kombinacjach uprawowych nie zauważono zmian ilościowych w obrębie grup bakterii wykazujących zapotrzebowanie na wyciąg drożdżowy, wyciąg glebowy oraz witaminy (ryc. 2). Z obserwacji nad bezpośrednim wpływem MCPA (w dawce odpowiadającej polowej) na bakterie z ryzosfery pszenicy wynika, że jedynie szczepy pochodzące z kombinacji wysoko nawożonej były w znacznym procencie stymulowane przez ten preparat.

W literaturze istnieją informacje o oddziaływaniu herbicydów fenoksytłuszczowych na metabolizm węglowy i azotowy roślin (4). Donoszono również, że preparaty z grupy 2,4-D zmieniają stosunki ilościowe między poszczególnymi aminokwasami w roślinie (cyt. za 9).

Materiał własny dotyczący zawartości azotu aminokwasowego w korzeniach pszenicy opryskiwanej i nieopryskiwanej chwastoksem wskazuje na zmiany ilościowe pod wpływem polowych dawek tego preparatu (ryc. 3). W korzeniach pszenicy z uprawy odchwaszczonej zaznaczył się bardzo wyraźny spadek N-aminokwasowego. Korzenie pszenicy nie odchwaszczonej chemicznie również cechowało zmniejszenie się zawartości wolnych aminokwasów, jednakże w stopniu znacznie mniejszym. Nasilenie rozwoju bakterii stymulowanych przez aminokwasy w ryzosferze psze-

The effect of chwastox on some alimentary bacteria in wheat rhizosphere; I — season of spreading, II — stalk shooting, III — flowering, IV — wax ripeness, A — mean fertilizing, B — high fertilizing, a — cultivation without herbicide, b — cultivation with herbicide, 1 — bacteria which best develop in basic culture medium, 2 — bacteria which best develop in basic culture medium containing aminoacids, 3 — bacteria which best develop in basic culture medium containing vitamins from B group, 4 — bacteria which best develop in basic culture medium containing yeast and soil extract, 5 — spray with herbicide, O — lack of strains



Ryc. 3. Zawartość azotu aminokwasowego w korzeniach pszenicy opryskiwanej i nie opryskiwanej chwastoksem (przeciętna dawka NPK); I — krzewienie, II — strzelanie w źdźbło, III — kłoszenie, A — średnie nawożenie, a — uprawa bez herbicydu, b — uprawa z herbicydem

Content of aminoacid nitrogen in roots of wheat, sprayed and not-sprayed with chwastox (mean NPK dose); I — season of spreading, II — stalk shooting, III — earing, A — mean fertilizing, a — cultivation without herbicide, b — cultivation with herbicide

nicy (opryskiwanej chwastoksem) było skorelowane ze zmianami zawartości azotu aminokwasowego w korzeniach (ryc. 2, 3). Wskazywałyoby to na zmiany w składzie wydzielin korzeniowych badanej rośliny. Dla poparcia tego przypuszczenia potrzebne byłyby jednak szczegółowe informacje na temat zależności między składem aminokwasowym korzeni a charakterem wydzielin korzeniowych.

PIŚMIENNICTWO

1. Audus L. I.: The Physiology and Biochemistry of Herbicides. Academic Press, New York 1964.
2. Audus L. I.: The Action of Herbicides and Pesticides on the Microflora. Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Gent. 35, 1970.
3. Balicka N., Gołębiowska J.: Działanie herbicydów na drobnoustroje glebowe w świetle badań prowadzonych w Polsce. Post. Mikrobiol. 11, 1972.
4. Balicka N., Kaszubiak H.: Sposoby działania herbicydów na mikroorganizmy glebowe. Post. Mikrobiol. 6, 1967.
5. Hauke-Pacewiczowa T.: Badania nad wpływem herbicydów na biocenozę gleby w doświadczeniach polowych i laboratoryjnych prowadzonych bezpośrednio w glebie. Post. Mikrobiol. 6, 1967.
6. Hauke-Pancewiczowa T., Królowa N.: Wpływ stosowania herbicydów MCPA i Ioxynilu na mikroflorę gleby w ryzosferze owsa. Pam. Puł. 31, 1968.

7. Kaszubiak H.: Effect of Herbicides on Microorganism in the Rhizosphere of Serradella, in „The Action of Herbicides and Pesticides on the Microflora,” Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen Gent. 35, 1970.
8. Katznelson H.: Nature and Importance of the Rhizosphere, in „Ecology of Soil-Borne Plant Pathogens”. Eds. Baker K. F., Snyder W. C., Univ. California Press 1965.
9. Kriszczenko W. P., Kobacz I., Gruzdziew L. G.: Obmien białek i aminokisłót pszenicy pri primienieniju 2,4-D. Agrochimija 3, 1973.
10. Lochhead A. G.: The Soil Microflora, the Plant and the Root Pathogen. Trans. Royal Soc. Can. 3-rd Ser. L, II, V, 1958.
11. Lochhead A. G., Chase F. E.: Qualitative Studies of Soil Microorganisms: V Nutritional Requirement of the Predominant Bacterial Flora. Soil Sci. 55, 1943.
12. Strzelczyk E.: Osiągnięcia mikrobiologii w badaniach nad ryzosferą roślin uprawnych. Księga pamiątkowa TNT 1875-1975. Toruń 1975.
13. Strzelczyk E., Strzelczyk A.: Próba zastosowania metody ilościowo-jakościowej Lochheada do badań nad wpływem pestycydów na bakterie glebowe. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, sectio E, vol. XX, 20, Lublin 1965.
14. Vrány J., Vančura U., Mačura I.: The Effect Foliar Application of Some Readily Metabolized Substances Growth Regulators and Antibiotics on Rhizosphere Microflora. Fol. Microbiol. 61, 1962.

РЕЗЮМЕ

Под влиянием феноксиуксового гербицида (производное МСРА) замечено изменения в количественно-качественном составе бактерий ризосферной пшеницы. Применение вышепредставленных гербицидов в полевых условиях повлияло на значительное увеличение количества стимулированных аминокислотами бактерий. Интенсивное минеральное удобрение увеличивает этот эффект и количество стимулированных бактерий путем применения дозы гербицидов, распространенной в хозяйственной практике.

Проведенный анализ показал, что в корнях пшеницы из очищенного от сорняка поля, заметили периодически значительное понижение количества аминокислотного азота.

SUMMARY

Changes taking place in the quantitative-qualitative composition of rhizospheric wheat bacteria under the influence of phenoxyacetic herbicide (MCPA derivative) have been observed. The use of the above herbicide in field conditions markedly affected an increase in the number of bacteria stimulated by aminoacids. High mineral fertilizing intensified this effect and, at the same time, brought an increase in the number of bacteria stimulated by herbicide dose used in agriculture.

Moreover, the analysis showed that in the roots of wheat from the weeded out cultivation there was found a marked seasonal decrease in the quantity of aminoacid nitrogen.