

УДК 631.46: [632.952 + 632.954]

ИЗМЕНЕНИЕ МИКРОФЛОРЫ ПОЧВЫ И ИНТЕНСИВНОСТИ РАЗЛОЖЕНИЯ ПРОМЕТРИНА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФУНГИЦИДОВ

В. В. РАССОХИНА, В. А. КУЗЬМИНСКАЯ, Л. Ф. ОСТАПЕНКО

(Кафедра химических средств защиты растений ТСХА и кафедра агрохимии
и мелиорации Смоленского филиала ТСХА)

Систематическое применение пестицидов в сельском хозяйстве привело к тому, что они стали постоянно действующим экологическим фактором, изменяющим и формирующим как макро-, так и микробиоценозы. Большая часть применяемых для защиты растений химических веществ попадает в почву, где вступает во взаимодействие с микрофлорой: либо сами пестициды претерпевают разнообразные трансформации [11], либо под их влиянием изменяются численность микробных клеток, соотношение и активность отдельных групп микроорганизмов, что в конечном итоге сказывается на плодородии почвы и ее способности к самоочищению [2].

Многие исследователи указывают на изменение микрофлоры под действием пестицидов [1, 3, 13]. Что касается фунгицидов, то таких сведений значительно меньше. При их применении наряду с патогенными могут подавляться и полезные микроорганизмы [12, 15]. Имеются данные о высокой чувствительности к фунгицидам грибов рода *Aspergillus* [7].

С увеличением масштабов применения различных пестицидов возрастает вероятность их взаимодействия. В частности, может измениться скорость разложения препаратов, особенно когда один из компонентов представлен фунгицидом, из-за большей потенциальной возможности соединений этой группы воздействовать на микрофлору, принимающую непосредственное участие в инактивации пестицидов. В связи с этим нами изучались влияние некоторых фунгицидов на развитие основных групп почвенных микроорганизмов и динамика

разложения прометрина при его совместном использовании с фунгицидами.

Методика исследований

В модельных опытах почву тщательно перемешивали с пестицидными составами, увлажняли до 60 % ППВ и в течение 3 мес экспонировали при температуре $25 \pm 2^\circ$. Использовали пахотный горизонт дерново-подзолистой среднесуглинистой среднеокультуренной почвы, содержание в нем гумуса составляло 3,2 %, подвижного фосфора — 26 мг, обменного калия — 17 мг на 100 г, $pH_{\text{сол}} = 6,2$. Опыты проводили в 4-кратной повторности в сосудах емкостью 500 мл. Дозы пестицидов соответствовали принятым [9]. В случае применения фунгицидов в качестве протравителей их доза рассчитывалась с учетом того количества, которое вносится с гектарной нормой высева семян.

Исходные нормы препаратов (кг на 1 га): цинеб — 5 и 25, купрозан — 2,4, сера в виде смачивающегося порошка — 15, беномил — 1 и 10, гранозан — 0,5, фентиурам — 0,6, ТМТД — 10, прометрин — 5,4.

Условно принимая массу пахотного горизонта на 1 га 3 млн. кг, рассчитывали дозы пестицидов в миллиграммах действующего вещества на 1 кг почвы и увеличивали их в 10 раз в соответствии с рекомендациями по изучению поведения пестицидов в модельных экспериментах [2]. При этом исходили из того, что в поверхностном слое почвы (1—2 см) вскоре после внесения препарата концентрация его во много раз превышает содержание в пахот-

Численность основных групп почвенных микроорганизмов (тыс. в 1 г сухой почвы) при внесении в почву фунгицидов в разных дозах (мг д. в. на 1 кг почвы)

Дни после обработки	Контроль	Цинеб		Купро- зан, 6,4	Сера, 37,5	Беномил		Урано- зан, 0,04	Фенти- урам, 1,3	
		13,6	66,4			1,65	16,5			
Всего на МПА										
12	10 306	17 920	8 789	7 979	14 000	13 739	10 170	10 581	10 368	
30	5 589	8 149	7 381	23 936	13,739	6 315	3 371	17 621	6 528	
90	2 965	22 272	19 627	11 179	20 799	15 915	10 539	33 413	13 995	
Всего на КАА										
12	4 254	3 588	3 810	3 663	4 216	3 334	580	3 119	4 177	
30	2 697	1 660	408	1 766	4 378	2 436	998	1 075	1 297	
90	3 008	3 128	1 890	2 270	4 109	3 785	3 051	2 774	2 978	
В т. ч. актиномицеты										
12	836	533	414	623	788	755	273	529	450	
30	324	124	107	188	339	413	34	51	26	
90	184	149	132	337	448	328	307	98	312	
Бациллы										
12	947	243	226	205	209	221	198	196	275	
30	294	410	221	410	206	128	128	567	226	
90	297	503	350	311	118	418	213	278	224	
Грибы										
12	44	25	20	38	26	35	30	17	31	
30	70	34	18	41	27	41	32	38	88	
90	39	52	44	44	35	38	24	22	49	
Денитрификаторы										
12	16,6	1,7	0,6	0,6	0,3	1,6	0,7	1,7	7,7	
30	7,7	32,0	32,0	8,8	32,0	7,7	3,2	32,0	76,8	
90	2,6	7,7	7,0	7,7	6,4	7,7	0,6	3,2	16,0	

ном слое после последующего перераспределения.

Основные группы микроорганизмов учитывали в несколько сроков на твердых и жидких средах: общее количество микроорганизмов, использующих органические формы азота, — на МПА; спорообразующих — на МПА+СА; микроскопических грибов — на СА; использующих минеральные формы азота, в том числе актиномицетов, — на КАА; денитрификаторов и азотфиксаторов — на жидких средах Виноградского.

Различия между вариантами по численности микроорганизмов считали существенными, если они составляли 50 % и более [4].

Содержание прометрина в почве определяли методом тонкослойной хроматографии [5]. При этом были внесены некоторые изменения в существующую методику. Так как в почве содержалось заведомо большое количество прометрина, навеска почвы была взята вдвое меньше рекомендуемой. После экстракции прометрина эфиром и его испарения остаток растворяли в Н-гексане и аликвоту наносили на пластинки. Хроматографировали в тонком слое силикагеля.

Результаты и их обсуждение

Микробиологические исследования показали, что фунгициды неодинаково влияли на разные группы почвенных микроорганизмов: стимулировали развитие одних и временно ингибировали другие.

Численность бактерий, усваивающих органические формы азота (МПА), во всех

вариантах опыта через 12 дней после внесения фунгицидов была на уровне контроля (табл. 1), только в варианте с серой она уменьшилась почти в 10 раз. Через 30 дней все фунгициды, кроме беномила в максимальной дозе, стимулировали развитие бактерий, численность которых в этих вариантах в 1,5—4 раза превысила контроль. Через 90 дней стимулирующий эффект еще более увеличился. При повышении дозы цинеба в 5 раз и беномила в 10 раз ингибирующее влияние фунгицидов на численность микроорганизмов рассматриваемой группы отсутствовало. Весьма чувствительными к фунгицидам оказались спорообразующие бактерии. Их численность через 12 дней после внесения фунгицидов снизилась в 3—4 раза. Длительность ингибирующего эффекта у разных фунгицидов была неодинаковой. Численность бацилл в вариантах с купрозаном, цинебом (66,4 мг/кг), гранозаном через 30 дней в 1,5—2 раза превысила контроль, а через 3 мес стабилизировалась на уровне контроля. Фентиурам, беномил (16,6 мг/кг) и сера даже через 3 мес после их внесения несколько подавляли развитие бацилл.

Среди бациллярных форм преобладающими были *Vac. tuncoides*, *Vac. megaterium*, *Vac. idosis*. Из данных видов бацилл наибольшей чувствительностью к фунгицидам отличался *Vac. tuncoides*. Через 12 дней после внесения препаратов этот вид бацилл отсутствовал во всех вариантах, кроме варианта с серой, где его численность была в 7 раз меньше, чем в контроле. Однако

Численность основных групп микроорганизмов (тыс. в 1 г сухой почвы) в контрольном варианте (числитель) и в варианте с ТМТД (знаменатель)

Дни после обработки	Всего на МПА	На КАА		Бациллы	Грибы	Денитрификаторы
		всего	в т. ч. актиномицеты			
7	5376	1466	685	627	1,0	7,7
	4416	1389	499	610	0,4	3,2
40	3136	4190	751	328	2,0	76,8
	2368	3555	252	265	1,0	32,0
90	7040	2658	209	58	5,1	7,7
	7712	4339	260	55	2,8	7,7

уже через месяц численность *Vas. tusoides* в большинстве вариантов, кроме вариантов с купрозаном, цинебом (66,4 мг/кг), беномилом (16,5 мг/кг), восстанавливалась до уровня контроля. Менее чувствительными оказались *Vas. idosis*, *Vas. megaterium*.

Развитие бактерий, усваивающих минеральные формы азота, угнеталось беномилом через 12 дней после его внесения. Через месяц их численность существенно снизилась в вариантах с фентиурамом, цинебом (66,4 мг/кг), беномилом (16,5 мг/кг) и гранозаном. К концу опыта (3 мес) количество микроорганизмов во всех вариантах, кроме варианта с цинебом (66,4 мг/кг), было на уровне контроля.

Действие фунгицидов на актиномицеты во многом зависело от природы соединений и их доз. Так, сера и беномил (1,65 мг/кг) не оказали заметного депрессирующего влияния на актиномицеты через 12 дней после обработки, а через 30 дней стимулировали их развитие. При увеличении дозы беномила в 10 раз развитие актиномицетов значительно подавлялось и их численность уменьшалась соответственно в 3 и 11 раз.

Самое сильное и длительное подавление актиномицетов и грибов отмечалось при внесении гранозана. Численность их даже через 3 мес была в 2 раза ниже, чем в контроле. Фентиурам, купрозан, цинеб временно угнетали развитие актиномицетов — только в первый и второй сроки наблюдения.

Почвенные грибы оказались устойчивыми к фентиураму и беномилу (1,65 мг/кг). Остальные фунгициды через 12 и особенно через 30 дней после их внесения подавля-

ли развитие грибов. Популяция грибов сокращалась в основном из-за уменьшения численности родов *Fusarium* и *Penicillium*. Более устойчивыми к препаратам были грибы рода *Mucor*. К концу опыта по численности грибов варианты со всеми фунгицидами, кроме беномила (16,5 мг/кг) и гранозана, не отличались от контроля.

На денитрифицирующие бактерии фунгициды оказали сильное депрессирующее влияние в первый период после внесения, когда численность этих микроорганизмов снизилась в 2—50 раз. Однако уже через 30 дней она достигла уровня контроля и даже превысила его. Только беномил, внесенный в 10-кратной дозе, угнетающе действовал на эти бактерии даже через 3 мес после внесения.

На анаэробные азотфиксаторы фунгициды не оказали заметного влияния.

Через 7—40 сут после внесения этого препарата несколько снизилась численность гнилостных бактерий, микроорганизмов, использующих минеральные формы азота, бацилл, значительно — актиномицетов, в 2—2,5 раза — грибов и денитрификаторов. Через 3 мес количество микроорганизмов достигло уровня контроля, а ряда групп (гнилостных, использующих минеральные формы азота и актиномицетов) даже превысило его (табл. 2). Ингибирующее действие ТМТД на грибы сохранилось и через 3 мес.

Таким образом, активность изученных фунгицидных препаратов по отношению к почвенной микрофлоре была весьма различной. Почти все соединения оказывали временное ингибирующее действие на микроорганизмы, использующие минеральные

Т а б л и ц а 3

Динамика содержания прометрина в почве

Дни от начала опыта	Прометрин (контроль)		Прометрин + ТМТД		Прометрин + цинеб	
	мг/кг	%	мг/кг	%	мг/кг	%
14	6,7	81,7	7,4	78,0	5,7	69,5
30	3,3	40,2	5,0	61,0	2,5	30,5
60	1,8	22,0	2,6	31,7	1,6	19,5
90	1,2	14,0	2,2	26,8	0,8	9,8

П р и м е ч а н и е. Процентное содержание рассчитано от исходного количества — 8,2 мг/кг.

Таблица 4

Численность почвенных микроорганизмов при внесении в почву прометрина в смеси с фунгицидами (тыс. в 1 г)

Дни после обработки	Конт- роль	Про- метрин	Промет- рин + ТМТД	Промет- рин + ци- неб
Всего на МПА				
14	5376	7360	7360	8576
30	7320	7040	10752	11262
60	6272	7104	6912	11968
В т. ч. <i>Pseudomonas fluorescens</i>				
14	—	—	—	—
30	2176	1984	2368	3712
60	960	1024	704	3776
Всего на КАА				
14	8640	5820	5060	6020
30	8512	8320	8064	7040
60	4864	2368	2240	2048
90	7424	5184	5662	7168
В т. ч. актиномицеты				
14	2300	3180	1840	1980
30	4800	4160	3672	3776
60	1408	896	832	832
90	2688	3138	1037	3008
Бациллы				
14	448	538	449	435
30	301	576	582	524
60	19	52	49	81
90	13	11	8	8
Грибы				
14	7,0	11,7	3,1	5,0
30	2,7	3,9	1,0	2,7
60	1,0	5,4	0,8	1,5
90	4,7	4,6	2,9	2,4

формы азота, на бациллы, грибы, актиномицеты, денитрификаторы и стимулировали развитие бактерий, использующих органические формы азота.

Следовательно, при совместном применении гербицидов и фунгицидов последние могут усиливать или ослаблять микробиологическую активность почвы и тем самым изменять инактивацию гербицидов.

При изучении влияния фунгицидов на разложение прометрина на 1 кг почвы было внесено 9 мг д. в., а при определении его начального содержания обнаружено 8,2 мг. Отсюда можно заключить, что полнота определения была достаточно высокой и составила 91 %. ТМТД в этом опыте вносили в количестве 26,6 мг, цинеб — 8,5 мг на 1 кг.

Через 2 нед содержание прометрина в почве уменьшилось на 18—30 % и особенно значительно в варианте с цинебом (табл. 3).

Различия между вариантами в интенсивности разложения гербицида еще более четко проявились через 30 дней. В этот период содержание прометрина в контроле снизилось на 60 % от первоначального, а при совместном экспонировании с цине-

бом — на 70 %. Напротив, ТМТД замедлял разложение прометрина и его содержание в данном варианте уменьшилось лишь на 40 %.

Отмеченные особенности воздействия цинеба и ТМТД на инактивацию прометрина сохранились и в последующий период. В результате через 3 мес в варианте с ТМТД сохранилось еще 27 % гербицида, в то время как в присутствии второго фунгицида — 10 %. Период полураспада прометрина в варианте с одним этим гербицидом составил 26 дней, в варианте прометрин + ТМТД — 40,7, с цинебом — 22 дня. Замедление детоксикации прометрина в присутствии ТМТД наблюдалось и другими исследователями [16].

В настоящее время предполагается, что метилтиотриазины, представителем которых является прометрин, разлагаются преимущественно микроорганизмами. Это подтверждается большей устойчивостью их к химическому гидролизу и меньшей продолжительностью сохранения в почве, чем хлортриазинов [13]. Определенную роль в инактивации метилтиотриазинов играют грибы, в частности рода *Aspergillus* [1, 13]. Показано, что метилтиогруппа прометрина может быть использована грибами в качестве источника питания серой.

По многочисленным данным [1], прометрин не оказывает существенного влияния на численность и состав почвенных микроорганизмов, но при повторном внесении прометрина в течение 2 и особенно 3 лет отмечалось [10] значительное подавление как грибной, так и бактериальной микрофлоры.

В наших опытах численность и состав почвенных микроорганизмов при внесении одного прометрина существенно не изменились (табл. 4). Однако во все сроки определения, кроме 3 мес, резко (в 1,5—4 раза) возросла численность грибов, что косвенно свидетельствует об их участии в разложении прометрина.

При совместном применении прометрина с ТМТД в 60-дневный срок отмечено подавление гнилостных микроорганизмов *Pseudomonas fluorescens*, численность актиномицетов была ниже, чем в контроле, во все сроки наблюдения. При внесении ТМТД развитие грибов сильно угнеталось, о чем также свидетельствуют и данные табл. 2. Их численность уменьшалась в 1,5—2 раза по сравнению с контролем и в 3—4 раза по сравнению с вариантом, где применяли только гербицид.

Использование совместно с прометрином цинеба приводило к росту численности аммонификаторов (МПА), при этом количество *Pseudomonas fluorescens* было в 2—3 раза выше, чем в варианте с прометрином.

Грибы подавлялись цинебом в меньшей степени, чем при обработке ТМТД, их численность находилась на уровне контроля.

Оба эти препарата относятся к производным дитнокарбаминовой кислоты, и при их разложении выделяются сероуглерод и этилендиамин. Данные соединения обладают фунгицидным действием и вызывают частичную стерилизацию почвы [8].

Наблюдаемые в опыте различия в действии ТМТД и цинеба, по-видимому, связаны с неодинаковой концентрацией фунгицидов

в почве и разным спектром их действия на микроорганизмы.

Закключение

Почти все испытанные фунгициды оказали временное ингибирующее действие на микроорганизмы, использующие минеральные формы азота, бактерии, грибы, актино-

мицеты, денитрификаторы и стимулировали развитие бактерий, использующих органические формы азота. При определении динамики содержания в почве прометрина, внесенного вместе с фунгицидами ТМТД и цинебом, установлено, что ТМТД снижает интенсивность разложения гербицида в большей степени, чем цинеб. Это связано с разным воздействием фунгицидов на микрофлору почвы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Волков А. И. Пестициды и окружающая среда: симметриазины. — Химия в сельск. хоз-ве, 1975, № 12, с. 41—51.
2. Галиулин Р. В., Соколов М. С. Биоразложение пестицидов и прогнозирование их содержания в почве. — Защита растений, 1979, № 4, с. 27—31.
3. Короткова О. А. Пестициды и окружающая среда. М.: Химия, 1977.
4. Корягина Л. А., Вавуло В. Ф., Тихонович З. К. Оценка достоверности количественных показателей, характеризующих биологическую активность почвы в условиях многолетних стационарных опытов. — Почвовед. и агрохим. Минск, 1975, вып. 12, с. 96—100.
5. Методы определения микроколичеств пестицидов. М.: Колос, 1977, с. 262—264.
6. Нематов Г. К., Мадумарова Э. Х. Влияние беномила и удобрений на биологическую активность сероземов. — Химия в сельск. хоз-ве, 1982, № 2, с. 57—58.
7. Пересыпкин В. Ф., Кириленко Т. С., Аль-Ахмед М. А. Действие фунгицидов на грибы рода *Aspergillus*. — Химия в сельск. хоз-ве, 1978, № 8, с. 62—64.
8. Поулсон Д. С. Влияние обработки биоцидами на почвенные организмы. — В сб.: Почв. микробиол. М.: Колос, 1979, с. 237—267.
9. Список химических и биологических средств борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками, разрешенных для применения в сельском хозяйстве на 1979 г. — Госхимкомиссия при МСХ СССР, 1979.
10. Химик Л. Н., Бондаренко Т. И., Карпова Г. Я. Влияние трехлетнего применения прометрина на продуктивность котовника закавказского и микрофлору почвы. — Химия в сельск. хоз-ве, 1979, № 2, с. 43—46.
11. Alexander M. — *Soil Biology Revs*, 1969, vol. 9, UNESCO, p. 209—240.
12. Good I. M., Carter R. H. — *Phytopathol.*, 1965, vol. 55, N 10, p. 1147—1150.
13. Kaufman D. D., Kearney P. C. — *Residue Rev.*, 1970, vol. 32, p. 235—265.
14. Murray D. S., Riesk W. L., Lund L. G. — *Appl. Microbiol.*, 1970, vol. 19, N 1, p. 11—13.
15. Tu C. M. — *Appl. Microbiol.*, 1972, vol. 23, N 2, p. 338—340.
16. Wagenbreth D., Klug E. — *Archiv Für Pflanzenschutz*, 1971, Bd 7, N 8, S. 451—459.

SUMMARY

Model experiments studied the influence of fungicides, such as fenthiurame, cuprozone, zineb, benomile, sulphur, granozane on the development of soil microorganisms. Almost all fungicides temporarily inhibit the microorganisms using mineral forms of nitrogen, bacillae, fungi, actinomycetes, denitrifiers; they stimulate the development of bacteria found on meat-peptone agar. Tetramethylthiuram-disulphide reduced the intensity of prometryne decomposition in the soil, the application of zineb somewhat increased the inactivation of prometryne. Unequal influence of fungicides on the decomposition of prometryne in the soil is due to their different effect on microflora.