

MAŁGORZATA BAĆMAGA, EDYTA BOROS, JAN KUCHARSKI, JADWIGA WYSZKOWSKA

Katedra Mikrobiologii
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

ODDZIAŁYWANIE HERBICYDU AKORD 180 OF NA AKTYWNOŚĆ BIOLOGICZNĄ GLEBY

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań dotyczące oceny oddziaływania herbicydu Akord 180 OF na liczebność drobnoustrojów, aktywność enzymów glebowych oraz plonowanie marchwi. Testowaną glebą użytą w doświadczeniu był piasek gliniasty o wartości pH_{KCl} 6,5. Herbicyd Akord 180 OF aplikowano do gleby w następujących dawkach: dawka zalecana przez producenta oraz dawki większe od zalecanej: 10-, 50-, 100-, 150- i 200-krotnie. Kontrolę stanowiła gleba bez dodatku środka chwastobójczego. Negatywne działanie testowanego środka próbowano zneutralizować poprzez wprowadzenie do gleby bentonitu w ilości $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. Wilgotność gleby utrzymywano na poziomie 60% kapilarnej pojemności wodnej przez 50 dni trwania doświadczenia. Uprawianą rośliną była marchew odmiany 'Kalina' (pięć roślin w wazonie). Wykazano, że herbicyd Akord 180 OF zaaplikowany do gleby w nadmiarze prowadził do zmian jej aktywności biologicznej. Odnotowano inhibicyjne działanie tego preparatu na liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter*, aktywność katalazy, ureazy i fosfatazy kwaśnej. Akord 180 OF hamował również wzrost i rozwój korzeni marchwi. Pozytywnie na zanieczyszczenie gleby testowanym herbicydem reagowały promieniowce, grzyby, bakterie oligotroficzne i bakterie kopiotroficzne, o czym świadczy zwiększenie liczebności ich populacji.

Słowa kluczowe: Akord 180 OF, herbicyd, liczebność drobnoustrojów, enzymy glebowe, plon marchwi

Wstęp

Rozwój chemizacji rolnictwa przyczynił się do powszechnego stosowania środków chwastobójczych, które stały się nieodzownym elementem w ochronie roślin. Charakteryzują się one dużą skutecznością wobec chwastów, jednocześnie nie powodując strat w plonowaniu roślin uprawnych (YU i IN. 2009, WYSZKOWSKA i KUCHARSKI 2004). Pomimo pozytywów, jakie niesie ze sobą używanie tych preparatów, mogą one doprowadzić do istotnych zmian w środowisku przyrodniczym, ale tylko wówczas, gdy nie są

stosowane zgodnie z zaleceniami producenta (MIJANGOS i IN. 2009, KUCHARSKI i IN. 2009 b). O oddziaływaniu herbicydów na otaczające środowisko w dużej mierze decyduje ich zdolność degradacji. Proces zanikania tych ksenobiotyków w glebie jest uzależniony głównie od właściwości substancji aktywnej, zastosowanej dawki oraz warunków środowiska, jakie panują podczas ich stosowania. Z punktu widzenia ochrony środowiska bardzo ważny jest proces rozkładu substancji czynnej, gdyż długotrwałe jej zaleganie w glebie może doprowadzić do kumulacji, a w konsekwencji do przemieszczania się w głąb profilu glebowego (NG i IN. 2005). Rozkład biocydów w glebie zachodzi w wyniku procesów biochemicznych i mikrobiologicznych, jednak szczególną funkcję w rozkładzie tych preparatów pełnią drobnoustroje glebowe, które mają zdolność przekształcania tych związków w formy mniej szkodliwe. Wśród nich największą rolę odgrywają grzyby, ze względu na swą dużą odporność na niesprzyjające warunki środowiska. W biodegradacji herbicydów biorą udział także bakterie i promieniowce, ale w mniejszym stopniu niż grzyby (ACCINELLI i IN. 2005).

Podstawowym warunkiem ochrony roślin uprawnych przed zachwaszczeniem jest zapewnienie dobrej skuteczności herbicydów wobec chwastów, jednocześnie nie powodującej zagrożenia dla środowiska. Efekty takie można uzyskać, stosując środki chwastobójcze zawierające kilka substancji aktywnych o małych dawkach. Do odchwaszczania roślin korzeniowych są stosowane herbicydy będące mieszaniną fenmedifamu, desmedifamu i etofumesatu (WOŹNICA i IN. 2007). Substancje aktywne fenmedifam i desmedifam, ze względu na przynależność do grupy fenylokarbaminianów, mają zdolność przenikania do rośliny przez liście, powodując zakłócenie procesu fotosyntezy. Fenmedifam po przedostaniu się do gleby może prowadzić do niewielkich zmian w jej aktywności biologicznej. Z udziałem mikroorganizmów jest mineralizowany do 3-aminofenolu. Desmedifam to selektywny herbicyd o działaniu układowym, który w glebie jest degradowany do hydroksyfenylokarbaminianu etylu (ROBERTS 1998). Etofumesat należy do pochodnych benzofuranu, który jest pobierany przez pędy roślin lub korzenie, a następnie przemieszczany do liści. Substancja ta na drodze mikrobiologicznej jest rozkładana do kwasu karboksylowego (WANG i IN. 2005).

Powodowane przez herbicydy zmiany w środowisku glebowym przyczyniły się do podjęcia badań, których celem było określenie wpływu zanieczyszczenia gleby herbicydem Akord 180 OF na liczebność drobnoustrojów, aktywność enzymów i plonowanie marchwi. Do neutralizacji ewentualnego negatywnego wpływu tego preparatu zastosowano bentonit.

Material i metody

W doświadczeniu wegetacyjnym zastosowano herbicyd Akord 180 OF, który jest przeznaczony do zwalczania chwastów dwuliściennych w roślinach korzeniowych. Preparat ten, produkowany przez Zakłady Chemiczne „Organika-Sarzyna” S.A., zawiera w swoim składzie trzy substancje aktywne: fenmedifam i desmedifam – związki z grupy fenylokarbaminianów – oraz etofumesat – związek z grupy pochodnych benzofuranu. Każda z substancji czynnych wchodzi w skład herbicydu występuje w ilości $60 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ preparatu. Zalecana przez producenta dawka technologiczna wynosi $5 \text{ dm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$.

Doświadczenie wazonowe założono i prowadzono na glebie brunatnej właściwej wytworzonej z piasku gliniastego, która zawierała 72% frakcji piasku, 24% frakcji pyłu i 4% frakcji części iłu. Ponadto użyta w badaniach gleba charakteryzowała się następującymi właściwościami fizykochemicznymi: $\text{pH}_{\text{KCl}} - 6,5$, kwasowość hydrolityczna – $8,25 \text{ mmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$, suma zasadowych kationów wymiennych – $78 \text{ mmol}(+) \cdot \text{kg}^{-1}$, zawartość węgla $C_{\text{org}} - 6,3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Doświadczenie trzyczynnikowe (I – dawka herbicydu, II – termin analizy, III – dawka bentonitu) przeprowadzono w wazonach napełnionych 3 kg gleby w czterech powtórzeniach. W dniu założenia doświadczenia jednorazowo do gleby wprowadzono herbicyd Akord 180 OF w następujących dawkach: dawka zalecana przez producenta oraz dawki większe od zalecanej: 10-, 50-, 100-, 150- i 200-krotnie. Kontrolą była gleba bez dodatku środka chwastobójczego. Glebę wymieszano z herbicydem i nawozami mineralnymi, a następnie umieszczono w polietylenowych wazonach o pojemności $3,2 \text{ dm}^3$. Badania wykonano w dwóch seriach: w pierwszej serii dodano herbicyd, w drugiej zaś – herbicyd i bentonit w ilości $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. gleby. Zastosowano bentonit Swell Gel (CEBO Holland B.V.) o następującym składzie: montmorillonit sodowy – 94,0%, kwarc – 4,0%, skaleń – 1,0%, kalcyt – 1,0%, polimery akrylowe – 0,15%. W wyznaczonych terminach (25. i 50. dniu) z wazonów pobierano glebę do analiz mikrobiologicznych i biochemicznych. Wilgotność gleby utrzymywano na poziomie 60% kapilarnej pojemności wodnej, używając wody demineralizowanej. Rośliną uprawną była marchew odmiany ‘Kalina’ (po wschodach pozostawiono w każdym wazonie po pięć roślin).

W doświadczeniu zastosowano jednakowy poziom nawożenia, który wynosił ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby): N – 100 [$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$], P – 44 (KH_2PO_4), K – 120 ($\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{KCl}$), Mg – 20 ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Cu – 5 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), Zn – 5 (ZnCl_2), Mn – 5 ($\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), Mo – 5 ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), B – 0,33 (H_3BO_4).

Analizy mikrobiologiczne wykonane metodą płytkową obejmowały oznaczenie liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter* na pożywce według FENGLEROWEJ (1965), bakterii oligotroficznych na 100-krotnie rozcieńczonym podłożu OHTY i HATTORIEGO (1983), bakterii koptotroficznych na podłożu OHTY i HATTORIEGO (1983), promieniowców na pożywce Küstera i Williamsa z dodatkiem antybiotyków: nystatyny i aktidionu (PARKINSON i IN. 1971) oraz grzybów na podłożu glukozowo-peptonowym według MARTINA (1950). Płytki Petriego inkubowano w termostacie w temperaturze 28°C przez okres: 3 dni – w przypadku bakterii z rodzaju *Azotobacter*, 21 dni – w przypadku bakterii oligotroficznych, 5 dni – grzybów i 7 dni – bakterii koptotroficznych i promieniowców. W tych samych terminach wykonano analizy biochemiczne gleby, określając aktywność: katalazy (EC 1.11.1.6) według ALEFA i NANNIPIERIEGO (1998 a), ureazy (EC 3.5.1.5) według ALEFA i NANNIPIERIEGO (1998 b) oraz fosfatazy kwaśnej (EC 3.1.3.2) według metody opisanej przez ALEFA i IN. (1998). Aktywność ureazy i fosfatazy kwaśnej określono za pomocą spektrofotometru Perkin-Elmer Lambda 25. Aktywność ureazy oznaczono, mierząc ekstynkcję jodku amidortęciowego powstałego podczas reakcji jonu NH_4^+ z odczynnikiem Nesslera. W przypadku fosfatazy kwaśnej oznaczono 4-nitrofenol, wytworzony w wyniku hydrolizy 4-nitrofenylofosforanu disodowego (KUCHARSKI i IN. 2009 c). Aktywność katalazy określono na podstawie pomiaru objętości roztworu nadmanganianu potasu zużytego podczas miareczkowania. Wyniki opracowano statystycznie, posługując się wielokrotnym testem rozstępu Duncana. Analizę statystyczną wykonano pakietem Statistica (STATISTICA... 2009).

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że herbicyd Akord 180 OF zakłócał rozwój drobnoustrojów glebowych. Zanieczyszczenie gleby tym preparatem powodowało zarówno stymulację, jak i hamowanie namnażania się drobnoustrojów. Było to uzależnione przede wszystkim od dawki herbicydu, dodatku bentonitu oraz badanej grupy drobnoustrojów (tab. 1-5).

Liczebność bakterii oligotroficznych w glebie była determinowana dawką zastosowanego herbicydu (tab. 1). Akord 180 OF istotnie zwiększył liczbę tych bakterii nawet wtedy, kiedy zastosowano go w dawce technologicznej. Największa (200-krotna) dawka herbicydu spowodowała przyrost liczebności omawianych drobnoustrojów o 60%. Istotnie oddziaływał także zastosowany bentonit, który średnio, niezależnie od dawki, powodował wzrost liczebności bakterii oligotroficznych o 12%.

Tabela 1. Liczebność bakterii oligotroficznych w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (10^8 jtk w 1 kg s.m.)

Table 1. The counts of oligotrophic bacteria in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (10^8 cfu per 1 kg of d.m.)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	26,15 ±0,59	34,76 ±3,56	35,94 ±2,42	35,10 ±2,11
1	24,33 ±0,59	76,07 ±4,14	66,45 ±1,02	53,90 ±3,13
10	27,89 ±3,86	78,10 ±4,30	68,78 ±4,79	83,26 ±7,61
50	29,64 ±8,41	79,24 ±2,06	67,27 ±4,26	68,61 ±6,20
100	27,65 ±4,68	107,80 ±1,56	68,05 ±2,62	46,40 ±2,36
150	26,93 ±1,18	105,50 ±0,60	68,41 ±4,01	46,00 ±2,16
200	19,50 ±2,05	74,08 ±0,59	72,19 ±4,81	45,75 ±3,13
<i>r</i>	-0,54	0,53	0,61	-0,21
NIR _{0,05}	a – 3,07, b – 1,64, c – 1,64, a × b – 4,34, a × c – 4,34, b × c – 2,32, a × b × c – 6,13			

0 – kontrola, 1 – dawka zalecana przez producenta, 10, 50, 100, 150, 200 – dawki większe od zalecanej odpowiednio: 10-, 50-, 100-, 150- i 200-krotnie.

r – współczynnik korelacji.

± – odchylenie standardowe.

NIR dla: a – dawki herbicydu, b – terminu analizy, c – dawki bentonitu.

W przeprowadzonym doświadczeniu herbicyd Akord 180 OF wpływał stymulująco na bakterie koptotroficzne (tab. 2). Średnio w glebie, do której zaaplikowano Akord 180 OF, było 2,9-krotnie więcej bakterii niż w glebie kontrolnej. Pozytywnie na liczbę bakterii koptotroficznych w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF oddziaływał bentonit, który przyczynił się do zwiększenia ich liczebności średnio o 23%.

Tabela 2. Liczebność bakterii koptroficznych w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (10^8 jtk w 1 kg s.m.)Table 2. The counts of copiotrophic bacteria in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (10^8 cfu per 1 kg of d.m.)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	16,30 ±1,76	21,94 ±2,92	36,28 ±3,02	24,64 ±1,17
1	53,11 ±0,59	32,41 ±1,18	58,95 ±0,59	74,70 ±1,02
10	77,21 ±2,36	67,09 ±1,03	70,86 ±0,60	75,69 ±3,15
50	88,22 ±2,60	79,24 ±8,17	88,44 ±1,56	108,74 ±3,61
100	104,05 ±8,32	39,91 ±2,71	76,73 ±4,92	97,23 ±5,32
150	87,60 ±3,29	35,63 ±4,19	69,47 ±2,44	97,89 ±5,72
200	84,85 ±8,73	34,14 ±1,18	66,99 ±4,70	64,18 ±4,14
<i>r</i>	0,64	-0,13	0,36	0,31
NIR _{0,05}	a – 3,26, b – 1,74, c – 1,74, a × b – 4,60, a × c – 4,60, b × c – 2,46, a × b × c – 6,51			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.

Akord 180 OF zaaplikowany do gleby w nadmiarze hamował namnażanie się bakterii z rodzaju *Azotobacter* (tab. 3). Zmniejszenie ich liczebności było najbardziej widoczne w przypadku dawki największej, 200-krotnie większej od zalecanej. Liczba tych bakterii po zastosowaniu takiej ilości herbicydu zmniejszyła się 1,4-krotnie. Jednocześnie pozytywnie wpływał bentonit, który zwiększył ilość bakterii z rodzaju *Azotobacter* o 83,3%.

Odmienne rezultaty po zastosowaniu preparatu Akord 180 OF odnotowano w przypadku promieniowców (tab. 4). Zaobserwowano stymulujące działanie tego herbicydu na ich namnażanie się, o czym świadczą dodatnie współczynniki korelacji. Zaaplikowanie dawki 50-krotnie większej od zalecanej przyczyniło się do zwiększenia liczebności promieniowców średnio 3,4-krotnie w porównaniu z glebą kontrolną. Korzystnie na promieniowce wpływał także bentonit, zwiększając ich ilość o 38,1%. W 50. dniu trwania doświadczenia w glebie, do której wprowadzono dawkę technologiczną preparatu Akord 180 OF w serii bez bentonitu, liczebność promieniowców zwiększyła się 2,1-krotnie, a w obiektach z dawką 10 razy większą od zalecanej – 2,2-krotnie.

Stymulujące działanie herbicydu Akord 180 OF odnotowano także w liczebności grzybów (tab. 5). Uzyskane wyniki dowodzą, że gleba zanieczyszczona tym preparatem stwarzała odpowiednie warunki do ich wzrostu i rozwoju. Niezależnie od dawki herbicydu liczebność badanej grupy drobnoustrojów była większa w stosunku do kontroli. Największy przyrost liczebności grzybów zaobserwowano po zaaplikowaniu dawki 50-krotnie większej od zalecanej w obiektach bez bentonitu. Ilość grzybów zwiększyła się aż o 119,4%. Pozytywnie na rozwój grzybów wpływał dodany do gleby bentonit, który przyczynił się do przyrostu ich liczebności o 21,6%.

Tabela 3. Liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (10^3 jtk w 1 kg s.m.)Table 3. The counts of bacteria from the genus *Azotobacter* in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (10^3 cfu per 1 kg of d.m.)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	27,85 ±1,18	27,67 ±4,57	24,42 ±2,63	37,12 ±1,17
1	17,82 ±3,61	27,63 ±3,69	36,12 ±2,36	33,09 ±3,13
10	16,33 ±1,02	25,46 ±2,15	44,59 ±2,74	32,68 ±1,58
50	16,54 ±1,79	26,41 ±0,59	44,39 ±3,88	40,48 ±2,14
100	14,52 ±1,04	18,76 ±2,13	46,18 ±3,94	33,09 ±3,29
150	11,93 ±1,18	16,60 ±2,75	45,84 ±1,62	32,86 ±0,60
200	11,97 ±2,14	15,70 ±1,56	27,07 ±2,75	26,63 ±2,05
<i>r</i>	-0,81	-0,96	0,05	-0,72
NIR _{0,05}	a – 2,04, b – n.s., c – 1,09, a × b – 2,88, a × c – 2,88, b × c – 1,54, a × b × c – 4,08			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.
n.s. – wartość nieistotna.

Tabela 4. Liczebność promieniowców w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (10^8 jtk w 1 kg s.m.)Table 4. The counts of actinomycetes in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (10^8 cfu per 1 kg of d.m.)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	24,11 ±0,59	35,77 ±2,11	22,68 ±2,18	38,81 ±0,58
1	48,31 ±1,03	75,04 ±1,18	53,84 ±3,29	185,22 ±9,38
10	56,46 ±3,58	77,75 ±7,03	62,91 ±7,78	170,30 ±7,15
50	72,02 ±1,19	78,56 ±7,01	87,76 ±2,37	168,78 ±2,72
100	54,96 ±4,15	106,10 ±2,58	64,58 ±6,83	135,78 ±3,87
150	51,47 ±4,61	108,61 ±0,60	64,18 ±5,83	84,74 ±4,68
200	49,27 ±2,05	100,03 ±3,37	77,05 ±2,08	79,20 ±4,62
<i>r</i>	0,23	0,81	0,36	-0,30
NIR _{0,05}	a – 3,61, b – 1,93, c – 1,93, a × b – 5,11, a × c – 5,11, b × c – 2,73, a × b × c – 7,23			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.

Tabela 5. Liczebność grzybów w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (10^6 jtk w 1 kg s.m.)Table 5. The counts of fungi in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (10^6 cfu per 1 kg⁻¹ of d.m.)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	28,19 ±0,59	24,97 ±1,55	26,86 ±0,60	25,99 ±2,55
1	55,16 ±1,19	39,91 ±2,71	42,60 ±2,13	48,10 ±5,12
10	56,80 ±9,15	39,56 ±2,98	74,66 ±4,52	50,92 ±4,88
50	75,12 ±8,36	41,51 ±3,14	76,83 ±9,77	55,57 ±3,71
100	73,28 ±4,32	41,28 ±2,58	110,06 ±3,01	48,44 ±0,59
150	70,90 ±6,81	42,20 ±1,59	88,86 ±1,06	49,81 ±1,04
200	47,21 ±2,05	45,75 ±4,62	85,03 ±4,70	45,06 ±3,55
<i>r</i>	0,27	0,72	0,70	0,31
NIR _{0,05}	a – 3,53, b – 1,88, c – 1,88, a × b – 4,99, a × c – 4,99, b × c – 2,67, a × b × c – 7,05			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.

Zastosowany w doświadczeniu herbicyd Akord 180 OF wpływał również modyfikująco na aktywność enzymów glebowych. Zwiększone ilości tego preparatu działały inhibicyjnie na aktywność wszystkich badanych enzymów (tab. 6-8). Herbicyd istotnie hamował aktywność katalazy, czego dowodem są ujemne współczynniki korelacji (tab. 6). Dawka największa (200-krotna) zmniejszyła jej aktywność 1,2-krotnie. Bentonit dodany do gleby w celu poprawienia jej właściwości spowodował zwiększenie aktywności katalazy o 8,7%.

Akord 180 OF oddziaływał także inhibicyjnie na aktywność ureazy (tab. 7), która zmniejszała się wprost proporcjonalnie do dawki herbicydu. Największa jego dawka (200-krotna) w obiektach bez bentonitu zmniejszyła aktywność ureazy o 43,9%. Bentonit oddziaływał na ureazę aktywująco – zwiększał jej aktywność o 10,7%.

Wyraźne zmiany po zanieczyszczeniu gleby środkiem chwastobójczym stwierdzono w aktywności fosfatazy kwaśnej (tab. 8). Odnotowano istotne zahamowanie jej aktywności. Zaaplikowanie do gleby największej (200-krotnej) dawki herbicydu zmniejszyło tę aktywność o 16,0%. Inhibicyjne działanie na fosfatazę kwaśną wywierał także zastosowany bentonit, który zmniejszył tę aktywność 1,2-krotnie.

Herbicyd Akord 180 OF przyczynił się także do zmian we wzroście i rozwoju uprawianej rośliny, którą była marchew odmiany 'Kalina' (rys. 1). Nadmierne ilości herbicydu były toksyczne dla testowanej rośliny, o czym świadczy zmniejszenie jej plonu. Dawka 200-krotnie większa od technologicznej zmniejszyła plon korzeni marchwi w serii bez bentonitu o 72,2%. Wprowadzona do gleby w formie bentonitu substancja neutralizująca okazała się mało skuteczna w podnoszeniu plonu marchwi. Bentonit nie zmniejszał negatywnych skutków oddziaływania tego preparatu na marchew, a nawet pogłębiał niekorzystny jego wpływ.

Tabela 6. Aktywność katalazy w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (mol O₂ w 1 kg s.m. na 1 h)Table 6. Catalase activity in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (mol O₂ per 1 kg of d.m. per 1 h)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	0,12 ±0,002	0,16 ±0,004	0,10 ±0,004	0,15 ±0,004
1	0,11 ±0,002	0,13 ±0,002	0,12 ±0,004	0,16 ±0,002
10	0,12 ±0,004	0,13 ±0,005	0,15 ±0,005	0,15 ±0,006
50	0,11 ±0,005	0,13 ±0,004	0,14 ±0,002	0,15 ±0,002
100	0,11 ±0,002	0,12 ±0,004	0,12 ±0,005	0,13 ±0,002
150	0,11 ±0,005	0,12 ±0,002	0,12 ±0,005	0,13 ±0,004
200	0,11 ±0,002	0,12 ±0,002	0,11 ±0,004	0,11 ±0,004
<i>r</i>	-0,66	-0,66	-0,16	-0,98
NIR _{0,05}	a – 0,003, b – 0,002, c – 0,002, a × b – 0,004, a × c – n.s., b × c – 0,002, a × b × c – 0,005			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.
n.s. – wartość nieistotna.

Tabela 7. Aktywność ureazy w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (mmol N-NH₄ w 1 kg s.m. na 1 h)Table 7. Urease activity in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (mmol N-NH₄ per 1 kg of d.m. per 1 h)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	1,17 ±0,06	1,29 ±0,06	0,96 ±0,06	1,31 ±0,06
1	0,81 ±0,06	1,33 ±0,06	0,94 ±0,03	1,28 ±0,03
10	0,57 ±0,06	1,15 ±0,06	0,94 ±0,03	1,17 ±0,03
50	0,57 ±0,06	0,97 ±0,06	0,81 ±0,03	1,08 ±0,06
100	0,55 ±0,03	0,97 ±0,06	0,84 ±0,03	0,99 ±0,07
150	0,44 ±0,03	0,95 ±0,06	0,77 ±0,03	0,94 ±0,03
200	0,43 ±0,03	0,95 ±0,03	0,52 ±0,06	0,89 ±0,07
<i>r</i>	-0,79	-0,78	-0,92	-0,94
NIR _{0,05}	a – 0,04, b – 0,02, c – 0,02, a × b – 0,06, a × c – 0,06, b × c – 0,03, a × b × c – 0,08			

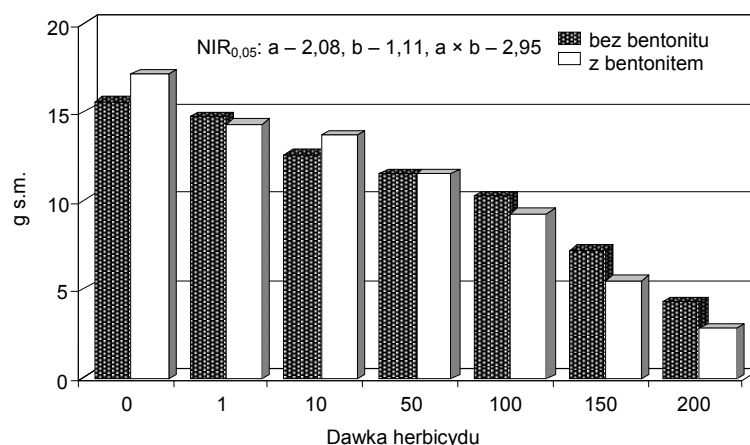
Objaśnienia – jak pod tabelą 1.

Tabela 8. Aktywność fosfatazy kwaśnej w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF (mmol PNP w 1 kg s.m. na 1 h)

Table 8. Acid phosphatase activity in soil contaminated with the Akord 180 OF herbicide (mmol PNP per 1 kg of d.m. per 1 h)

Dawka herbicydu	Dawka bentonitu			
	0 g·kg ⁻¹		60 g·kg ⁻¹	
	25. dzień	50. dzień	25. dzień	50. dzień
0	1,19 ±0,01	1,39 ±0,01	1,21 ±0,01	1,19 ±0,01
1	1,19 ±0,02	1,38 ±0,02	1,15 ±0,01	1,15 ±0,03
10	1,18 ±0,02	1,36 ±0,02	1,09 ±0,01	1,09 ±0,02
50	1,16 ±0,02	1,37 ±0,04	1,04 ±0,02	1,08 ±0,01
100	1,13 ±0,03	1,37 ±0,02	1,01 ±0,01	1,01 ±0,02
150	1,13 ±0,02	1,37 ±0,02	0,99 ±0,01	1,00 ±0,02
200	1,08 ±0,01	1,21 ±0,02	0,96 ±0,02	0,96 ±0,01
<i>r</i>	0,38	-0,72	-0,90	-0,95
NIR _{0,05}	a - 0,01, b - 0,01, c - 0,01, a × b - 0,02, a × c - 0,02, b × c - 0,01, a × b × c - 0,03			

Objaśnienia – jak pod tabelą 1.



Rys. 1. Wpływ stopnia zanieczyszczenia gleby herbicydem Akord 180 OF na plonowanie marchwi (g s.m. na wazon); 0 – kontrola, 1 – dawka zalecana przez producenta, 10, 50, 100, 150, 200 – dawki większe od zalecanej odpowiednio: 10-, 50-, 100-, 150- i 200-krotnie; NIR dla: a – dawki herbicydu, b – dawki bentonitu

Fig. 1. The effect of soil contamination with the Akord 180 OF herbicide on carrot yield (g of d.m. per pot); 0 – control, 1 – dose recommended by manufacturer, 10, 50, 100, 150, 200 – doses appropriately 10-, 50-, 100-, 150- and 200-fold higher than recommended; NIR – LSD for: a – herbicide dose, b – bentonite dose

Dyskusja

Zmiany w środowisku glebowym często są powodowane przez przedostające się do niego zanieczyszczenia chemiczne, powstające głównie w wyniku działalności człowieka. Stan gleby można monitorować poprzez określenie jej aktywności biologicznej. Jej wyznacznikiem są bez wątpienia drobnoustroje, dzięki którym można zaobserwować zmiany zachodzące w środowisku glebowym. Reakcja mikroorganizmów na przenikające do gleby zanieczyszczenia chemiczne jest widoczna w ich składzie ilościowym i jakościowym (TRUU i IN. 2008). Zaburzenia w namnażaniu się drobnoustrojów zaobserwowano w badaniach własnych, w których stosowano do gleby herbicyd Akord 180 OF. Środek chwastobójczy wpływał toksycznie na bakterie z rodzaju *Azotobacter*, natomiast stymulował rozwój promieniowców i grzybów. Podobne rezultaty uzyskali w swojej pracy ARAÚJO i IN. (2003). Testowali oni glifosat na dwóch rodzajach gleb, do których zaaplikowano ten preparat w ilości $2,16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$ gleby. Prowadzone przez 32 dni badania wykazały, że środek chwastobójczy zwiększał liczebność promieniowców i grzybów, natomiast hamował rozwój bakterii. KUCHARSKI i IN. (2006) również odnotowali takie zmiany w liczebności tych grup drobnoustrojów, ale po zastosowaniu herbicydu Harpun 500 SC, który aplikowali do gleby w następujących dawkach: 0,83 (optymalna), 41,5, 83,0, 124,5 i $166,0 \text{ mm}^3 \cdot \text{kg}^{-1} \text{ s.m.}$ LANCASTER i IN. (2006) uważają, że herbicydy mogą stanowić substancję odżywczą, która stymuluje namnażanie się poszczególnych grup drobnoustrojów. W badaniach własnych herbicyd Akord 180 OF stał się doskonałym substratem prowadzącym do zwiększenia liczebności bakterii oligotroficznych, bakterii kopiotroficznych, grzybów i promieniowców. Ponadto drobnoustroje te mogły być zdolne do degradacji substancji aktywnych, będących składową testowanego środka chwastobójczego. Nieco inne wyniki uzyskała WYSZKOWSKA (2004), testując herbicyd Triflurotox 250 EC. Autorka zaobserwowała zmniejszenie się liczebności wszystkich badanych grup drobnoustrojów w glebie zanieczyszczonej tym preparatem. WYSZKOWSKA i KUCHARSKI (2004), po badaniach z herbicydem Chwastox Trio 540 SL, również dowiedli, że stosowanie nadmiernych ilości środków chwastobójczych może przyczynić się do zmian w namnażaniu się mikroorganizmów glebowych. ESER i IN. (2007) doszli do wniosku, że obecność w glebie niektórych substancji aktywnych, np. glifosatu lub trifluraliny, może doprowadzić do zmian w populacji bakterii. Takie zależności odnotowano w badaniach własnych, w których substancje czynne testowanego środka chwastobójczego (fenmedifan, desmedifan i etofumesat) działały inhibicyjnie na namnażanie się bakterii *Azotobacter*.

Mikroorganizmy glebowe odgrywają kluczową rolę w degradacji różnego rodzaju zanieczyszczeń (herbicydy, związki ropopochodne, metale ciężkie i in.), przyczyniając się w ten sposób do utrzymania odpowiedniej jakości gleby (ANDRÉA i IN. 2003). Ponadto wydzielają one enzymy, które dostarczają niezbędnych informacji o stanie biologicznym gleby. Aktywność enzymatyczna jest często wykorzystywana w szacowaniu zmian zachodzących w środowisku glebowym pod wpływem substancji chemicznych, do których należą także herbicydy (WANG i IN. 2009). Wykonano wiele prac dotyczących skutków działania środków ochrony roślin na aktywność enzymów glebowych i zaobserwowano, że ich wpływ na enzymy jest zróżnicowany (YAO i IN. 2006). W badaniach własnych enzymem wrażliwym na nadmierne ilości herbicydu Akord 180

OF była katalaza, której aktywność zmniejszyła się o 14,2% po zaaplikowaniu dawki największej (200-krotnej). Toksyczne oddziaływanie herbicydu na katalazę odnotowali WEI i IN. (2000), wprowadzając do gleby imidaklopyrd w dawkach od 1 do 40 mg·kg⁻¹ s.m. YAO i IN. (2006), stosując acetamipiryd w ilości 0,5, 5,0 i 50 mg·kg⁻¹ s.m. gleby, nie odnotowali istotnych zmian w aktywności katalazy.

Enzymem, który reaguje na przedostające się do gleby zanieczyszczenia, jest ureaza. Jej aktywność w niniejszych badaniach zmniejszyła się po zastosowaniu nadmiernych ilości herbicydu Akord 180 OF w zakresie od 19,0% (dawka 10-krotna) do 41,1% (dawka 200-krotna). Silne zahamowanie aktywności ureazy pod wpływem mefenacetu odnotowali YANG-FANG i IN. (2004). Podobne rezultaty uzyskał SUKUL (2006) w czasie trwania doświadczenia z preparatem metalaksyl. Z kolei YAO i IN. (2006), stosując acetamipiryd, nie zauważyli istotnych zmian nawet po zaaplikowaniu dawki największej (50 mg·kg⁻¹ s.m. gleby).

Dużą wrażliwość na wprowadzony do piasku gliniastego preparat Akord 180 OF wykazała również fosfataza kwaśna. BIELIŃSKA i PRANAGAL (2007) uważają, że fosfatazy są najbardziej podatne na zanieczyszczenie chemiczne przenikające do gleby, w tym środki chwastobójcze. Zmniejszenie aktywności fosfatazy zauważyli YAO i IN. (2006) po dodaniu preparatu acetamipiryd oraz KUCHARSKI i WYSZKOWSKA (2008) w doświadczeniu z herbicydem Apyros 75 WG. KUCHARSKI i IN. (2009 a) w eksperymencie z preparatem Harpun 500 SC również potwierdzili wrażliwość fosfatazy na czynnik stresowy, jakim są herbicydy. Stymulujące działanie środków chwastobójczych na fosfatazę odnotowali YANG-FANG i IN. (2004) oraz NOWAK i IN. (2006).

Na zanieczyszczenie gleby środkami chwastobójczymi reagują nie tylko drobno-ustroje i enzymy glebowe, lecz także rośliny. Zazwyczaj zmiany po zastosowaniu tych preparatów można zaobserwować w plonowaniu (MARTINS i IN. 2007, SUKUL 2006). Wykonane badania potwierdzają negatywne działanie herbicydu Akord 180 OF na wzrost i rozwój marchwi. Jego toksyczne działanie było widoczne po zastosowaniu jego nadmiernych ilości. W badaniach przeprowadzonych przez KUCHARSKIEGO i IN. (2006) także zaobserwowano zmniejszenie plonu roślin po wprowadzeniu do gleby zwiększonych ilości herbicydu Faworyt 300 SL.

Postępujące zanieczyszczenie środowiska glebowego substancjami chemicznymi, w tym biocydami, doprowadziło do podjęcia działań mających na celu przywrócenie równowagi biologicznej gleby. W rekultywacji gleb zdegradowanych tymi związkami często są stosowane substancje neutralizujące, do których należy m.in. bentonit (WYSZKOWSKA i WYSZKOWSKI 2008). Z badań WYSZKOWSKIEGO i ZIÓŁKOWSKIEJ (2009) wynika, że bentonit może spełniać istotną rolę w łagodzeniu negatywnych skutków działania substancji chemicznych. W niniejszej pracy bentonit nie zawsze niwelował negatywne działanie herbicydu Akord 180 OF na właściwości biologiczne gleby. Dotyczy to głównie aktywności fosfatazy kwaśnej i plonu marchwi, gdzie zaobserwowano nawet pogłębienie niekorzystnego oddziaływania środka chwastobójczego po dodaniu bentonitu. Z badań KUCHARSKIEGO i IN. (2009 a) również wynika, że substancja ta nie zawsze wpływa korzystnie na jakość gleby.

Wnioski

1. W glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF odnotowano zwiększenie liczebności bakterii oligotroficznych, bakterii koptroficznych, promieniowców i grzybów, zmniejszenie liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter* oraz zahamowanie aktywności katalazy, ureazy i fosfatazy kwaśnej.

2. Marchew uprawiana w glebie zanieczyszczonej herbicydem Akord 180 OF okazała się bardzo wrażliwa na nadmierne jego ilości.

3. Dodany do gleby bentonit wpłynął na zwiększenie liczebności bakterii z rodzaju *Azotobacter*, bakterii oligotroficznych, bakterii koptroficznych, promieniowców i grzybów oraz stymulował aktywność katalazy i ureazy. Bentonit okazał się mało skuteczny w łagodzeniu skutków działania nadmiernych ilości herbicydu Akord 180 OF na aktywność fosfatazy kwaśnej i plonowanie marchwi.

Literatura

- ACCINELLI C., SCREPANTI C., VICARI A., 2005. Influence of flooding on the degradation of linuron, isoproturon and metolachlor in soil. *Agron. Sustain. Dev.* 25: 401-406.
- ALEF K., NANNIPIERI P., 1998 a. Catalase activity. W: *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Red. K. Alef, P. Nannipieri. Academic Press, Harcourt Brace & Company, London: 362-363.
- ALEF K., NANNIPIERI P., 1998 b. Urease activity. W: *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Red. K. Alef, P. Nannipieri. Academic Press, Harcourt Brace & Company, London: 316-320.
- ALEF K., NANNIPIERI P., TRAZAR-CEPEDA C., 1998. Phosphatase activity. W: *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Red. K. Alef, P. Nannipieri. Academic Press, Harcourt Brace & Company, London: 335-344.
- ANDRÉA M.M., PERES T.B., LUCHINI L.C., BAZARIN S., PAPINI S., MATALLO M.B., SAVOY V.L.T., 2003. Influence of repeated applications of glyphosate on its persistence and soil bioactivity. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 38, 11: 1329-1335.
- ARAÚJO A.S.F., MONTEIRO R.T.R., ABARKELI R.B., 2003. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soil. *Chemosphere* 52: 799-804.
- BAĆMAGA M., KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J., ZABOROWSKA M., 2006. Liczebność drobnoustrojów w glebie zanieczyszczonej herbicydem Harpun 500 SC. *Acta Agr. Silv. Ser. Agr.* 49: 13-18.
- BIELIŃSKA E.J., PRANAGAL J., 2007. Enzymatic activity of soil contaminated with triazine herbicides. *Pol. J. Environ. Stud.* 16, 2: 295-300.
- ESER F., LIKER H.A.S., DARICI C., 2007. The effects of glyphosate isopropylamine and trifluralin on the carbon mineralization of olive tree soils. *Turk. J. Agric. For.* 31: 297-302.
- FENGLEROWA W., 1965. Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. *Acta Microbiol. Pol.* 14, 2: 203-206.
- KUCHARSKI J., BAĆMAGA M., WYSZKOWSKA J., 2009 a. Aktywność enzymatyczna gleby zanieczyszczonej herbicydem Harpun 500 SC. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 540: 225-236.
- KUCHARSKI J., BAĆMAGA M., WYSZKOWSKA J., 2009 b. Dehydrogenase activity as an indicator of soil contamination with herbicides. *Ecol. Chem. Eng. A* 16, 3: 253-261.
- KUCHARSKI J., BOROS E., WYSZKOWSKA J., 2009 c. Biochemical activity of nickel-contaminated soil. *Pol. J. Environ. Stud.* 18, 6: 1037-1042.
- KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J., 2008. Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG. *J. Elementol.* 13, 3: 357-371.

- KUCHARSKI J., WYSZKOWSKA J., BAĆMAGA M., 2006. Właściwości mikrobiologiczne gleby zanieczyszczonej herbicydem Faworyt 300 SL. *Acta Agr. Silv. Ser. Agr.* 49: 309-316.
- LANCASTER S.H., HANEY R.L., SENSEMAN S.A., HONS F.M., CHANDLER J.M., 2006. Soil microbial activity is affected by Roundup weathermax and pesticides applied to cotton (*Gossypium hirsutum*). *J. Agric. Food Chem.* 54: 7221-7226.
- MARTIN J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69: 215-232.
- MARTINS P.F., MARTINEZ C.O., DE CARVALHO G., CARNERIO P.I.B., AZEVEDO R., PILEGGI S.A.V., DE MELO I.S., PILEGGI M., 2007. Selection of microorganisms degrading s-metolachlor herbicide. *Braz. Arch. Biol. Tech.* 50, 1: 153-159.
- MIJANGOS J., BECERRIL J.M., ALBIZO I., EPELDE L., GARBISU C., 2009. Effects of glyphosate on rhizosphere soil microbial communities under two different plant compositions by cultivation-dependent and independent methodologies. *Soil Biol. Biochem.* 41: 505-513.
- NG T.J., FLEET G.H., HEARD G.M., 2005. Pesticides as a source of microbial contamination of salad vegetables. *J. Food Microbiol.* 101: 237-250.
- NOWAK J., TELESIŃSKI A., SZYMCZAK J., 2006. Comparison of herbicides containing isoproturon, 2,4-D and dicamba on phosphatase activity in the soil and in spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Electr. J. Pol. Agric. Univ. Ser. Agron.* 9, 1, #17.
- OHTA H., HATTORI T., 1983. Oligotrophic bacteria on organic debris and plant roots in paddy field. *Soil Biol. Biochem.* 1: 1-8.
- PARKINSON D., GRAY F.R.G., WILLIAMS S.T., 1971. Methods for studying the ecology of soil microorganism. *IBP Handb.* 19.
- ROBERTS T., 1998. *Metabolic pathways of agrochemicals: herbicides and plant growth regulators.* Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- STATISTICA (data analysis software system), version 9.0. 2009. StatSoft Inc., Tulsa, OK. [<http://www.statsoft.com>].
- SUKUL P., 2006. Enzymatic activities and microbial biomass in soil as influenced by metaxyl residues. *Soil Biol. Biochem.* 38: 320-326.
- TRUU M., TRUU J., IVASK M., 2008. Soil microbiological and biochemical properties for assessing the effect of agricultural management practices in Estonian cultivated soils. *Eur. J. Soil Sci.* 44: 231-237.
- WANG P., JIANG S.R., QIU J., WANG Q.X., WANG P., ZHOU Z.Q., 2005. Stereoselective degradation of ethofumesate in turfgrass and soil. *Pestic. Biochem. Physiol.* 82: 197-204.
- WANG Q., ZHOU D., CANG L., 2009. Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1504-1509.
- WEI Z., HUI-JUN L., WEI-PING L., 2000. Influence of pesticide imidacloprid and its metabolites on catalase activity in soil, China. *Environ. Sci.* 20: 524-527.
- WOŹNICA Z., IDZIAK R., WANIÓREK W., 2007. Mikrodamki herbicydów – nowa opcja odchwaszczenia buraków cukrowych. *Progr. Plant Prot. / Post. Ochr. Rośl.* 47, 3: 310-315.
- WYSZKOWSKA J., 2004. Właściwości mikrobiologiczne gleby zanieczyszczonej herbicydem Triflurotox 250 EC. *Acta Agr. Silv. Ser. Agr.* 42: 463-473.
- WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J., 2004. Biologiczne właściwości gleby zanieczyszczonej Chwastoxem Trio 540 SL. *Rocz. Glebozn.* 50: 311-319.
- WYSZKOWSKA J., WYSZKOWSKI M., 2008. Influence of petroleum-derived substances on number of oligotrophic and copiotrophic bacteria in soil. *Am.-Eurasian J. Sustain. Agric.* 2, 2: 172-179.
- WYSZKOWSKI M., ZIÓŁKOWSKA A., 2009. Role of compost, bentonite and calcium oxide in restricting the effect of soil contamination with petrol and diesel oil on plants. *Chemosphere* 74: 860-865.
- YANG-FANG Y., HANG M., XIANG-CHI Z., 2004. Effects of mefenacet on microbial respiration and enzyme activities in paddy soil. *Acta Pedol. Sin.* 41: 93-96.

YAO X., MIN H., LI Z., YUAN H., 2006. Influence of acetamipirid on soil enzymatic activities and respiration. *Eur. J. Soil Biol.* 42: 120-126.

YU Y., ZHU H., FRANTZ J.M., REDING M.E., CHAN K.C., OZKAN H.E., 2009. Evaporation and coverage area of pesticide droplants on hairy and waxy leaves. *Biosystems Eng.* 104: 324-334.

THE EFFECT OF THE AKORD 180 OF HERBICIDE ON THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SOIL

Summary. The objective of this study was to determine the effect of the Akord 180 OF herbicide on the counts of soil-dwelling microbes, the activity of soil enzymes and carrot yield. The soil used in the study was loamy sand with pH_{KCl} 6.5. Akord 180 OF was applied to soil at the following doses: dose recommended by the manufacturer and doses 10-, 50-, 100-, 150- and 200-times higher than that. Soil not treated with the herbicide served as a control sample. An attempt was made to alleviate the adverse effect of Akord 180 OF by the addition of bentonite in the amount $60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ d.m. of soil. Over the experimental period of 50 days, soil moisture content was maintained at a level equal to 60% of the capillary water capacity. The tested crop was carrot cv. 'Kalina' (five plants per pot). Akord 180 OF applied in overdose caused changes in the biological activity of soil. The herbicide had an inhibitory effect on the counts of bacteria of the genus *Azotobacter*, as well as on the activity of catalase, urease and acid phosphatase. Akord 180 OF inhibited the growth and development of carrot roots. Actinomycetes, fungi, oligotrophic bacteria and copiotrophic bacteria responded positively to the tested herbicide – their population size increased.

Key words: Akord 180 OF, herbicide, microbial counts, soil enzymes, carrot yield

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Małgorzata Baćmaga, Katedra Mikrobiologii, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, pl. Łódzki 3, 10-727 Olsztyn, Poland, e-mail: m.bacmaga@uwm.edu.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:

18.10.2010

Do cytowania – For citation:

*Baćmaga M., Boros E., Kucharski J., Wyszowska J., 2010. Oddziaływanie herbicydu Akord 180 OF na aktywność biologiczną gleby. *Nauka Przyr. Technol.* 4, 6, #68.*