



Otrzymano: 12 listopada 2018
Zaakceptowano: 3 grudnia 2018
Udostępniono online: 21 grudnia 2018

Porównanie oddziaływania fungicydów zawierających fenpropidynę i pikoksystrobinę na aktywność fosfataz w glebie

Comparison of effect of fungicides with fenpropidin and picoxystrobin on phosphatase activities in soil

Arkadiusz Telesiński^{1,*}, Katarzyna Sykała¹, Barbara Futa², Elżbieta Zawierucha³, Marek Śnieg⁴, Marek Rynkiewicz⁴

¹Katedra Fizjologii Roślin i Biochemii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, 71-434 Szczecin, ul. Słowackiego 17, Polska

²Zakład Biologii Gleby, Instytut Gleboznawstwa, Inżynierii i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 20-069 Lublin, ul. Leszczyńskiego 7, Polska

³Wydział Nauk o Zdrowiu, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. IX Wieków Kielc 19A, 25-317 Kielce, Polska

⁴Zakład Budowy i Użytkowania Urządzeń Technicznych, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3, Polska

Streszczenie: Celem podjętych badań było określenie oddziaływania dwóch fungicydów, różniących się między innymi rodzajem substancji aktywnej: Lotus 750 EC (s.a. fenpropidyna, 750 g·dm⁻³) i Galileo 250 SC (s.a. pikoksystrobina, 250 g·dm⁻³) na aktywność fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej w glebie. Doświadczenie przeprowadzono w warunkach laboratoryjnych z użyciem piasku gliniastego o zawartości C_{org} 8,71 g·kg⁻¹. Powietrznie suchą glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm i podzielono na 0,5 kg naważki. Następnie dodano do nich wodne emulsje wymienionych fungicydów w dawkach: polowej, pięciokrotnie większej i dwudziestopięciokrotnie większej. Wilgotność gleby doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej i przechowywano w szczelnie zamkniętych workach polipropylenowych w temperaturze 20°C. W 1., 7., 14. i 28. dniu doświadczenia oznaczono spektrofotometrycznie aktywność fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono, że wprowadzenie do gleby fungicydów Lotus 750 EC i Galileo 250 SC nie zawsze wywołało istotne zmiany aktywności fosfataz. Zaobserwowany efekt zależał od rodzaju preparatu, jego dawki i dnia trwania doświadczenia. Oddziaływanie badanych fungicydów na aktywność fosfataz w glebie, w poszczególnych terminach pomiarów, wielokrotnie nie wykazywało zależności z wielkością zastosowanej dawki. Trudno jednoznacznie ocenić, która z oznaczanych fosfataz charakteryzowała się większą wrażliwością na obecność fungicydów w glebie. Spośród wszystkich czynników doświadczalnych, największy wpływ na aktywność fosfataz w glebie miał termin pomiaru.

Słowa kluczowe: fosfataza kwaśna, fosfataza zasadowa, fungicydy, gleba, współczynniki oporności.

Abstract: The aim of study was to assess of effect of two fungicides, differing, inter alia, the type of active ingredient: Lotus 750 EC (a.i. fenpropidine, 750 g·dm⁻³) and Galileo 250 SC (a.i. picoxystrobin, 250 g·dm⁻³) on activity of acid phosphatase and alkaline phosphatase in soil. The experiment was carried out in laboratory condition on loamy sand with C_{org} content of 8,71 g·kg⁻¹. The air-dried soil was sieved with 2 mm mesh and divided into 0.5 kg samples. Then aqueous emulsions of the fungicides were added to soil samples on doses: field dose, 5-fold hold of field dose and 25-fold hold of field dose. Samples were adjusted to 60% maximum water holder capacity, and they were incubated in polypropylene bugs at 20°C. On days 1, 7, 14 and 28 activities of acid phosphatase and alkaline phosphatase were measured spectrophotometrically. The obtained results showed, that the application of fungicides: Lotus 750 EC and Galileo 250 SC into the soil did not always cause significant changes in the phosphatase activities in the soil. The observed effect depended on the type of formulation, its dose and day of the experiment. Changes of phosphatase activities, in particular measurement dates, mainly did not show any relationship between on the size of the applied fungicide dose and reported effect. It is difficult to unequivocally assess which of the determined phosphatases was more sensitivity to the presence of fungicides in the soil. Of all the experimental factors, the measurement period had the greatest impact on soil phosphatase activity.

Keywords: acid phosphatase, alkaline phosphatase, fungicides, resistance index, soil.

1. Wstęp

Stosowanie środków ochrony roślin jest jednym z nie-

zbędnych zabiegów wykorzystywanych w chemicznej ochronie roślin. Jednakże produkcja i stosowanie pestycydów, poza niewątpliwymi korzyściami, wiąże się z wieloma niepożądanymi skutkami [1]. Zabiegi ochronne z użyciem pestycydów wykonane na polach uprawnych oraz terenach nieużytko-

Adres e-mail: arkadiusz.telesinski@zut.edu.pl

wanych rolniczo są jednym ze źródeł degradacji otaczającego nas środowiska.

Choroby grzybowe, w zależności od rodzaju oraz stopnia porażenia rośliny, są w stanie zmniejszyć plon zbóż nawet o 80%. Dlatego też bieżąca kontrola plantacji oraz fungicydowe zabiegi profilaktyczne są nieodłącznym elementem zwiększania plonu [2].

Praktycznie każdy pestycyd, nawet zastosowany do listnie, dociera do gleby, która stanowi główny rezerwuár kumulujący pozostałości środków ochrony roślin. W glebie zachodzą zarówno biotyczne, jak i abiotyczne przemiany prowadzące do rozkładu substancji aktywnych [3]. Szybkość zanikania pestycydów w glebie zależy od ich właściwości fizykochemicznych, warunków środowiskowych oraz aktywności drobnoustrojów glebowych. Jedną z najlepszych miar stanu ekochemicznego gleby jest jej aktywność biologiczna [4].

Istnieje wiele wskaźników oceny właściwości biologicznych gleb, wśród których wymienić można oddychanie gleby, zawartość biomasy żywych mikroorganizmów, czy aktywność enzymatyczną, w tym aktywność fosfataz [5]. Zmiany aktywności fosfataz mogą wskazywać na zaburzenia przemian związków fosforowych w glebie [6]. Jest to bardzo ważny problem, ponieważ cykl biogeochemiczny fosforu jest podatny na wszelkie zmiany powodowane rolniczą działalnością człowieka [7]. Ponadto zmiany zawartości tego pierwiastka w glebie wpływają znacząco na jej aktywność mikrobiologiczną i biochemiczną. W konsekwencji wpływa to na przemiany oraz dostępność innych składników pokarmowych [8].

Celem podjętych badań było określenie oddziaływania dwóch fungicydów, różniących się między innymi rodzajem substancji aktywnej: Lotus 750 EC (s.a. fenpropidyna, 750 g·dm⁻³) i Galileo 250 SC (s.a. pikoksystrobina, 250 g·dm⁻³) na aktywność fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej w glebie.

2. Część eksperymentalna

Doświadczenie przeprowadzono na próbkach gleby pobranych z poziomu orno-próchniczego gleb rdzawych typowych z terenu Rolniczej Stacji Doświadczalnej w Lipniku (woj. zachodniopomorskie). Gleba ta charakteryzuje się składem granulometrycznym piasku gliniastego oraz zawartością węgla organicznego 8.71 g·kg⁻¹, azotu ogółem 0.78 g·kg⁻¹ oraz pH w 1 M KCl 6.45.

Pobraną z pola glebę przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Powietrznie suchą glebę podzielono na 0,5 kg naważki. Następnie dodano do nich wodne emulsje dwóch fungicydów: Lotus 750 EC (prod. ADAMA Polska Sp. z o.o.) lub Galileo 250 SC (prod. DuPont Poland Sp. z o.o.) w dawkach: 0 (kontrola), dawka polowa – zalecana przez producenta (1 × DP), dawka pięciokrotnie większa od zalecanej przez producenta (5 × DP) oraz dawka dwudziestopięciokrotnie większa od zalecanej przez producenta (25 × DP). Przy przeliczaniu dawki preparatów przyjęto miąższość gleby 15 cm. Podstawowe informacje na temat właściwości zastosowanych fungicydów i ich dawek wprowadzonych do gleby przedstawiono w Tabeli 1. Wilgotność gleby doprowadzono do 60% maksymalnej pojemności wodnej i przechowywano w szczelnie zamkniętych workach polipropylenowych w temperaturze 20°C. W 1., 7., 14. i 28. dniu doświadczenia oznaczono aktywność fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasa-

Tabela 1. Podstawowe właściwości związków użytych w doświadczeniu oraz ich ilości wprowadzone do gleby.

Właściwość	Fenpropidyna	Pikoksystrobina
Grupa chemiczna	Morfoliny	Stobiluryny
Wzór sumaryczny	C ₁₉ H ₃₁ N	C ₁₈ H ₁₆ F ₃ NO ₄
Masa molowa (g·mol ⁻¹)	273.46	367.32
Czas połowicznego zaniku w glebie (dni)*	48.2	24.4
Ilości wprowadzone do gleby (mg·kg ⁻¹):		
1 × DP	0.25	0.11
5 × DP	1.25	0.55
25 × DP	6.25	2.75

DP – dawka polowa; * dane z bazy PPDP (Pesticide Properties Data Base)

dowej. Do analiz użyto spektrofotometr UV-1800 firmy Shimadzu.

Aktywność fosfatazy zasadowej i fosfatazy kwaśnej oznaczono według metody Tabatabai i Bremnera [9]. Metoda ta oparta jest na zdolności fosfatazy do hydrolizy *p*-nitrofenylofosforanu do *p*-nitrofenolu.

Otrzymane wyniki opracowano statystycznie za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji. Analizy wykonano niezależnie dla każdego preparatu i terminu pomiaru na poziomie istotności $p < 0.05$. Następnie otrzymane wyniki porównano komplementarnie za pomocą testu post-hoc Tukey HSD. Do obliczeń wykorzystano oprogramowanie Statistica 13.1 firmy StatSoft.

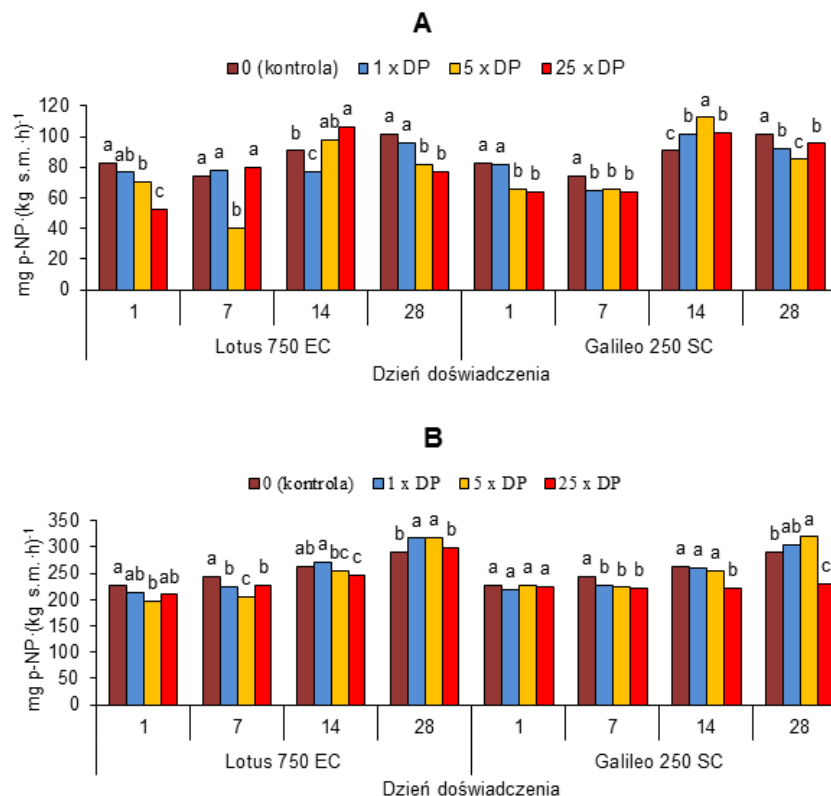
Obliczono również wskaźniki oporności fosfataz (RS) za pomocą wzoru podanego przez Orwin'a i Wardle'a [10]: $RS = 1 - [2|D|]/(C + |D|)$; gdzie: RS – wskaźnik oporności, C – aktywność enzymu w glebie kontrolnej, D – różnica pomiędzy aktywnością enzymu w glebie kontrolnej a aktywnością w glebie z dodatkiem fungicydu.

Procentową zmienność wszystkich czynników doświadczalnych, którymi były: rodzaj fungicydu, dawka fungicydu oraz dzień doświadczenia wyznaczono za pomocą analizy η^2 .

3. Wyniki i ich dyskusja

Aktywność fosfatazy kwaśnej w glebie kontrolnej kształtowała się w trakcie trwania doświadczenia na poziomie od 74,45 mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹ (7. dzień doświadczenia) do 101,83 mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹ (28. dzień doświadczenia).

Wprowadzenie do gleby fungicydu Lotus 750 EC w dawce polowej (1 × DP) spowodowało istotne statystycznie zmniejszenie aktywności tego enzymu jedynie w 14. dniu doświadczenia (o 14,62% w stosunku do gleby kontrolnej). Po aplikacji fungicydu w dawce pięciokrotnie większej od zalecanej (5 × DP) istotną statystycznie inhibicję aktywności fosfatazy kwaśnej odnotowano w 1., 7. i 28. dniu doświadczenia (w porównaniu do kontroli odpowiednio o 15,03%, 45,98% i 19,75%). Natomiast w glebie z dodatkiem fungicydu Lotus 750 EC w dawce dwudziestopięciokrotnie większej od zalecanej (25 × DP) w 1. i 28. dniu doświadczenia wystąpiło istotne statystycznie obniżenie aktywności enzymu (odpowiednio o 36,79% i 23,95% w odniesieniu do gleby kontrolnej), podczas gdy w 14. dniu doświadczenia odnotowano stymulację aktywności fosfatazy kwaśnej (o 16,98%) (Rys. 1). Inaczej kształtowała się aktywność fosfatazy kwaśnej po wprowadzeniu fungicydu Galileo 250 SC (rys. 5B). W glebie



Rysunek 1. Aktywność fosfatazy kwaśnej (A) i fosfatazy zasadowej w glebie z dodatkiem fungicydów Lotus 750 EC i Galileo 250 SC; wartości oznaczone tymi samymi literami w danym dniu doświadczenia nie różnią się istotnie na poziomie $p < 0,05$.

zawierającej fungicyd w dawce 1 x DP wykazano istotną statystycznie inhibicję w 7. i 28. dniu doświadczenia (odpowiednio o 13,22% i 9,24% w porównaniu do kontroli), a w 14. dniu aktywację enzymu (o 11,79%). Dodatek preparatu Galileo 250 SC w dawkach 5 x DP i 25 x DP spowodował w większości terminów pomiarów zmniejszenie aktywności fosfatazy kwaśnej, które w stosunku do gleby kontrolnej wynosiło odpowiednio 12,07-20,72% i 6,30-22,28%. Natomiast w 14. dniu doświadczenia wystąpiła stymulacja aktywności enzymu, która dla wymienionych powyżej dawek fungicydu wynosiła 14,06% i 13,21% w porównaniu do kontroli (**Rys. 1A**).

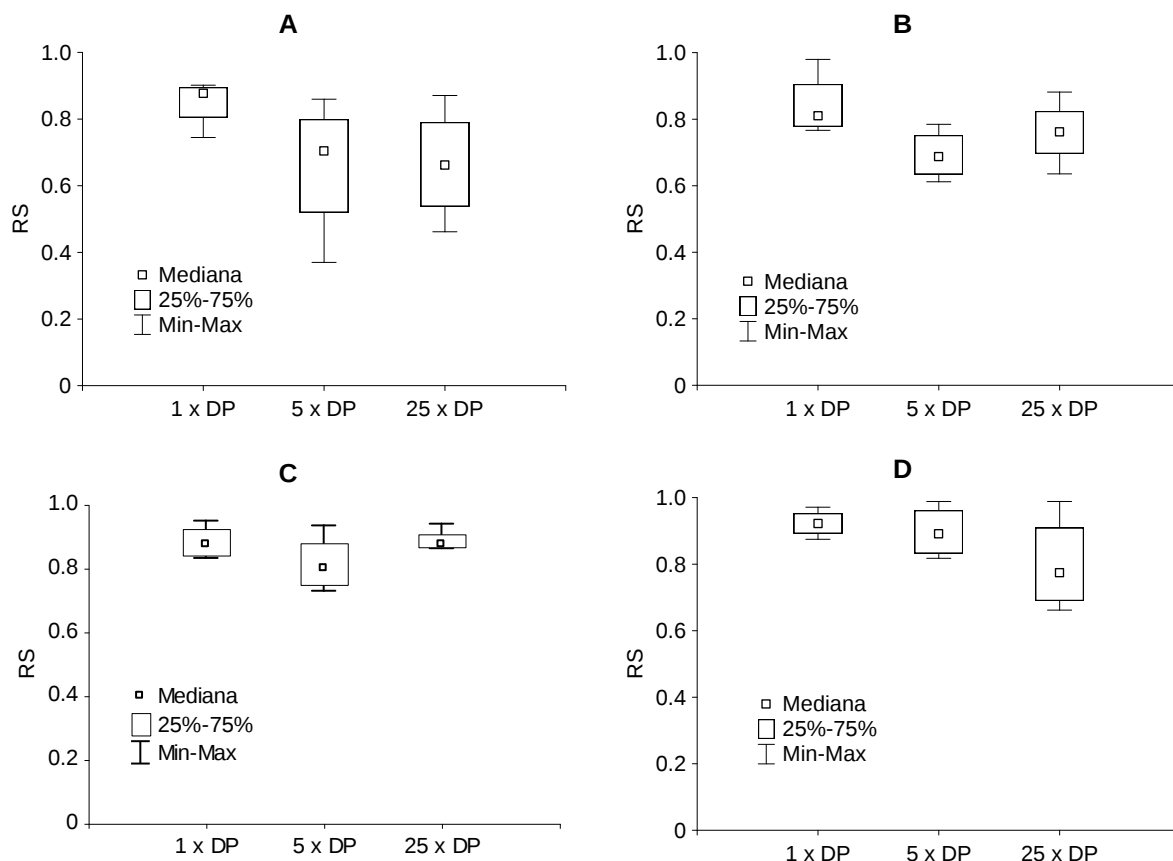
Aktywność fosfatazy zasadowej w glebie bez dodatku fungicydów w trakcie trwania doświadczenia stopniowo wzrastała od 226,34 mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹ (1. dzień doświadczenia) do 290,09 mg p-NP·(kg s.m.·h)⁻¹ (28. dzień doświadczenia).

Aplikacja fungicydu Lotus 750 EC w dawce 1 x DP spowodowała istotne statystycznie zmiany aktywności fosfatazy zasadowej jedynie w 7. i 28. dniu doświadczenia. W pierwszym z wymienionych terminów wystąpiło zmniejszenie (o 8,08% w odniesieniu do kontroli), a w drugim wzrost (o 9,14%) aktywności enzymu (**Rys. 1A**). Po wprowadzeniu fungicydu w dawce 5 x DP również w 28. dniu doświadczenia wykazano istotną statystycznie stymulację aktywności fosfatazy zasadowej (o 9,59% w stosunku do gleby kontrolnej), podczas gdy inhibicja aktywności została odnotowana w 1. i 7. dniu doświadczenia (odpowiednio o 13,04% i 15,64%). Natomiast w glebie z dodatkiem preparatu Lotus 750 EC w dawce 25 x DP wykazano istotne statystycznie obniżenie aktywności enzymu wykazano w 7. i 14. dniu doświadczenia

(odpowiednio o 6,85% i 6,64% w porównaniu do kontroli). Po aplikacji fungicydu Galileo 250 SC w dawce połowej istotne zmiany aktywności fosfatazy zasadowej odnotowano jedynie w 7. dniu doświadczenia (zmniejszenie o 6,68% w stosunku do gleby kontrolnej). Wprowadzenie pozostałych dawek spowodowało w tym terminie pomiaru podobny efekt, a wykazana inhibicja aktywności enzymu wynosiła dla dawek 5 x DP i 25 x DP odpowiednio 8,26% i 9,31%. Dla dawki 25 x DP istotne statystycznie obniżenie aktywności fosfatazy kwaśnej utrzymało się jeszcze w kolejnych terminach pomiarów (odpowiednio o 16,37% i 20,35% w odniesieniu do kontroli). Natomiast w glebie zawierającej fungicyd Galileo 250 SC w dawce 5 x DP wystąpiła w 28. dniu doświadczenia istotna statystycznie stymulacja aktywności enzymu, która wynosiła w porównaniu do gleby kontrolnej 10,03% (**Rys. 1B**).

Porównując mediany współczynników oporności aktywności fosfatazy kwaśnej w glebie z dodatkiem fungicydów, stwierdzono, że dla preparatu Lotus 750 EC ulegały one obniżeniu wraz ze wzrostem jego dawki – od 0,88 do 0,66 (**Rys. 2A**), podczas gdy dla Galileo 250 SC największe obniżenie mediany współczynników oporności aktywności wywołało wprowadzenie fungicydu w dawce 5 x DP – 0,68 (**Rys. 2B**). Natomiast analizując wartości środkowe współczynników oporności aktywności fosfatazy zasadowej, stwierdzono, że dla fungicydu Lotus 750 EC najniższa wartość wystąpiła po wprowadzeniu dawki 5 x DP – 0,79 (**Rys. 2C**), podczas gdy dla Galileo 250 SC ulegały one obniżeniu wraz ze wzrostem dawki fungicydu – od 0,92 do 0,74 (**Rys. 2D**).

Riah i in. [11] podają, że najczęściej obserwowanym wpływem fungicydów jest zmniejszenie aktywności enzyma-



Rysunek 2. Współczynniki oporności (RS) fosfatazy kwaśnej po wprowadzeniu fungicydów Lotus 750 EC (A) i Galileo 250 SC (B) oraz fosfatazy zasadowej po wprowadzeniu fungicydów Lotus 750 EC (C) i Galileo 250 SC (D)

tycznej gleb, w tym aktywności fosfatyz. Wynika to przede wszystkim z zaburzenia w metabolizmie populacji grzybów w glebie, które w dużej mierze odpowiedzialne są za mineralizację materii organicznej i uwalnianie dostępnego węgla. Efektem tego może być szkodliwy wpływ na całą populację drobnoustrojów i jej funkcjonowanie [12]. Jednakże pojawiają się doniesienia, że w warunkach laboratoryjnych, zmniejszenie populacji grzybów, a co za tym idzie obniżenie ich aktywności enzymatycznej, wpływało stymulująco na bakterie [13-17]. Tejada i in. [18] tłumaczy ten efekt zwiększeniem poziomu substancji odżywczych uwalnianych z obumarłych strzępek grzybów. Munoz-Leoz i in. [19] wykazali natomiast zmniejszenie biomasy żywych mikroorganizmów równoległe ze zmniejszeniem aktywności enzymatycznej po zastosowaniu fungicydów. Również w warunkach polowych, wielu autorów zauważyło podobny negatywny trend wpływu fungicydów na różne enzymy glebowe [20-22], nawet po zastosowaniu dawki polowej środka grzybobójczego.

Analiza η^2 wykazała, że wszystkie czynniki doświadczalne, jak i interakcje między nimi, wpłynęły istotnie na aktywność fosfatazy kwaśnej (Tab. 2). Natomiast w przypadku fosfatazy zasadowej stwierdzono nieistotny wpływ rodzaju fungicydu oraz interakcji pomiędzy wszystkimi czynnikami doświadczalnymi na aktywność fosfatazy zasadowej. Największy procentowy udział w kształtowaniu aktywności fosfatazy kwaśnej, jak i fosfatazy zasadowej, stwierdzono dla terminu pomiaru (odpowiednio 72,53 i 81,51%).

4. Podsumowanie

- (1) Wprowadzenie do gleby fungicydów Lotus 750 EC i Galileo 250 SC nie zawsze wywołało istotne zmiany aktywności fosfatyz w glebie. Zaobserwowany efekt zależał od rodzaju preparatu, jego dawki i dnia doświadczenia.
- (2) Oddziaływanie badanych fungicydów na aktywność fosfatyz w glebie, w poszczególnych terminach pomiarów, wielokrotnie nie wykazywało zależności z wielkością zastosowanej dawki.
- (3) Wartości średnich współczynników oporności wykazały, że aplikacja fungicydu Lotus 750 EC spowodowała większe zmiany aktywności biologicznej gleby, określonej

Tabela 2. Procentowa zmienność wszystkich czynników doświadczalnych dla fosfatazy kwaśnej i fosfatazy zasadowej wyznaczona za pomocą analizy η^2

Czynnik	Fosfataza kwaśna	Fosfataza zasadowa
Rodzaj fungicydu (A)	5.17	0.65 (n.i.)
Dawka fungicydu (B)	6.50	6.11
Dzień doświadczenia (C)	72.53	81.51
A × B	1.47	3.19
A × C	1.41	3.39
B × C	8.23	3.30
A × B × C	4.22	1.02 (n.i.)
Błąd	0.47	0.82

n.i. – nieistotne statystycznie na poziomie $p < 0.05$

na podstawie aktywności fosfataz, co mogło wynikać z większej ilości wprowadzonej substancji aktywnej.

- (4) Na podstawie przeprowadzonej analizy η^2 stwierdzono, że największy wpływ na aktywność fosfataz w glebie miał termin pomiaru.

Literatura

- [1] L.L. van Eerd, A.E. Hoagland, R.M. Zablotowicz, J.C. Hall, *Weed Sci.*, **2003**, 51, 472-495. doi: 10.1021/bk-2001-0777.ch001
- [2] T.P. Kurowski, M. Marks, P. Makowski, E. Jaźwińska, *Fragm. Agron.*, **2009**, 26, 102-108.
- [3] M. Płatkowski, A. Telesiński, *Plant Soil Environ.*, **2016**, 62, 286-292. doi: 10.17221/673/2015-PSE
- [4] E.J. Bielińska, B. Futa, S. Chmielewski., K. Patkowski, T.M. Gruszecki, *Pol. J. Soil Sci.*, **2017**, 50, 55-62. doi: 10.17951/pjss/2017.50.1.55
- [5] A. Telesiński, T. Krzyśko-Łupicka, K. Cybulska, J. Wróbel, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **2018**, 25, 28642-28653. doi: 10.1007/s11356-018-2912-3
- [6] J. Lemanowicz, A. Bartkowiak, B. Breza-Boruta, *Environ. Earth Sci.*, **2016**, 75, 510. doi: 10.1007/s12665-015-5162-4.
- [7] J. Lemanowicz, M. Krzyżaniak, *Environ. Earth Sci.*, **2015**, 74, 2719-2728. doi: 10.1007/s12665-015-4294-x
- [8] E.J. Bielińska, A. Mocek-Plóćiniak, *Pol. J. Environ. Stud.*, **2010**, 19, 895-900.
- [9] M.A. Tabatabai, J.M. Bremner, *Soil Biol. Biochem.* **1969**, 1, 301-307. doi: 10.1016/0038-0717(69)90012-1
- [10] K.H. Orwin, D.A. Wardle, *Soil Biol. Biochem.* **2004**, 36, 1907-1912. doi: 10.1016/j.soilbio.2004.04.036
- [11] W. Riah, K. Laval, E. Laroche-Ajzenberg, C. Mougin, X. Latour, I. Trinsoutrot-Gattin, *Environ. Chem. Lett.*, **2014**, 12, 257-273. doi: 10.1007/s10311-014-0458-2
- [12] M. Cycoń, Z. Piotrowska-Seget, J. Kozdroj, *Int. Biodeterior. Biodegradation*, **2010**, 64, 316-323. doi: 10.1016/j.ibiod.2010.03.006
- [13] A. Monkiedje, M. Spiteller, *Biol. Fertil. Soils*, **2002**, 35, 393-398. doi: 10.1007/s00374-002-0485-1
- [14] A.M. Moharram, S.I. Abdel-Hafez, A.H. El-Said, A. Saleem, *Acta Microbiol. Immunol. Hung.*, **2004**, 51, 403-430. doi: 10.1556/AMicr.51.2004.4.2
- [15] T.C. Strickland, T.L. Potter, H. Joo, *Pest Manag. Sci.*, **2004**, 60, 703-709. doi: 10.1002/ps.860
- [16] G.D. Bending, M.S. Rodriguez-Cruz, S.D. Lincoln, *Chemosphere*, **2007**, 69, 82-88. doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.04.042
- [17] M. Baćmaga, J. Wyszowska, J. Kucharski, *Ecotoxicology*, **2016**, 25, 1575-1587. doi: 10.1007/s10646-016-1713-z
- [18] M. Tejada, I. Gomez, A.M. Garcia-Martinez, P. Osta, J. Parrado, *Ecotox. Environ. Saf.*, **2011**, 74, 1708-1714. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.04.016
- [19] B. Muñoz-Leoz, E. Ruiz-Romera, I. Antigüedad, C. Garbisu, *Soil Biol. Biochem.* **2011**, 43, 2176-2183. doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.07.001
- [20] A. Niewiadomska, *Pol. J. Environ. Stud.*, **2004**, 13, 403-410.
- [21] A. Niewiadomska, J. Kłama, *Pol. J. Microbiol.* **2005**, 54, 43-48.
- [22] R.M. Niemi, I. Heiskanen, J.H. Ahtainen, A. Rahkonen, K. Mäntykoski, L. Welling, P. Laitinen, P. Ruuttunen, *Appl. Soil Ecol.*, **2009**, 41, 293-304. doi: 10.1016/j.apsoil.2008.12.002