

Slutrapport för projektet ”Reduktion av pesticidrester i mark med tillsats av mikroorganismer”, Projektnr V0548065

Bakgrund

Jordbruksverket och Kemikalieinspektionen har på uppdrag av regeringen tagit fram ”Förslag till handlingsprogram för användningen av bekämpningsmedel i jordbruket och trädgårdsnäringen till år 2006” (SJV 2002:7). Där konstateras att ”för den framtida användningen av bekämpningsmedel är ambitionen att den skall vara långsiktigt hållbar på en risknivå som kan accepteras” samt att ”halter av bekämpningsmedel i yt- och grundvatten skall på sikt (inom en generation) vara nära noll”. Genomförda mätningar inom olika miljöövervakningsprogram visar dock att nollvisionen blir svår att uppfylla. Pesticidrester förekommer regelbundet i ytvatten och fynd görs även i grundvattentäkter, främst av numera förbjudna substanser såsom t.ex. atrazin och BAM (2,6-dichlorbenzamid), men även preparat som fortfarande är godkända hittas (Törnquist et al., 2002). För att uppnå nollvisionen krävs därför att problemen med både punktkällor (t.ex. från spill vid påfyllning) och diffusa källor (t.ex. från utlakning och ytavrinning efter besprutning på fält) elimineras. En effektiv och relativt enkel åtgärd för att minska förorening från punktkällor är användning av biobäddar (Torstensson, 2000). Förorening från de diffusa källorna är dock mer komplicerad att komma till rätta med.

Diffusa förluster av pesticider efter användning i fält kan ske via flera olika vägar, t ex som avdunstning, ytavrinning och utlakning genom markprofilen till dräneringsledningar eller grundvatten (Torstensson, 1987). Storleken på förluster som uppkommer via dessa tre processer beror bl a på hur länge och hur mycket av pestiden som exponeras mot omgivningen, dvs risken för förluster är proportionell mot kvarvarande koncentration och exponeringstid. Åtgärder som minskar denna exponering minskar alltså risken för pesticidförluster till luft och vatten. En annan faktor som påverkar pesticiders tillgänglighet i mark är deras ”åldrande”, vilket orsakas av den tidsberoende transport in i markens organiska material och dess mikroporer som börjar när pestiden får kontakt med marken (Bergström & Stenström, 1998). Detta fenomen leder till att ju längre en kemikalie är i kontakt med mark, desto stabilare blir den mot bl a nedbrytning. Det är därför viktigt att pesticidrester som har hamnat på växtrester och på markytan, och ej är avsedda att ha någon jordverkan, snabbt bryts ner innan åldrandet gör dem mer motståndskraftiga mot nedbrytning.

Dessa två faktorer, exponering och åldrande, indikerar alltså att risken med förorening från diffusa källor kan väsentligt reduceras om pesticidrester så snabbt som möjligt bryts ner efter avsedd verkan. Ett sätt att åstadkomma detta vore att i samband med besprutningen också tillföra mikroorganismer som kan bryta ner den använda pestiden så snart den hamnar på platser där den ej har avsedd funktion.

Mikrobiell omsättning av pesticider i mark utgör den viktigaste mekanismen för deras nedbrytning (Torstensson, 1987). Ibland kan pestiden tjäna som substrat åt de nedbrytande mikroorganismerna vilket leder till metabolisk nedbrytning. T ex kan fenoxysyror brytas ner med denna mekanism. För vissa pesticider har ingen mikroorganism kunnat isoleras som ger metabolisk nedbrytning, t ex glyfosat, som därmed anses brytas ner cometaboliskt i flera steg av olika mikroorganismer. Däremot finns kulturer som kan utnyttja glyfosat som kväve eller fosforkälla om de förses med ett annat substrat (Ternan et al., 1998).

Det kommer därför att krävas olika strategier för att anrika mikroorganismer som bryter ner

olika pesticider. De metaboliskt nedbrytbara utgör ett mindre problem eftersom de kan tjäna som substrat för sin egen nedbrytning, medan anrikning av glyfosatnedbrytare kan kräva t ex tillsats av cosubstrat eller samodling av flera olika mikroorganismer.

Som modellsubstanser i detta projekt användes glyfosat och MCPA, representerande de två till jordbruket mest sålda växtskyddsmedlen i Sverige (KEMI, 2004). Dessutom finns redan erforderlig utrustning och metoder för analys av dessa substanser tillgängliga vid institutionen för mikrobiologi, SLU.

För den praktiska användningen i fält kommer det också att krävas lämpliga formuleringar av de nedbrytande mikroorganismerna, så att de kan hanteras och blandas in i spruttanken för att sedan spridas tillsammans med pesticiden men aktiveras för nedbrytning först efter det att pesticiden har haft avsedd effekt. Sådana formuleringsproblem studeras inom MISTRAs programmet DOM (domesticering av mikroorganismer) vid institutionen för mikrobiologi, SLU, med vilket samarbete kommer att etableras i odlings-, hanterings- och formuleringsfrågor.

Material och metoder

Organismer. Mikroorganismer som kan bryta ner glyfosat eller MCPA anrikas från jord. Organismerna isoleras och identifieras. Olika faktorerers inflytande på organismernas nedbrytningskapacitet undersöks (pesticidkoncentration, pH, temperatur, tillväxtfaktorer). Isolat från institutionens kultursamling kommer också att testas.

Testning i jord och på växt. De isolerade organismernas effekt på pesticidernas persistens testas i jord med eller utan växt. Testväxter är både gröda och ogräs, dvs växter som är okänsliga eller känsliga för herbicider. Testerna utförs i odlingskammare vid Genetikcentrum, SLU och innefattar olika pesticid- och ympkoncentrationer. Analyser av pesticider görs på institutionen för mikrobiologi, SLU, eller vid pesticidavdelningen på AnlyCen Nordic, beroende på typ av analys.

Formulering och fälttestning. För de mest lovande organismerna från försöken i odlingskammare görs en pilotformulering i samarbete med MISTRAs DOM-projekt. Studier av effektivitet och överlevnad inleds med fältförsök vid Ultuna. Det övergripande målet är att så snabbt som möjligt observera effekterna under realistiska förhållanden.

Resultat

Isolering och anrikning av en MCPA-nedbrytande bakterie

Sanering av fabriksområdet i Teckomatorp, Skåne, där tidigare herbicider tillverkades, har inletts. I samarbete med SITA AB (ref. Tommy Lundgren) fick vi prover från olika platser och djup från området, som var förorenade med fenoxisyror (t ex MCPA), fenoler, kresoler, dinoseb och dioxiner. Från dessa prover har vi isolerat en MCPA-nedbrytande bakterie tillhörande släktet *Sphingomonas*, ett släkte som tidigare är känt för att ha arter som kan bryta ner aromatiska ämnen.

Utveckling av ett testsystem för experiment med växter och effect av inympning av MCPA-nedbrytande bakterier. Ett testsystem med mini-växthus i en odlingskammare har utvecklats för experiment med och utan inympning av pesticidnedbrytande bakterier och med växter som är känsliga (vitsenap) och okänsliga (höstvet) för fenoxisyror. En vecka efter sådd spredades växterna med MCPA för att ge ungefär 4 mg MCPA/kg jord. Till en av behandlingarna sattes i samband med spredningen också *Sphingomonas* bakterier (2×10^5 celler/g jord). Resultaten

visar att metoden fungerar (Figurerna 1A och 1B), med en mycket snabb nedbrytning av MCPA när de nedbrytande bakterierna tillsätts. Resultaten visar också att den avsedda herbicidala effekten av MCPA kvarstår, trots denna snabba nedbrytning, eftersom ingen effect syntes på det motståndskraftiga vetet, medan alla plantor av vitsenapen hade dött 7 dygn efter sprejningen.

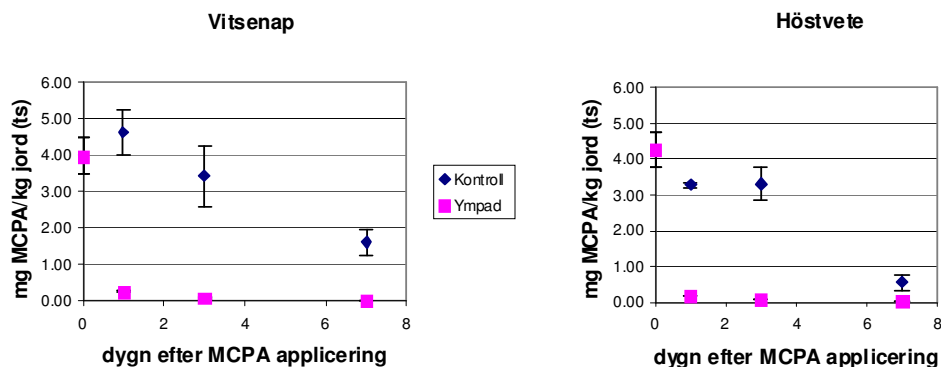


Fig. 1A. Effekt av ympning med 2×10^5 celler/g med en MCPA-nedbrytande bakterie i en odling av vitsenap.

Fig. 1B. Effekt av ympning med 2×10^5 celler/g med en MCPA-nedbrytande bakterie i en odling av höstvete.

Screening av kultursamlingen vid institutionen för mikrobiologi, SLU efter glyfosat-nedbrytande bakterier tillhörande släktet *Rhizobium*. I den vetenskapliga litteraturen finns rapporter över mikroorganismer som kan använda herbiciden glyfosat som kväve- eller fosforkälla när de tillförs substrat som saknar N eller P (till exempel bakterier tillhörande släktet *Rhizobium*). Eftersom jord alltid innehåller N och P bedömde vi det som viktigt att finna organismer som inte har dessa begränsningar, gärna bakterier tillhörande släktet *Rhizobium*, eftersom detta avsevärt skulle underlätta riskbedömningen för användning i fält. Dessutom har institutionen för mikrobiologi en stor samling av dessa bakterier. Omkring 80 olika arter av *Rhizobium* testades för deras förmåga att bryta ner glyfosat i ett rikt medium innehållande både N och P. Försöken visar att två av de testade bakteriearterna, speciellt *Rhizobium japonicum* 10169, bryter ner glyfosat i närvaro av både N och P.

Diskussion

Konceptet med samtidig tillsats av en herbicid och mikroorganismer som kan bryta ner det aktiva ämnet fungerar eftersom det ger snabb nedbrytning av herbiciden med bibehållen avsedd herbicidal effekt. Det verkar också möjligt att hitta naturligt förekommande mikroorganismer som kan bryta ner glyfosat, trots närvaro av höga koncentrationer av kväve och fosfor. För projektet beviljades anslag ett år med möjlighet till förlängning. Fortsättningsansökan avslogs dock med motiveringen att industrin borde finansiera projektet. Därför kunde inte fortsatta studier utföras med anslag från SLF. Däremot fortsätter projektet som en del i MISTRAs DOM-program och med finansiering av en doktorand från FORMAS.

Referenser

Bergström, L. & Stenström, J. 1998. Environmental fate of chemicals in soil. *AMBIO* 27, 16-23.

KEMI, 2004. Försålda kvantiteter av bekämpningsmedel 2003.

SJV 2002. Förslag till handlingsprogram för användningen av bekämpningsmedel i jordbruket och trädgårdsnäringen till år 2006, Jordbruksverket. SJV 2002:7.

Ternan, N.G., Mc Grath, J.W., Mc Mullan, G. & Quinn, J.P. 1998. Organophosphonates: occurrence, synthesis and biodegradation by microorganisms. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 14, 635-647.

Torstensson, L. 1987. Kemiska bekämpningsmedel - transport, bindning och nedbrytning i marken. Aktuellt från Lantbruksuniversitetet 357. Mark - Växter, Uppsala.

Torstensson, L. 2000. Experiences of biobeds in practical use in Sweden. Pesticide Outlook 5, 206-211.

Törnquist, M., Kreuger, J. & Ulén, B. 2002. Förekomst av bekämpningsmedel i svenska vatten 1985-2001. Sammanställning av en databas. Resultat från monitoring och riktad provtagning i yt-, grund- och dricksvatten. Ekohydrologi 65 Uppsala 2002, Avdelningen för vattenvårdslära, SLU.

Publikationer

Eftersom projektet avbröts i förtid fanns inga publiceringsfärdiga resultat efter den av SLF finansierade projektiden 2005-2006.

Övrig resultatförmedling till näringen

Det MISTRA finansierade DOM-programmet beskrivs här: <http://www.mistra.org/dom> och delprojektet rörande "Reduktion av pesticidrester i mark med tillsats av mikroorganismer" beskrivs här: <http://www.mistra.org/program/dom/home/projects/coformulationofpesticidesandpesticidedegradingmicroorganisms.4.2ee5fdf51152229d5d9800015254.html>