

Sławomir Sułowicz<sup>1\*</sup>, Zofia Piotrowska-Seget<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski

Wpłynęło w lutym 2015 r.  
Zaakceptowano w marcu 2015 r.

1. Charakterystyka fungicydów. 2. Wpływ presji fungicydowej na ekosystem glebowy. 3. Oddziaływanie fungicydów na mikroorganizmy glebowe. 4. Triazole – charakterystyka i wpływ na ekosystem glebowy. 5. Podsumowanie

#### The impact of fungicides on soil microorganisms

**Abstract:** Modern agriculture depends heavily on pesticides, including fungicides. Fungicides such as triazoles, when applied every year, may accumulate in soils leading to the development of resistance to the applied compounds and subsequently to the spread of resistance genes to other fungi. Additionally, fungicides can impact non-target soil microorganisms by reducing their biomass, changing microbial activity, and altering functional and structural diversity of bacterial and fungal communities. Soil quality is closely linked to the microbial activity, therefore, the effects of fungicides on non-target soil microorganisms increase concerns about the fertility of soil. This new knowledge about specific interaction between fungicides and soil microorganisms has to be taken into consideration in designing a new strategy for soil protection.

1. Fungicides. 2. The influence of fungicide pressure on soil ecosystem. 3. The impact of fungicides on soil microorganisms. 4. Triazoles – their characteristic features and influence on soil ecosystem. 5. Conclusions

---

**Słowa kluczowe:** fungicydy, gleba, triazole, zespół mikroorganizmów

**Key words:** fungicides, microbial community, soil, triazoles

---

## 1. Charakterystyka fungicydów

Jednym z największych zadań stojących przed współczesnym rolnictwem jest wyżywienie wzrastającej liczby ludności. Ponieważ powierzchnia gruntów rolnych, które można wykorzystać pod uprawy, jest ograniczona, konieczne staje się zwiększanie wydajności produkcji rolnej. Do osiągnięcia tego celu stosuje się nawozy oraz środki ochrony roślin określane wspólnym mianem pestycydów (z łac. *pestis* – szkodnik, *cedeo* – niszczyć). Wśród związków wykorzystywanych jako środki ochrony roślin są zarówno substancje pochodzenia naturalnego, syntetyczne [3], jak również preparaty zawierające żywe organizmy lub ich metabolity, tzw. biopestycydy [6].

Jedną z najważniejszych i najczęściej stosowanych grup pestycydów są fungicydy, których blisko połowa światowego zużycia przypada na Europę [8]. Fungicydy stosowane są w rolnictwie do zapobiegania i zwalczania chorób roślin użytkowych wywoływanych przez grzyby. Spośród 462 dopuszczonych do stosowania w krajach Unii Europejskiej środków ochrony roślin, w 135 substancja aktywna charakteryzuje się właściwościami przeciugrzybicznymi [14]. Zużycie fungicydów w Europie w 2010 roku, obliczane przez ECPA (European Crop Protection Association, Europejskie Stowarzyszenie Ochrony Roślin), organizację reprezentującą

producentów środków ochrony roślin z 28 europejskich krajów, szacowane jest na ponad 100 000 ton [15].

Istnieje wiele sposobów klasyfikacji fungicydów. Za kryterium podziału przyjmuje się m.in. docelowe miejsce działania związku w komórce patogenu, budowę chemiczną środków grzybobójczych czy też ich toksyczność [3, 51]. Powołana w 1981 roku przez producentów środków ochrony roślin organizacja FRAC (Fungicide Resistant Action Committee), monitorująca pojawianie się grzybów opornych na stosowane fungicydy, klasyfikuje fungicydy ze względu na 10 możliwych mechanizmów działania (tab. I). Klasyfikacja ta obejmuje ponadto fungicydy działające na wiele miejsc w komórce jednocześnie, jak również grupę pestycydów, dla których nie jest zdefiniowany mechanizm działania [17].

Fungicydy klasyfikuje się także ze względu na budowę chemiczną związku, będącego substancją aktywną stosowanego preparatu pestycydowego. Wśród związków wykorzystywanych jako fungicydy są zarówno związki nieorganiczne, np. związki miedzi, jak i różne grupy związków organicznych [3]. Spośród tych ostatnich do 100 najważniejszych grup wykorzystywanych w rolnictwie i sadownictwie zalicza się m.in. triazole, będące najliczniejszą grupą fungicydów, strobiluryny, ditiokarbaminiany, imidy kwasu ftalowego czy związki benzimidazolowe [8].

---

\* Autor korespondencyjny: Katedra Mikrobiologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski, ul. Jagiellońska 28, 40-032 Katowice; tel. 32 2009 357; e-mail: slawomir.sulowicz@us.edu.pl

Tabela I  
Klasyfikacja fungicydów ze względu na sposób działania wg FRAC [17]

Symbol grupy	Cel działania fungicydu	Wybrane grupy	Przykładowy fungicyd
A:	synteza kwasów nukleinowych	pochodne acylalaniny	<i>mefenoksam, metalaksyl</i>
B:	mitoza i podział komórki	benzimidazole	<i>benomyl, karbendazym, tiabendazol</i>
		tiofanaty	<i>tiofanat metylowy</i>
		pochodne fenylmoczniaka	<i>pencykuron</i>
		N-fenylkarbaminiany	<i>dietofenkarb</i>
C:	oddychanie	strobiluryny	azoksystrobina
		karboksyanilidy	karboksyna
		2,6-dinitroaniliny	fluazynam
D:	synteza aminokwasów i białek	anilinopirymidyny	cyprodynil
E:	transdukcja sygnału	dikarboksymidy	<i>iprodion</i>
F:	synteza lipidów i błon komórkowych	fosforotiolany	<i>kitazin (iprobenfos)</i>
G:	biosynteza steroli	pirymidyny	<i>nuarimol</i>
		imidazole	<i>prochloraz</i>
		triazole	<i>difenokonazol, epoksykonazol, fenbukonazol, heksakonazol, penkonazol, propikonazol, tebukonazol, tetrakonazol, triadimefon, tritikonazol</i>
		morfoliny	fenpropimorf
H:	biosynteza ściany komórkowej	pochodne kwasu cytrynowego	<i>dimetomorf</i>
I:	synteza melaniny w ścianie komórkowej	triazolobenzotiazole	tricyklazol
P:	indukcja roślinnych mechanizmów obronnych	tiadiazole	izotianil
-	nieznany sposób działania	tiokarbaminiany	metasulfokarb
-	wielomiejscowy sposób działania	chinony	<i>ditianon</i>
		imidy kwasu ftalowego	<i>kaptafol, kaptan</i>
		ditiokarbaminiany	<i>mankozeb, tiram</i>
		chloronitryle	<i>chlorotalonil</i>

Kursywą zaznaczono fungicydy wymienione w tekście.

Inny użyteczny sposób podziału pestycydów, w tym fungicydów, grupuje je ze względu na stopień ich toksyczności. Klasyfikacja ta umożliwia szybką identyfikację potencjalnego zagrożenia, jakie niesie ze sobą stosowanie środków ochrony roślin dla zdrowia i życia ludzi. Przykładowo, WHO wyróżnia cztery klasy toksyczności. Do klasy związków skrajnie toksycznych (Ia) zaliczono 28 pestycydów, spośród których cztery – kaptafol, heksachlorobenzen, chlorek rtęci i octan fenylortęci – to związki o właściwościach przeciwwgrzybiczych [51].

## 2. Wpływ presji fungicydowej na ekosystem glebowy

Z uwagi na sezonowe występowanie chorób grzybowych, związki wykorzystywane do zwalczania grzybów patogennych roślin stosowane są na tym samym terenie rok rocznie, często wielokrotnie w trakcie sezonu. Regularne wprowadzanie fungicydów do środowiska może prowadzić do ich akumulacji w glebie. Związki te

pozostając w ekosystemie przez dłuższy czas, zwiększają swój negatywny wpływ na jego funkcjonowanie [18].

W kontekście funkcjonowania ekosystemów najważniejsze znaczenie mają dawki subletalne i stężenia resztkowe pestycydów. Dawki subletalne osiągnęte są w środowisku w wyniku stosowania ilości pestycydu, która nie wywołuje zamierzonego efektu biobójczego, bądź powstają na skutek rozproszenia wprowadzonego do środowiska środka ochrony roślin. Nie powodują śmierci organizmu, ale przyczyniają się do selekcji organizmów (mutantów) charakteryzujących się zmniejszoną wrażliwością na pestycyd [8]. W konsekwencji prowadzi to do rozprzestrzenienia się w populacji genów warunkujących oporność na stosowany pestycyd. Zjawisko zmniejszającej się wrażliwości na środki ochrony roślin dotyczy między innymi mikroorganizmów, takich jak bakterie i grzyby. Organizmy te, z uwagi na krótki czas generacji mają duży potencjał powstawania mechanizmów oporności na środki ochrony roślin. U grzybów nowe mechanizmy

oporności powstają głównie poprzez mutacje i późniejszy proces selekcji, podczas gdy bakterie uzyskują geny warunkujące oporność głównie poprzez wymianę materiału genetycznego na drodze horyzontalnego transferu genów [21].

Wpływ dawek subletalnych wiąże się nie tylko ze zjawiskiem nabywania oporności na stosowane pestycydy. Wśród organizmów narażonych na wpływ pestycydów obserwowane jest zjawisko tzw. oporności krzyżowej, kiedy to rozwój oporności na jeden ze stosowanych środków ochrony roślin zapewnia jednoczesną oporność na inny pestycyd [9]. Takie zjawisko jest możliwe, gdy istnieje wspólny mechanizm oporności na dany związek, np. system transportu pestycydów z komórki (oporność krzyżowa) lub gdy geny, kodujące mechanizmy warunkujące oporność na dwa różne związki, zlokalizowane są na tym samym elemencie genetycznym, np. plazmidzie [4]. Obserwowano patogenne szczepy grzybów opornych na benomyl, charakteryzujące się także opornością na inne fungicydy z grupy benzimidazoli jak karbendazym, tiabendazol czy tiofanat metylowy [9]. Zjawisko współwystępowania oporności na różne związki jest także odpowiedzialne za rozprzestrzenianie się, pod wpływem presji środowiskowej powstałej w wyniku stosowania pestycydów, oporności na antybiotyki [48]. Możliwa jest także negatywna oporność krzyżowa, gdy zmiana prowadząca do nabycia przez organizm oporności na jeden fungicyd powoduje zwiększenie wrażliwości na inny (karbendazym i dietofenkarb) [9, 27, 28].

Drugim, obok dawek subletalnych, ważnym czynnikiem wpływającym na funkcjonowanie zespołu mikroorganizmów glebowych są stężenia resztkowe, czyli pozostałość pestycydu w środowisku po jego aplikacji. Główną metodą aplikacji fungicydów jest oprysk [8]. Jak się szacuje, mniej niż 0,1% stosowanego pestycydu osiąga swój cel, co sprawia, że większość aplikowanych pestycydów dostaje się bezpośrednio, bądź pośrednio wraz z deszczem do gleby [42, 43]. Oddziałując z jej elementami, stanowią potencjalne zagrożenie dla organizmów niebędących celem ich działania [52]. Jednak ocenę potencjalnego wpływu fungicydów na mikroorganizmy glebowe utrudnia plastyczność reakcji bakterii i grzybów na jego obecność w środowisku glebowym. Z powodu małych rozmiarów mikroorganizmów stosunek powierzchni do objętości komórki jest wysoki, co znaczy, że mikroorganizmy charakteryzują się dużą powierzchnią oddziaływania ze środowiskiem. Z tego powodu odpowiedź mikroorganizmów na wprowadzenie do środowiska nowej substancji jest szybka i czuła, a wielokrotne wprowadzanie do środowiska danego środka ochrony roślin wspomaga adaptację mikroorganizmów do niego. Obserwowany później brak reakcji zespołu mikroorganizmów glebowych na ponowną aplikację pesty-

cydu może być związany z rozwinięciem zdolności mikroorganizmów glebowych do szybszej degradacji danego środka, bądź nabytą tolerancją zespołu mikroorganizmów na pestycyd [25].

### 3. Oddziaływanie fungicydów na mikroorganizmy glebowe

Pomimo dużej zdolności mikroorganizmów glebowych do adaptacji i szybkiej ewolucji w wyniku presji fungicydowej, ich wpływ na mikroorganizmy niebędące celem działania środków ochrony roślin budzi obawy [11, 23]. Jakość i żyzność gleby jest ściśle związana z aktywnością mikroorganizmów glebowych – bakterii i grzybów. Mikroorganizmy te odgrywają kluczową rolę w obiegu pierwiastków, w tym węgla, azotu, fosforu czy siarki, jak również w procesach tworzenia gleby [5]. Liczne grupy bakterii zasiedlające ryzosferę biorą udział w promowaniu wzrostu roślin poprzez wydzielanie enzymów i hormonów wspomagających wzrost roślin, wydzielanie sideroforów ułatwiających wiązanie żelaza, jak również chronią przed patogenami [19, 31, 45]. Tym samym zmiany w obrębie zespołów mikroorganizmów glebowych powstałe pod wpływem wprowadzenia do środowiska fungicydów mogą negatywnie wpływać na żyzność gleby, a w konsekwencji prowadzić do spadku produkcji plonów [11].

Wyniki wielu badań wskazują, że stosowanie fungicydów może skutkować naruszeniem stabilności zespołu mikroorganizmów glebowych objawiającym się m.in. spadkiem liczebności mikroorganizmów niebędących celem działania fungicydu. Zmniejszenie liczebności niepatogennych saprofitycznych grzybów glebowych obserwowano m.in. w przypadku wprowadzenia do gleby fungicydów takich jak ditianon [29], pencykuron [40, 41] czy prochloraz [50]. Zmniejszenie biomasy mikroorganizmów notowano także pod wpływem tebukonazolu [37], pencykuronu stosowanego do ochrony upraw ryżu [41] czy w wyniku długotrwałej aplikacji fungicydów opartych na związkach miedzi [54]. Toksyczny efekt w stosunku do bakterii zasiedlających tereny podmokłe i osady denne wykazywały także fungicydy tiram, kaptan i benomyl [33]. Ahemad i Khan [1] wykazali hamujący wpływ fungicydów (heksakonazolu, metalaksylu i kitazinu) na wzrost i aktywność bakterii promujących wzrost roślin (PGPB, plant growth promoting bacteria) z rodzaju *Rhizobium*. W wyniku stosowania rekomendowanych przez producenta dawek pestycydów obserwowano także ich hamujący wpływ na proces bakteryjnej syntezy auksyn i sideroforów.

Fungicydy mogą także wpływać na aktywność enzymatyczną gleby. Zmniejszenie ogólnej aktywności enzymatycznej gleby mierzonej jako zdolność do rozkładu

dwuoctanu fluoresceiny (FDA) obserwowano w glebie traktowanej iprodionem [34], a krótkotrwały spadek odnotowano w glebie traktowanej pencykuronem [40, 41]. Pod wpływem ditianonu obserwowano spadek aktywności enzymatycznej mierzonej jak zdolność redukcji dimetylosulfotlenku (DMSO) do siarczku dimetylu (DMS) [29], natomiast zmniejszenie aktywności dehydrogenazy stwierdzono w glebach traktowanych azoksytrobinem, chlorotalonilem i tebukonazolem [7, 49], mefenoksamem czy metalaksylemem [35]. Tebukonazol powodował także spadek aktywności ureazy, arylsulfatazy,  $\beta$ -glukozydazy i fosfatazy zasadowej w glebie badanej przez Muñoz-Leoz i wsp. [37]. Spadek aktywności ureazy, fosfatazy kwaśnej i inwertazy obserwowano również w glebach pochodzących z sadu opryskiwanego fungicydami [54]. Negatywny wpływ fungicydów na aktywność fosfataz obserwowano w glebach traktowanych kaptanem [44], benomyłem [10] czy mieszaniną mankozebu i dimetomorfu [12]. Stosowanie fungicydów może prowadzić także do zaburzenia przemian związków azotowych [59]. Odnotowano, że tiram i kaptan powodowały zmniejszenie tempa procesu denitryfikacji [33], a tebukonazol w ciągu pierwszych 30 dni eksperymentu powodował zaburzenia procesu nityfikacji [37]. Z drugiej strony wykazano, że w odpowiedzi na wprowadzenie niektórych fungicydów do środowiska obserwowany jest wzrost aktywności enzymatycznej mikroorganizmów. Zwiększenie aktywności dehydrogenazy, ureazy,  $\beta$ -glukozydazy i fosfatazy obserwowano w odpowiedzi na wprowadzenie do gleby prochlorazu [50]. W glebie traktowanej fluazinamem obserwowano wzrost aktywności chitynaz i  $\alpha$ -glukozydaz, chociaż towarzyszył temu spadek aktywności aminopeptydazy leucynowej [38].

Aplikacja fungicydów może przyczyniać się do zmiany funkcjonalnej bioróżnorodności bakteryjnych zespołów [30, 37, 56], zmniejszenia bioróżnorodności zespołów mikroorganizmów i zmiany struktury zespołów mikroorganizmów glebowych [23]. Przykładowo kaptan powodował zmiany w strukturze zespołu bakterii zasiedlających osady denne [58]. Natomiast Yen i wsp. [60] obserwowali wpływ triadimefonu i propikonazolu na strukturę zespołu bakterii, który był widoczny po 2 miesiącach od aplikacji. Wykazano również zmiany w strukturze zespołu bakterii i redukcję bioróżnorodności mikroorganizmów glebowych powstałą w wyniku wielokrotnej aplikacji karbendazymu [55]. Konsekwencją wyżej wymienionych zmian zachodzących w zespole mikroorganizmów glebowych może być spadek tempa procesów odpowiedzialnych za mikrobiologiczną degradację pestycydów w glebie. Udowodniono, że aplikacja fungicydu chlorotalonilu do gleby powodowała wzrost trwałości herbicydów w glebie – czterokrotny w przypadku izoproturonu [16] oraz dwukrotny w przypadku metalochloru [57].

Należy jednak zaznaczyć, że w wielu opisywanych w literaturze przypadkach negatywny wpływ pestycydów na ekosystem glebowy obserwowany był w sytuacji narażenia mikroorganizmów na dawki znacznie przewyższające stężenia zalecane przez producenta. Często wpływ fungicydów stosowanych w rekomendowanych dawkach na mikroorganizmy glebowe był niewielki bądź krótkotrwały [23, 40, 50, 56, 57]. Ponadto obserwowany wpływ fungicydów na funkcjonowanie ekosystemów glebowych może też być mniejszy niż to wynika z przewidywań dokonanych w oparciu o wyniki badań toksyczności związku. Chociaż badania mogą wskazywać na wysoką toksyczność testowanego związku w stosunku do konkretnego szczepu lub grupy mikroorganizmów, jednak jego wprowadzenie do środowiska może nie mieć istotnego wpływu na funkcjonowanie ekosystemu. Dzieje się tak w przypadku, gdy inne mikroorganizmy przejmują rolę fizjologiczną tych, które na skutek zanieczyszczenia pestycydami wypadły ze składu zespołu mikroorganizmów [32].

#### 4. Triazole – charakterystyka i wpływ na ekosystem glebowy

Najliczniejszą grupą fungicydów wykorzystywanych w rolnictwie i w sadownictwie są związki z grupy azoli. Fungicydy azolowe zapobiegają rozwojowi patogennych grzybów takich jak *Podosphaera leucotricha*, *Venturia inaequalis*, *Mycosphaerella fragariae*, *Oidium lycopersicum*, *Cercospora beticola* czy grzybów z rodzaju *Fusarium*. Do najczęściej stosowanych fungicydów z grupy azoli należą triazole [53]. Mechanizm ich działania polega na hamowaniu zależnej od cytochromu P<sub>450</sub> 14 $\alpha$ -demetylasy lanosterolu, w wyniku czego dochodzi do zahamowania biosyntezy ergosterolu [2, 9].

Jednym ze środowisk silnie narażonych na długotrwały wpływ fungicydów triazolowych są sady. Prowadzenie sadów wiąże się z koniecznością aplikacji pestycydów o podobnym zakresie działania na tym samym obszarze przez wiele lat [54]. Jednakże częste stosowanie fungicydów z tej grupy może prowadzić do pojawiania się szczepów charakteryzujących się mniejszą wrażliwością na stosowane triazole [8, 9]. Holb i Schnabel [22] wykazali, że szczepy grzybów *Monilinia fusicola* izolowane z gleby z sadu brzoskwiniowego, w którym od 10 lat stosowano triazole, charakteryzowały się mniejszą wrażliwością na fenbukonazol, tebukonazol oraz propikonazol w porównaniu do szczepu izolowanego z terenu, gdzie triazole nie były stosowane.

Azole zaliczane są do fungicydów charakteryzujących się średnim ryzykiem wystąpienia oporności u grzybów. Uważa się, że do pojawienia się szczepów opornych konieczne jest występowanie w komórce jednocześnie kilku mechanizmów oporności [9]. Szczepy

grzybów tracą wrażliwość na triazole dzięki usuwaniu ich cząsteczek z komórki z wykorzystaniem transporterów ABC (superrodziny białek transportowych odpowiedzialnych za usuwanie z komórki m.in. metali czy antybiotyków) oraz nadprodukcji hamowanej 14 $\alpha$ -demetylasy lanosterolu. Ponadto możliwa jest także zmiana w strukturze następnego enzymu szlaku biosyntezy sterolu, 5-6-desaturazy sterolu, która umożliwia przekształcanie metylowanego substratu [13, 47].

Badania dotyczące fungicydów z grupy triazoli wskazują, że ich stosowanie może prowadzić także do powstania oporności krzyżowej. Karaoglanidis i Thannassouloupoulos [24] obserwowali oporność krzyżową na różne fungicydy triazolowe u grzyba *Cercospora beticola* (chwościk burakowy). Zjawisko to obserwowano również u szczepów *Cercospora beticola*, których oporność na tetrakonazol była wynikiem mutagenozy indukowanej światłem UV. W tym przypadku grzyby charakteryzowały się dodatkowo opornością na inne triazole – difenokonazol i penkonazol oraz fungicyd pirymidynowy nuarimol [36].

Badania Hayashi i wsp. [20] nad opornością na okspokonazol u wywołującego pleśń szarą grzyba *Botrytis cinerea* wskazują, że zmniejszeniu jego wrażliwości na stosowany fungicyd towarzyszy wzrost ekspresji genu kodującego białko BcatrD, będącego transporterem ABC. Wzrost ekspresji genu kodującego to białko obserwowano także pod wpływem iprodionu (dikarboksymid) oraz karbendazymu (benzimidazol), jak również antybiotyku cykloheksymidu. Wyniki te wskazują, że powstała pod wpływem triazoli wielooporność może obniżać także skuteczność pestycydów należących do innych grup chemicznych, jak również sprzyjać rozprzestrzenianiu się antybiotykooporności. Na korelację między stosowaniem pestycydów a opornością grzybów na antybiotyki wskazuje też Verweij i wsp. [53]. Spośród izolowanych od pacjentów w Holandii opornych na azole patogennych szczepów *Aspergillus fumigatus*, 94% charakteryzowało się tym samym rodzajem mechanizmu oporności. Obejmował on substytucję leucyny na histydynę w kodonie 98 genu *cyp51A*, kodującego 14- $\alpha$ -demetylazę i wstawienie 34-zasadowego tandemowego powtórzenia w obrębie promotora. Autorzy sugerują, że kliniczne szczepy grzybów nabyły tę zdolność w wyniku stosowania fungicydów azolowych w rolnictwie. Hipotezę tę wspiera fakt, że większość szczepów izolowanych z gleby użytkowanej rolniczo posiada ten sam mechanizm oporności, co szczepy izolowane od pacjentów. Przytoczone przez autorów statystyki wskazują, że chociaż zużycie pestycydów w krajach Unii Europejskiej zmniejszyło się w ostatnich dziesięcioleciach, to zużycie fungicydów w Holandii w latach 1995–2007 utrzymywało się na stałym poziomie, a ilość stosowanych w tym czasie triazoli nawet się podwoiła. Przykładowo, w 2004 roku

ilość stosowanych w Holandii związków azolowych w rolnictwie była około 320 razy większa od stosowanej w lecznictwie. Prowadzi to do powstania silnej presji selekcyjnej sprzyjającej rozwojowi i rozprzestrzenianiu się skutecznego mechanizmu oporności na azole.

Wykazano także, że niektóre fungicydy hamujące syntezę ergosterolu (SBI, sterol biosynthesis inhibitors) zwiększają toksyczny efekt insektycydów z grupy pyretroidów. Mieszanina  $\alpha$ -cypermetryny z epoksykonazolem lub propikonazolem powodowała 6–7-krotny wzrost toksyczności w środowisku wodnym względem *Daphnia magna* w porównaniu do wartości spodziewanej na podstawie modelu teoretycznego [39].

Wykorzystanie triazoli w rolnictwie i sadownictwie wpływa także na bakterie zasiedlające gleby. Mimo że w skład błon bakteryjnych nie wchodzi sterole, fungicydy należące do azoli mogą wywierać wpływ na te mikroorganizmy. Przykładowo obserwowano długoterminowy wpływ triadimefonu na strukturę zespołu bakteryjnego, natomiast stosowanie tritikonazolu stymulowało namnażanie się bakterii w glebie. W przypadku aplikowania do gleby propikonazolu notowano zmniejszenie aktywności enzymatycznej bakterii [59].

## 5. Podsumowanie

Skażenie środowiska glebowego przez środki ochrony roślin jest jednym z wielu negatywnych aspektów działalności rolniczej prowadzonej przez człowieka. Obok rozwoju miast i skutków działalności przemysłowej przyczynia się ona do degradacji i zanieczyszczenia gleb w wielu miejscach Europy. Według szacunków Unii Europejskiej, ponad 115 milionów hektarów narażonych jest na erozję wodną, kolejne 42 miliony hektarów na erozję powietrzną, a około 3,5 miliona miejsc w Europie określa się jako potencjalnie zanieczyszczone [26]. Dane te skłoniły do podjęcia działań, mających na celu kompleksową ochronę gleby. Przyjęta 13 listopada 2007 roku przez Parlament Europejski rezolucja Komisji Europejskiej w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby „Towards a Thematic Strategy for Soil Protection” zobowiązuje kraje członkowskie do utworzenia ramowego prawodawstwa regulującego ochronę i określającego kierunki zrównoważonego użytkowania gleby, w tym utrzymania biologicznej bioróżnorodności środowiska glebowego. Przyjęta strategia zobowiązuje także do prowadzenia badań dotyczących metod rekultywacji, zapobiegania dalszej degradacji gleb oraz wprowadzenie monitoringu jakości gleb, z uwzględnieniem nie tylko fizykochemicznych, ale i biologicznych parametrów. Tym samym szczególnie ważne stają się badania mające na celu zrozumienie interakcji między organizmami zasiedlającymi glebę, a wprowadzanymi do środowiska ksenobiotykami, takimi jak pestycydy [46].

### Podziękowania

Artykuł powstał w wyniku realizacji projektu finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/N/NZ9/00245.

### Piśmiennictwo

- Ahemad M., Khan M.S.: Effects of insecticides on plant-growth-promoting activities of phosphate solubilizing rhizobacterium *Klebsiella* sp. Strain PS19. *Pestic. Biochem. Physiol.* **100**, 51–56 (2011)
- Amer M.M., Shehata M.A., Lotfy H.M., Monir H.H.: Determination of tetraconazole and diniconazole fungicide residues in tomatoes and green beans by capillary gas chromatography. *Yakugaku Zasshi*, **127**, 993–999 (2007)
- Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.-C., García-Río L.: The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agric. Ecosyst. Environ.* **123**, 247–260 (2008)
- Baker-Austin C., Wright M.S., Stepanauskas R., McArthur J.V.: Co-selection of antibiotic and metal resistance. *Trends Microbiol.* **14**, 176–182 (2006)
- Barrios E.: Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecol. Econ.* **64**, 269–285 (2007)
- Bateman R.: Rational pesticide use: spatially and temporally targeted application of specific products (w) Optimising Pesticide Use, red. M.F. Wilson, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2003, s. 131–159
- Bending G., Rodriguez-Cruz M.S., Lincoln S.D.: Fungicide impacts on microbial communities in soils with contrasting management histories. *Chemosphere*, **69**, 82–88 (2007)
- Brent K.J., Hollomon D.: Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC, Monograph No. 1 (second, revised edition), 2007, <http://www.frac.info/publications/downloads> (11.02.2015)
- Brent K.J., Hollomon D.: Fungicide resistance: the assessment of risk. FRAC Monograph No. 2 (second, revised edition), 2007, <http://www.frac.info/publications/downloads> (11.02.2015)
- Chen S.-K., Edwards C.A., Subler S.: Effects of the fungicides benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biol. Biochem.* **33**, 1971–1980 (2001)
- Chowdhury A., Pradhan S., Saha M., Sanyal N.: Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian J. Microbiol.* **48**, 114–127 (2008)
- Cycoń M., Piotrowska-Seget Z., Kozdrój J.: Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils. *Int. Biodeter. Biodegr.* **64**, 316–323 (2010)
- de Waard M.A., Andrade A.C., Hayashi K., Schoonbeek H., Stergiopoulos I., Zwiers L.: Impact of fungal drug transporters on fungicide sensitivity, multidrug resistance and virulence. *Pest. Manag. Sci.* **62**, 195–207 (2006)
- EU Pesticides Database, [http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/database\\_act\\_subs\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/database_act_subs_en.htm) (11 lutego 2015 roku)
- European Crop Protection Association, <http://www.ecpa.eu/information-page/industry-statistics-ecpa-total> (11.02.2015)
- Fogg P., Boxall A.B.A., Walker A.: Degradation of pesticides in biobeds: The effect of concentration and pesticide mixtures. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 5344–5349 (2003)
- FRAC Code List 2014: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering), <http://www.frac.info> (11.02.2015)
- Gevao B., Semple K.T., Jones K.C.: Bound pesticide residue in soils: a review. *Environ. Pollut.* **108**, 3–14 (2000)
- Glick B.R.: Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotech. Adv.* **28**, 367–374 (2010)
- Hayashi K., Schoonbeek H., Sugiura H., De Waard M.A.: Multi-drug resistance in *Botrytis cinerea* associated with decreased accumulation of the azole fungicide oxpoconazole and increased transcription of the ABC transporter gene *Bcatr D*. *Pestic. Biochem. Physiol.* **70**, 168–179 (2001)
- Hof H.: Is there a serious risk of resistance development to azoles among fungi due to the widespread use a long-term application of azoles antifungals in medicine? *Drug Resist. Updates*, **11**, 25–31 (2008)
- Holb I.J., Schnabel G.: Differential effect of triazoles on mycelia growth and disease measurements of *Monilinia fructicola* isolates with reduced sensitivity to DMI fungicides. *Crop Prot.* **26**, 753–759 (2007)
- Imfeld G., Vuilleumier S.: Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review. *Eur. J. Soil Biol.* **49**, 22–30 (2012)
- Karaoglanidis G.S., Thanassouloupoulos C.C.: Cross-resistance patterns among sterol biosynthesis inhibiting fungicides (SBIs) in *Cercospora beticola*. *Eur. J. Plant Pathol.* **109**, 929–934 (2003)
- Klose S., Wu B.M., Ajwa H.A., Koike S.T., Subbarao K.V.: Reduced efficacy of rovril and botran to control *Sclerotinia minor* in lettuce production in the Salinas Valley may be related to accelerated fungicide degradation in soil. *Crop Prot.* **29**, 751–756 (2010)
- Komunikat Komisji Wspólnot Europejskich pt. „Strategia tematyczna w dziedzinie ochrony gleby” z dnia 22.09.2006 (COM (2006)0231), <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2006:0231:FIN:PL:PDF> (11 lutego 2015)
- Leroux P., Chapeland F., Arnold A., Gredt M.: New cases of negative cross-resistance between fungicides, including sterol biosynthesis inhibitors. *J. Gen. Plant Pathol.* **66**, 75–81 (2000)
- Leroux P., Fritz R., Debieu D., Albertini C., Lanen C., Bach J., Gredt M., Chapeland F.: Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Manag. Sci.* **58**, 876–888 (2002)
- Liebich J., Schäffer A., Burauel P.: Structural and functional approach to studying pesticide side-effects on specific soil function. *Environ. Toxicol. Chem.* **22**, 784–790 (2003)
- Lupwayi N.Z., Harker K.N., Dossdall L.M., Turkington K., Blackshaw R.E., O'Donovan J.T., Cárcamo H.A., Otani J.K., Clayton G.W.: Changes in functional structure of soil bacterial communities due to fungicide and insecticide applications in canola. *Agr. Ecosyst. Environ.* **130**, 109–114 (2009)
- Ma Y., Prasad M.N.V., Rajkumar M., Freitas H.: Plant growth promoting rhizobacteria and endophytes accelerate phytoremediation of metalliferous soils. *Biotech. Adv.* **29**, 248–258 (2011)
- Mele P.M., Crowley D.E.: Application of self-organizing maps for assessing soil biological quality. *Agr. Ecosyst. Environ.* **126**, 139–152 (2008)
- Milenkovski S., Bååth E., Lindgren P.-E., Berglund O.: Toxicity of fungicides to natural bacterial communities in wetland water and sediment measured using leucine incorporation and potential denitrification. *Ecotoxicology*, **19**, 285–294 (2010)
- Miñambres G.G., Conles E.L.L., Verdenelli R.A., Meriles J.M., Zygadlo J.A.: Application of thymol and iprodione to control garlic white rot (*Sclerotium cepivorum*) and its effect on soil microbial communities. *World J. Microb. Biot.* **26**, 161–170 (2009)
- Monkiedje A., Spittler M.: Effects of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, on the microbiological properties of a sandy loam and a sandy clay soil. *Biol. Fert. Soils* **35**, 393–398 (2002)

36. Moretti M., Arnoldi A., D'Agostina A., Farina G., Gozzo F.: Characterization of fields-isolates and derived DMI-resistant strains of *Cercospora beticola*. *Mycol. Res.* **107**, 1178–1188 (2003)
37. Muñoz-Leoz B., Ruiz-Romera E., Antigüedad I., Garbisu C.: Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. *Soil Biol. Biochem.* **43**, 2176–2183 (2011)
38. Niemi R.M., Heiskanen I., Ahtiainen J.H., Rahkonen A., Mäntykoski K., Welling L., Laitinen P., Ruuttunen P.: Microbial toxicity and impacts on soil enzyme activities of pesticides used in potato cultivation. *App. Soil Ecol.* **41**, 293–304 (2009)
39. Nørgaard J., Cedergreen N.: Pesticide cocktails can interact synergistically on aquatic crustaceans. *Environ. Sci. Pollut. R.* **17**, 957–967 (2010)
40. Pal R., Chakrabarti K., Chakraborty A., Chowdhury A.: Pencycuron application to soils: Degradation and effect on microbiological parameters. *Chemosphere*, **60**, 1513–1522 (2005)
41. Pal R., Das P., Chakrabarti K., Chakraborty A., Chowdhury A.: Side effects of pencycuron on nontarget soil microorganisms in waterlogged soil: Field experiment. *App. Soil Ecol.* **38**, 161–167 (2008)
42. Pimentel D., Burgess M.: Small amount of pesticides reaching target insects. *Environ. Dev. Sustain.* **14**, 1–2 (2012)
43. Pimentel D.: Amounts of pesticides reaching target pests: Environmental impacts and ethics. *J. Agr. Environ. Ethic.* **8**, 17–29 (1995)
44. Piotrowska-Seget Z., Engel R., Nowak E., Kozdrój J.: Successive soil treatment with captan or oxytetracycline affects non-target microorganisms. *World J. Microb. Biot.* **24**, 2843–2848 (2008)
45. Rajkumar M., Ae N., Narasimha M., Prasad V., Freitas H.: Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotech.* **28**, 142–149 (2010)
46. Rezolucja Parlamentu Europejskiego z dnia 13 listopada 2007 r. w sprawie strategii tematycznej w dziedzinie ochrony gleby (2006/2293(INI), <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?pubRef=-//EP//TEXT+TA+P6-TA-2007-0504+0+DOC+XML+V0//PL> (11.02.2015)
47. Schnabel G., Jones A.L.: The 14 $\alpha$ -demethylase (*CYP51A1*) gene is overexpressed in *Venturia inaequalis* strains resistant to myclobutanil. *Phytopatology*, **91**, 102–110 (2001)
48. Shafiani S., Malik A.: Tolerance of pesticides and antibiotic resistance in bacteria isolated from wastewater-irrigated soil. *World J. Microb. Biot.* **19**, 897–901 (2003)
49. Sopena F., Bending G.D.: Impacts of biochar on bioavailability of the fungicide azoxystrobin: a comparison of the effect on biodegradation rate and toxicity to the fungal community. *Chemosphere*, **91**, 1525–1533 (2013)
50. Tejada M., Gómez I., Garcia-Martinez A.M., Osta P., Parrado J.: Effects of prochloraz fungicide on soil enzymatic activities and bacterial communities. *Ecotox. Environ. Safe.* **74**, 1708–1714 (2011)
51. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2009, World Health Organization 2010, [http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard/en/](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard/en/) (11.02.2015)
52. Vergucht S., De Voghel S., Misson C., Vrancken, C., Callebaut K., Steurbaut W., Pussemier L., Marot J., Maraite H., Vanhaecke P.: Health and environmental effects of pesticides and type 18 biocides (HEPEBI). Belgian Science Policy and Federal Public Service, Health, Food Chain Safety and Environment, Brussels, Belgium (2006)
53. Verweij P.E., Snelders E., Kema G.H.J., Mellado E., Melchers W.J.G.: Azole resistance in *Aspergillus fumigatus*: a side-effect of environmental fungicide use? *Lancet Infect. Dis.* **9**, 789–795 (2009)
54. Wang Q-Y., Zhou D-M., Cang L.: Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide. *Soil Biol. Biochem.* **41**, 1504–1509 (2009)
55. Wang X., Song M., Gao Ch., Dong B., Zhang Q., Fang H., Yu Y.: Carbendazim induces a temporary change in soil bacterial community structure. *J. Environ. Sci.* **21**, 1679–1683 (2009)
56. Wang X., Song M., Wang Y., Gao Ch., Zhang Q., Chu X., Fang H., Yu Y.: Response of soil bacterial community to repeated applications of carbendazim. *Ecotox. Environ. Safe.* **75**, 33–39 (2012)
57. White P.M., Potter T.L., Culbreath A.K.: Fungicide dissipation and impact on metolachlor aerobic soil degradation and soil microbial dynamics. *Sci. Total Environ.* **408**, 1393–1402 (2010)
58. Widenfalk A., Bertilsson S., Sundh I., Goedkoop W.: Effects of pesticides on community composition and activity of sediment microbes – responses at various levels of microbial community organization. *Environ. Pollut.* **152**, 576–584 (2008)
59. Yang Ch., Hamel Ch., Vujanovic V., Gan Y., 2011, Fungicide: Modes of action and possible impact on nontarget microorganisms. *ISRN Ecology*, DOI: 10.5402/2011/130289 (2011)
60. Yen J.H., Chang J.S., Huang P.J., Wang Y.S.: Effects of fungicides triadimefon and propiconazole on soil bacterial communities. *J. Environ. Sci. Health, (B)*, **44**, 681–689 (2009)