

## REAKCJA MIKROORGANIZMÓW GLEBOWYCH NA REGLONE 200 SL

*Stefania Jezierska-Tys<sup>1</sup>, Magdalena Frąć<sup>2</sup>, Joanna Bednarz<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin  
e-mail: stefania\_tys@op.pl

<sup>2</sup>Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN w Lublinie  
ul. Doświadczalna 4, 20- 290 Lublin

**Streszczenie.** W doświadczeniu polowym określano zmiany zachodzące w środowisku glebowym pod uprawą dwóch odmian rzepaku ozimego: Casoar i Californium po zastosowaniu preparatu Reglone 200 SL. Gleba należy do czarnych ziem właściwych (WRB-Mollic Gleysols) o pH = 6,1. Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowany środek chemiczny Reglone 200SL używany powszechnie w ochronie roślin wraz z upływem czasu naruszał równowagę biologiczną gleby, czego przejawem był spadek liczebności badanych grup drobnoustrojów. Termin analiz miał istotny wpływ na wzrost aktywności urolitycznej gleby oraz na istotny spadek aktywności proteolitycznej. Zastosowany herbicyd nieistotnie modyfikował procesy amonifikacji i nityfikacji, a użyte w doświadczeniu odmiany rzepaku determinowały różnice w liczebności bakterii o uzdolnieniach proteolitycznych oraz aktywności proteazy.

**Słowa kluczowe:** gleba, aktywność enzymatyczna, amonifikacja, nityfikacja, Reglone 200 SL

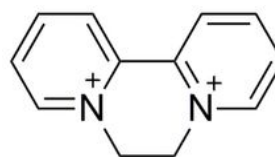
### WSTĘP

Gleba, w odróżnieniu od innych utworów geologicznych, cechuje się tzw. aktywnością biologiczną, o której decydują m.in. mikroorganizmy glebowe i wydzielane przez nie enzymy (Kieliszewska-Rokicka 2001). W glebie istnieje ścisła zależność pomiędzy aktywnością drobnoustrojów a jej żyznością. Drobnoustroje decydują o żyzności gleby, przepływie biogennych pierwiastków w ekosystemie oraz szeregu przemian związanych z właściwościami fizykochemicznymi gleby (Przybulewska i Krompiewska 2005), a reakcje biochemiczne przez nie przeprowadzane umożliwiają rozkład materii organicznej. Duża różnorodność i aktywność mikrobiologiczna gleby sprawiają, że posiada ona własny metabolizm,

skomplikowaną strukturę oraz silne zdolności homeostatyczne, dzięki którym jest w stanie przetrwać wpływ niekorzystnych czynników.

Jednym z takich czynników są środki ochrony roślin. Stanowią one ważny składnik w intensywnej produkcji rolniczej, pomagają uzyskać większą wydajność poprzez ochronę przed chwastami, chorobami i szkodnikami roślin, tak więc ich wpływ na środowisko glebowe i zdolność do ich rozkładu powinny być uwzględniane przy ocenie jakości gleby (Araújo i in. 2008). Biorąc pod uwagę korzyści związane ze stosowaniem środków ochrony roślin, niemożliwym wydaje się całkowite wyeliminowanie ich z upraw (Przybulewska 2000). Jednakże nieprzestrzeganie zasad prawidłowego stosowania środków chemicznych może doprowadzić do zachwiania równowagi w różnych środowiskach, a szczególnie w glebie. Stosowanie środków ochrony roślin prowadzi do ich przedostawania się i kumulacji w tym środowisku (Jastrzębska 2010), powodując ilościowe i jakościowe zmiany w składzie mikroflory, a także w ważnych procesach mikrobiologicznych. Modyfikacje w ilości i liczebności mikroorganizmów mogą prowadzić do naruszenia równowagi biologicznej gleby. Jednym ze skutków ubocznych stosowania środków chemicznych jest również zakłócenie procesów biochemicznych i zaburzenie aktywności enzymatycznej gleby.

Reglone 200 SL jest środkiem chwastobójczym, przeznaczonym do desykcji plantacji rzepaku, słonecznika, grochu, bobika, niszczenia naci ziemniaczanej, zwalczania chwastów w roślinach warzywnych, sadowniczych i zielarskich. Należy do herbicydów dipirydyliowych z dikwatem, jako substancją aktywną (Popova i in. 2003). Strukturę dikwatu ilustruje rysunek 1.



**Rys. 1.** Struktura dikwatu  
**Fig. 1.** Structural formula of diquat

Celem podjętych badań było określenie oddziaływania preparatu Reglone 200 SL na liczebność bakterii i grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych, a także nasilenie procesu amonifikacji i nitryfikacji w glebie oraz aktywność wybranych enzymów glebowych pod uprawą rzepaku odmiany Casoar i Californium.

#### MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Badania prowadzono w roku 2010. Eksperyment był zlokalizowany w stacji doświadczalnej oceny odmian w Głębokim w województwie kujawsko-pomorskim. Doświadczenie polowe z preparatem Reglone 200 SL zostało założone metodą split-block na glebie należącej do czarnych ziem właściwych (WRB-Mollic Gleysols) o pH 6,1 (Corg. = 12,3 mg·kg<sup>-1</sup>; Norg. = 0,11 mg·kg<sup>-1</sup>; Cu = 133 mg·kg<sup>-1</sup>; P = 235,6 mg·kg<sup>-1</sup>; K = 0,025 mg·kg<sup>-1</sup>)

Obiektem doświadczalnym była gleba pod uprawą 2 odmian rzepaku ozimego „Californium” oraz „Casoar”. Na 5 dni przed zbiorem rzepaku wykonano zabieg adesykacji preparatem Reglone 200 SL. Próbki gleb do analiz pobierano 2-krotnie – początek sierpnia (termin I) oraz początek października (termin II), z warstwy ornej (0-20 cm) każdego poletka.

### **Metodyka analiz chemicznych i mikrobiologicznych**

Analizy mikrobiologiczne obejmowały oznaczenie liczebności bakterii i grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych. Liczebność mikroorganizmów oznaczano na podłożu Fraziera z żelatyną. W przypadku grzybów przed wylaniem podłoża na płytki do sterylnej roztworu dodawano następujące antybiotyki: streptomycynę  $30 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$  oraz chlorotetracyklinę  $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Posiewy zostały wykonane w 3 powtórzeniach, a liczbę drobnoustrojów przeliczono na 1 g s.m. gleby i wyrażono w (JTK) jednostkach tworzących kolonie. Płytki po inkubacji zalewano roztworem Fraziera, a następnie liczono kolonie, wokół których były przezroczyste strefy świadczące o rozkładzie żelatyny (Trolldenier 1995).

Analizy biochemiczne dotyczyły oznaczenia aktywności proteazy metodą Ladda i Butlera (1972) w modyfikacji Alef i Nannipieri (1995) z kazeinianem sodu jako substratem. Aktywność enzymu oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali 578 nm wobec buforu Tris-HCl o pH 8,1.

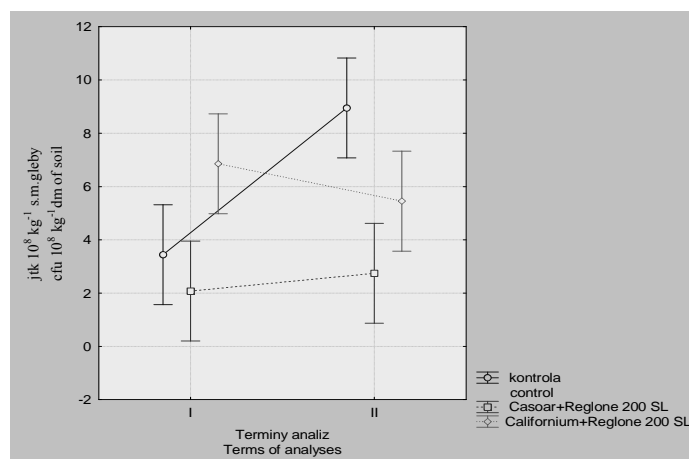
Aktywność ureazy oznaczano metodą Zantua i Bremner (1975) z mocznikiem, jako substratem. Oznaczano za pomocą spektrometru przy długości fali 410 nm wobec próby odczynnikowej.

Nasilenie procesu amonifikacji oznaczano na podstawie zawartości jonów  $\text{NH}_4^+$  metodą nassleryzacji.

Intensywność procesu nityfikacji wykonano na podstawie zawartości  $\text{NO}_3^-$  metodą brucynową. Nasilenie procesu zostało oznaczone spektrofotometrycznie przy długości fali 470 nm. Aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej oznaczono metodą Tabatabai i Bremner (1969) używając jako substratu (PNP w buforze TRIS-HCl o pH 6,5 dla fosfatazy kwaśnej i pH 11 dla fosfatazy zasadowej). Aktywność enzymatyczną oznaczono kolorymetrycznie przy długości fali 400 nm. Otrzymane wyniki badań zostały opracowane statystycznie z wykorzystaniem analizy wariancji (ANOVA). Najmniejsze istotne różnice obliczono testem Tukey'a na poziomie istotności  $\alpha = 0,05$ . Opracowanie statystyczne wyników badań przeprowadzono, używając programu STATISTICA 7.1.

## WYNIKI I DYSKUSJA

Jednym z parametrów, które umożliwiają ocenę wpływu środków ochrony roślin na glebę jest liczebność drobnoustrojów (Baćmaga i in. 2007). Z przeprowadzonych badań (rys. 2) wynika, że w I terminie analiz uwidocznił się wzrost liczebności bakterii w glebie z odmianą Californium w stosunku do gleby kontrolnej, natomiast w glebie z odmianą Casoar nastąpił nieistotny spadek liczebności badanej grupy drobnoustrojów. W II terminie analiz zaobserwowano spadek liczebności bakterii o uzdolnieniach proteolitycznych zarówno w obiekcie z odmianą Casoar, jak i Californium w porównaniu do gleby kontrolnej, jednakże zdecydowanie niższa liczebność uwidoczniła się w obiekcie z odmianą Casoar.



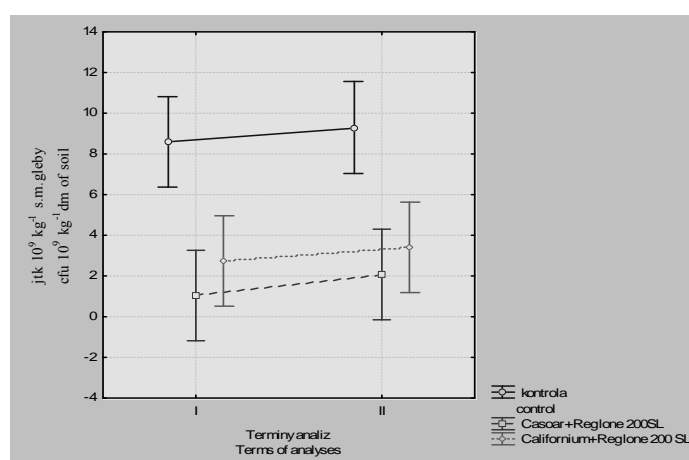
**Rys. 2.** Liczebność bakterii proteolitycznych w glebie zanieczyszczonej Reglone 200 SL. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

**Fig. 2.** Numbers of bacteria with proteolytic capabilities in soil contaminated with Reglone 200 SL. Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

W przeprowadzonym doświadczeniu po zaaplikowaniu środka Reglone 200 SL nastąpił istotny spadek liczebności grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych zarówno w I, jak i II terminie analiz w porównaniu z glebą kontrolną. Natomiast nie zaobserwowano istotnych różnic w namnażaniu się tej grupy drobnoustrojów pomiędzy glebą z odmianą Californium a glebą z odmianą Casoar (rys. 3).

Negatywne oddziaływanie pestycydów na liczebność mikroorganizmów glebowych przedstawiła Wyszowska (2004), badając wpływ herbicydu Triflurotox 250 EC na wybrane grupy mikroorganizmów. Zastosowanie herbicydu w wysokich dawkach powodowało spadek liczebności bakterii oligotroficznych, oligotroficznych przetrwalnikujących, koptotroficznych przetrwalnikujących, amonifika-

cyjnych, immobilizujących azot, celulolitycznych oraz grzybów. Jastrzębska (2010) przeprowadziła badania nad wpływem fungicydu Unix 75 oraz insektycydów Namolt 150SC i Dursban 480 EC m.in. na liczebność mikroorganizmów glebowych. Rezultaty tych badań wykazały, że zastosowane środki ochrony roślin zakłócały równowagę mikrobiologiczną gleby, co przejawiało się zwiększeniem bądź zmniejszeniem liczebności wybranych grup drobnoustrojów. Zachwianie równowagi mikrobiologicznej spowodował także zastosowany przez Wyszowską (2002b) herbicyd Treflan 480 EC.



**Rys. 3.** Liczebność grzybów proteolitycznych w glebie zanieczyszczonej Reglone 200 SL. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

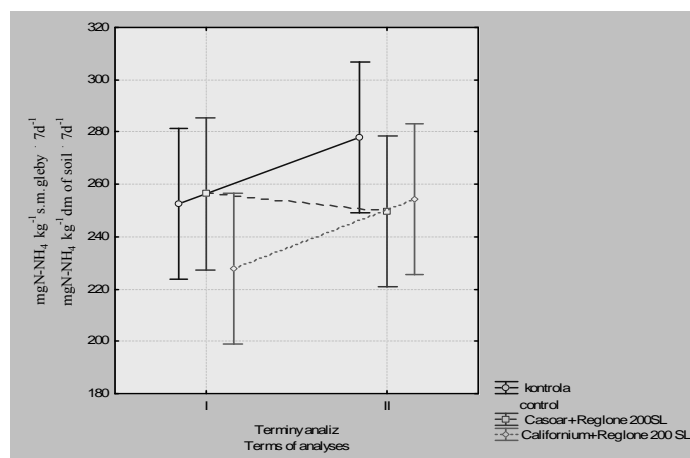
**Fig. 3.** Numbers of fungi with proteolytic capabilities in soil contaminated with Reglone 200 SL. Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

Środki ochrony roślin nie posiadają wyłącznie negatywnego działania. Potwierdzają to liczne przykłady dostępne w literaturze. Kaszubiak i Durska (2000) badali wpływ fungicydu Oxafun T na liczebność wybranych grup mikroorganizmów. Z ich badań wynika, że zastosowany w doświadczeniu preparat przyczynił się do wzrostu badanych grup drobnoustrojów. Sebiomo i in. (2011) badali przez 6 tygodni wpływ czterech herbicydów (atrazyna, primextra, parakwat i glifosat) na liczebność mikroorganizmów w glebie i odnotowali spadek liczby grzybów, bakterii oraz promieniowców w porównaniu z glebą kontrolną, jednakże wraz z upływem czasu (2-6 tygodnia stosowania herbicydów) nastąpił wzrost populacji badanych mikroorganizmów. Autorzy cytowanych prac uzasadniali ten wzrost wykorzystaniem przez mikroorganizmy stosowanych herbicydów jako źródło węgla. Sohail i Muhammad (2006) badali wpływ chloropiryfosu 40EC, imida-

chlopyrydu 200SL, cypermetryny 10EC, endosulfanu 35EC, karbofuran 20EC, cypermetryny 10EC i bifentryny 10EC, w czterech stężeniach (125, 250, 500 i 1000 ppm). Badania te wykazały, że jedynie chloropiryfos spowodował znaczne zmniejszenie liczby bakterii glebowych, jednak efekt ten uległ zanikowi po 21 dniach od zastosowania środka.

Azot jest ważnym pierwiastkiem występującym w przyrodzie. Służy roślinom jako materiał budulcowy białek, wchodzi też w skład witamin, nukleotydów, kwasów nukleinowych itp. Procesy amonifikacji i nityfikacji zachodzące w glebie są niezwykle istotne, gdyż w ich wyniku nieprzyswajalne dla roślin związki azotowe przekształcane są w łatwo dostępne ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ). Procesy te są również powszechnie stosowane jako wskaźniki aktywności mikrobiologicznej w glebach zanieczyszczonych pestycydami (Monkiedie i in. 2002).

Na rysunku 4 przedstawiono wyniki badań własnych z nasilenia procesu amonifikacji. W glebie z odmianą Casoar w I terminie badany proces kształtował się na poziomie zbliżonym do wartości uzyskanych w obiekcie kontrolnym, natomiast w glebie z odmianą Californium stwierdzono nieistotny spadek amonifikacji. W II terminie analiz w obiekcie z odmianą Casoar oraz z odmianą Californium odnotowano nieistotny spadek nasilenia badanego procesu w porównaniu do gleby kontrolnej.

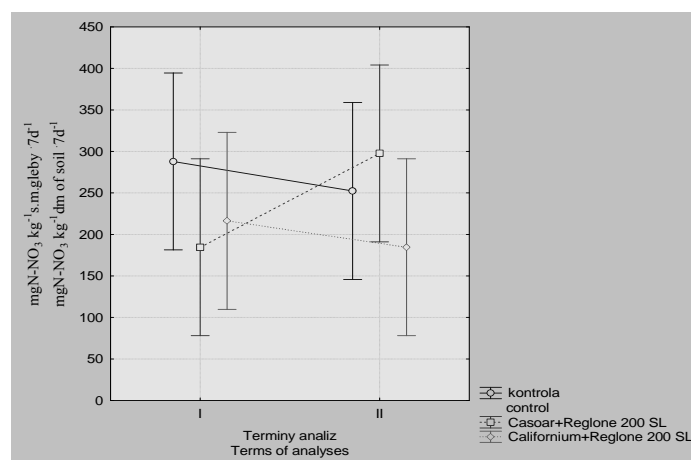


**Rys.4.** Intensywność procesu amonifikacji w glebie zanieczyszczonej Reglone 200 SL. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

**Fig.4.** Intensity of the ammonification process in soil contaminated with Reglone 200 SL. Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

Podobne wyniki uzyskali Kucharski i in. (2009b), którzy badali wpływ zanieczyszczenia gleby herbicydami: Harpun 500 SC, Faworyt 300 SL, Akord 180 OF oraz Mocarz 75 WG na przebieg procesu amonifikacji. Spośród zastosowanych przez wymienionych autorów środków chemicznych, jedynie Mocarz 750 WG spowodował spadek procesu amonifikacji, pozostałe preparaty nie miały znaczącego wpływu na ten proces. Z kolei Uyanoz R. i in. (2005) określali wpływ fungicydów (kaptan, kwintocen, chlorowodorek propamokarbu) na aktywność drobnoustrojów i dynamikę przemian azotu w glebie. Z ich badań wynika, że środki grzybobójcze hamowały zarówno proces amonifikacji, jak i nityfikacji.

Wyniki z oddziaływania preparatu Reglone na nasilenie procesu nityfikacji przedstawia rysunek 5. W I terminie analiz zarówno w glebie z odmianą Casoar, jak i w glebie z odmianą Californium stwierdzono spadek nasilenia procesu nityfikacji w porównaniu do obiektu kontrolnego, jednak uzyskane wartości nie były istotne statystycznie. Natomiast w II terminie analiz w obiekcie z odmianą Casoar zaobserwowano niewielki wzrost nasilenia procesu nityfikacji w porównaniu do gleby niezanieczyszczonej środkiem chemicznym, zaś w glebie z odmianą Californium zanotowano nieistotny spadek nasilenia badanego procesu.



**Rys. 5.** Intensywność procesu nityfikacji w glebie poddanej działaniu preparatu chemicznego Reglone 200 SL. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

**Fig. 5.** Intensity of the nitrification process in soil contaminated with Reglone 200 SL. Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

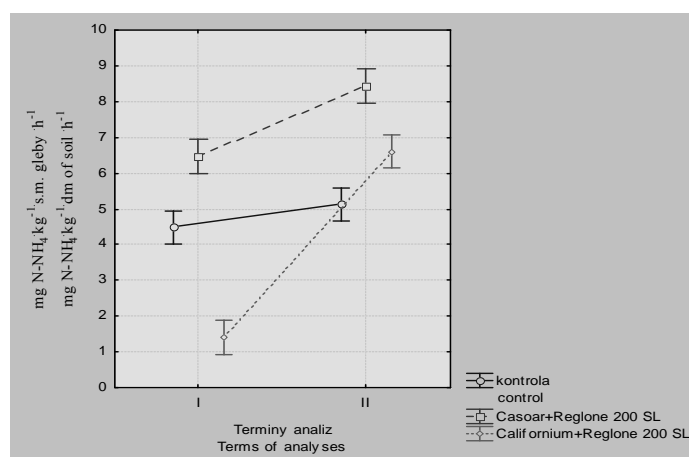
Podobne wyniki uzyskała Przybulewska (2000). W jej badaniach po wprowadzeniu do gleby herbicydu Reglone zanotowano spadek nasilenia procesu nityfikacji. Inhibicyjny wpływ herbicydów na ten proces potwierdzają także badania innych autorów (Monkiedie i Spitteller 2002, Cycoń i in. 2010).

Aktywność enzymów glebowych może służyć jako „wskaźnik żyzności gleby”, który pozwala ocenić dostępność w glebie związków pokarmowych dla roślin (Russel 2005). Pomaga również ocenić stopień zanieczyszczenia ekosystemów glebowych, powstałych często na skutek stosowania chemicznych środków ochrony roślin (Sannino and Gianfreda 2001).

Ureaza jest enzymem wydzielanym przez drobnoustroje glebowe, katalizuje reakcję hydrolytycznego rozkładu mocznika do amoniaku i dwutlenku węgla:



Na rysunku 6 przedstawiono aktywność ureazy w poszczególnych obiektach doświadczalnych. W I terminie analiz stwierdzono istotny wzrost aktywności ureazy w glebie z odmianą Casoar w porównaniu do gleby kontrolnej, natomiast w glebie z odmianą Californium zanotowano wyraźne zahamowanie aktywności badanego enzymu. W II terminie analiz zarówno w obiekcie z odmianą Casoar, jak i Californium badana aktywność uległa istotnemu wzrostowi w porównaniu z obiektem kontrolnym. Uzyskane wyniki dowodzą, że preparat Reglone wpływał stymulująco na aktywność urolityczną badanej gleby.



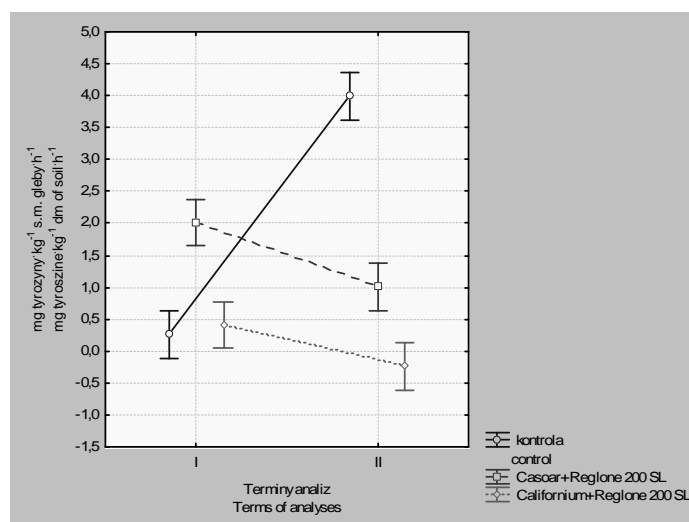
**Rys. 6.** Aktywność ureazy w glebie zanieczyszczonej Reglone 200 SL. Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

**Fig. 6.** Urease activity in soil contaminated with Reglone 200 SL. Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

Podobne wyniki otrzymali Wyszowska i Kucharski (2004b). Badania wymienionych autorów dotyczących biologicznych właściwości gleby zanieczyszczonej Chwastoxem Trio 540 SL wykazały, że zaaplikowanie do gleby herbicydu zwiększało aktywność ureazy.



Odmienne wyniki uzyskali Baćmaga i in. (2010) w odniesieniu do oddziaływania herbicydu Akord 180 OF na aktywność ureazy. Preparat ten oddziaływał inhibycyjnie na aktywność ureazy, która zmniejszała się wprost proporcjonalnie do dawki herbicydu. Z kolei Kucharski i in. (2004) oceniając wpływ zanieczyszczenia gleby Starane 250EC na jej aktywność mikrobiologiczną, stwierdzili, że aktywność ureazy po zakończeniu doświadczenia była 3-krotnie niższa. Kucharski i Wyszowska (2008) w swoich badaniach oceniali wpływ herbicydu Apyros 75 WG na liczebność różnych grup drobnoustrojów tlenowych, aktywność enzymów glebowych oraz plonowanie pszenicy jarej. W doświadczeniu wazonowym zastosowali optymalną dawkę herbicydu według zaleceń producenta, a kolejne były 10- i 100-krotnie wyższe. Stwierdzono, że Apyros 75 WG narusza homeostazę gleby, gdyż nawet w dawce zalecanej przez producenta zakłócał namnażanie niektórych grup drobnoustrojów i modyfikował również aktywność badanych enzymów glebowych. Ureaza okazała się jednym z najmniej odpornych enzymów na działanie badanego herbicydu. Po zastosowaniu w swoich badaniach herbicydu Harpun 500 EC Kucharski i in. (2009a) stwierdzili, że preparat ten jest również silnym inhibitorem ureazy.



**Rys. 7.** Aktywność proteazy w glebie zanieczyszczonej Reglone 200 SL Pionowe słupki oznaczają 0,95 przedziały ufności

**Fig. 7.** Protease activity in soil contaminated with Reglone 200 SL Vertical bars denote 0.95 confidence intervals

Proteazy występują naturalnie we wszystkich organizmach żywych, wydzielane są również przez bakterie. Enzym ten służy do hydrolizy wiązań peptydo-

wych białek, czyli do rozkładu białek do monomerów. Aktywność proteazy w glebie jest odzwierciedleniem ilości dostępnych źródeł azotu i węgla, potrzebnych do namnażania się drobnoustrojów.

Rysunek 7 ilustruje zmiany aktywności proteazy. W I terminie analiz w glebie z odmianą Casoar nastąpił wzrost aktywności proteazy w porównaniu do gleby kontrolnej, natomiast w glebie z odmianą Californium aktywność ta kształtowała się na zbliżonym poziomie do gleby kontrolnej. W II terminie analiz nastąpił istotny spadek aktywności proteazy w porównaniu do obiektu kontrolnego zarówno w glebie z odmianą Casoar, jak i w glebie odmianą Californium, przy czym zdecydowanie większy spadek obserwowano w glebie z odmianą Californium. Proteaza okazała się enzymem bardzo wrażliwym na działanie zastosowanego herbicydu.

#### WNIOSKI

1. Zastosowane w doświadczeniu odmiany rzepaku determinowały różnice w namnażaniu się bakterii o uzdolnieniach proteolitycznych. Różnice pomiędzy odmianami były widoczne także w aktywności proteazy.

2. Preparat Reglone 200 SL nie spowodował istotnych zmian w nasileniu procesu amonifikacji oraz w nasileniu procesu nityfikacji w glebie pod uprawą rzepaku zarówno odmiany Casoar jak i Californium.

3. Zastosowany herbicyd powodował istotny wzrost aktywności ureazy, natomiast proteza okazała się enzymem wrażliwym na działanie zastosowanego środka chemicznego.

4. Czas oddziaływania (termin analiz) zastosowanego herbicydu Reglone 200 SL miał istotny wpływ na badane parametry mikrobiologiczne i biochemiczne.

#### PIŚMIENNICTWO

- Alef K., Nannipieri P., 1995, *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press. London.
- Araújo A.S.F., Figueiredo M.V.B., Monteiro R.T.R., 2008. Potential of biological nitrogen fixation as indicator of soil pollution. *Nitr. Fix. Res. Prog.*, 10, 1-13.
- Baćmaga M., Boros E., Kucharski J., Wyszowska J., 2010. Oddziaływanie herbicydu Akord 180 OF na aktywność biologiczną gleby. *Nauka Przyr. Technol.*, 4, (6), 68.
- Baćmaga M., Kucharski J., Wyszowska J., 2007. Wpływ środków ochrony roślin na aktywność mikrobiologiczną gleby. *J. Elementol.*, 12, 3, 225-239.
- Cycoń M., Piotrowska-Seget Z., Kozdroj J., 2010. Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils. *Int. Biodet. Biodegra.*, 64, 316-323,

- Jastrzębska E., 2010. Wpływ fungicydu Unix 75 WG i insektycydów: Nomolt 150 SC i Dursban 480 EC na liczebność mikroorganizmów glebowych i właściwości fizyczno-chemiczne gleby. *Nauka Przyr. Technol.*, 4(6), 80.
- Kaszubiak H., Durska G., 2000. Effect of Oxafun T seed dressing on bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soil. *Pol. J. Environ. Stud.*, 9(5), 397-401.
- Kieliszewska-Rokicka B., 2001. Enzymy glebowe i ich znaczenie w badaniach aktywności biologicznej gleby. W: *Drobnoustroje środowiska glebowego. Pr. zbior. Red. H. Dahn, A. Pokojska-Burdziej. Toruń: Wydaw. A. Marszałek*, 37-47.
- Kucharski J., Baćmaga M., Wyszowska J., 2009a. Aktywność enzymatyczna gleby zanieczyszczonej herbicydem Harpun 500 S.C. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 540, 225-236.
- Kucharski J., Baćmaga M., Wyszowska J., 2009b. Effect of herbicides on the course of ammonification in soil. *J. Elem.*, 14(3), 477-487.
- Kucharski J., Karuzo-Wankiewicz L., Kuczyńska L., 2004. Wpływ zanieczyszczenia gleby Starane 250 EC na jej mikrobiologiczne właściwości. *Acta Agr. Silv., ser. Agr.*, 42, 257-263.
- Kucharski J., Wyszowska J., 2008 Biological properties of soil contaminated with the herbicide Apyros 75 WG. *J. Elementol.*, 13(3), 357-371.
- Ladd J.N., Butler J.H.A., 1972, Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 19-30.
- Monkiedje A., Ilori M.O., Spiteller M., 2002. Soil quality changes resulting from application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biol. Biochem.*, 34, 1939-1948.
- Monkiedje A., Spiteller M., 2002. Sorptive behavior of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, and their acid metabolite in typical Cameroonian and German soils. *Chemosphere*, 49, 659-668.
- Popova L., Ananieva E., Hristova V., Georgieva K., Alexieva V., Stoinova Zh., 2003. Salicylic acid and methyl jasmonate induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulg. J. Plant Physiol., Special issue*: 133-152.
- Przybulewska K., 2000. Ocena wpływu różnych systemów ochrony chemicznej stosowanych w uprawie ziemniaka na mikroflorę gleby ze szczególnym uwzględnieniem procesu nityfikacji. *Zastosowania metod statystycznych w badaniach naukowych, Kraków, StatSoftPolska*.
- Przybulewska K., Krompiewska A., 2005. Wpływ wzrastającego zasolenia NaCl na liczebność drobnoustrojów metabolizujących wybrane związki organiczne w glebie. *Inż. Ekol.*, 13, 156-157.
- Russel S., 2005. Znaczenie badań enzymów w środowisku glebowym. *Acta Agrophysica, Rozprawy i Monografie* 3, 5-9.
- Sannino F., Gianfreda L., 2001. Pesticides influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 45, 417-425.
- Sebiomo A., Ogundero V.W., Bankole S.A., 2011. Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity. *Afr. J. Biotechnol.*, 10(5), 770-778.
- Sohail A., Muhammad S.A., 2006. Effect of insecticides on the total number of soil bacteria under laboratory and field conditions. *Pak. Entomol.*, 28, 2, 63-67.
- Tabatabai M.A. and Bremner J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301-307.
- Trolldenier G., 1995, Bacterial biomass. In: Schinner F., Öhlinger R., Kandeler E., Margesin R. (Eds.), 1995, *Methods in soil biology*. Springer: 12-40.
- Uyanoz R., Cetin U., Karaarslan E., 2005. Effect of three fungicides on soil microbial activity and nitrogen dynamics. *Pak. J. Biol. Sci.*, 8, 805-809.
- Wyszowska J., 2002b. Number of cellulolytic, ammonifying, nitrogen immobilizing and Azotobacter sp. bacteria in soil contaminated with Treflan 480 EC. *Pol. J. Natur. Sci.*, 10, 1, 71-83.

- Wyszkowska J., 2004. Właściwości mikrobiologiczne gleby zanieczyszczonej herbicydem Triflurotox 250 EC. *Acta Agr. Silv. Ser. Agr.*, 42, 463-473.
- Wyszkowska J., Kucharski J., 2004b. Biologiczne właściwości gleby zanieczyszczonej Chwastoxem Trio 540 SL. *Rocz. Gleb.*, 50, 311-319.
- Zantua M.J., Bremner J.M., 1975, Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 7, 291-295.

## SOIL MICROORGANISMS' RESPONSE TO REGLONE 200 SL

*Stefania Jezierska-Tys<sup>1</sup>, Magdalena Frąc<sup>2</sup> Joanna Bednarz<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Department of Environmental Microbiology, University of Life Sciences  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

<sup>2</sup>Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences  
ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin, Poland

e-mail: stefania\_tys@op.pl

**Abstract:** In a field experiment, changes taking place in the soil environment under cultivation of two winter rape cultivars, Casoar and Californium, after the application of the chemical preparation Reglone 200 SL were determined. The soil belonged to black earths proper (WRB-Mollic Gleysols) with pH 6.1. Conducted research indicated that the chemical agent Reglone 200SL, extensively used in plant protection, with the passage of time disturbed the biological balance of the soil. As a result, the number of investigated groups of microorganisms was decreasing. Term of analyses caused a significant increase of ureolytic activity of the soil and a significant decrease of proteolytic activity. The herbicide applied only slightly modified the ammonification and nitrification processes, and the rape cultivars used in the experiment determined the differences in the numbers of bacteria with proteolytic aptitudes and in protease activity.

**Keywords:** soil, enzyme activity, ammonification, nitrification, Reglone 200 SL