



Miljø- og Fødevareministeriet
Miljøstyrelsen

Pesticiders vekselvirkning med jordbearbejdning og gødskning

Effekter på fauna, mikroorganismer og
udvalgte økosystem-funktioner

Bekæmpelsesmiddelforskning nr. 162,
2016

Titel:

Pesticiders vekselvirkning med jordbearbejdning
og gødskning

Forfattere:

Søren O. Petersen ¹
Charlotte Kjærgaard ¹
Lars Elsgaard ¹
Lars J. Munkholm ¹
Inge S. Fomsgaard ¹
Xianwang Kong ¹
Paul Henning Krogh ²
John Jensen ²

Institut for Agroøkologi, AU ¹
Institut for Bioscience, AU ²

Udgiver:

Miljøstyrelsen
Strandgade 29
1401 København K
www.mst.dk

År:

2016

ISBN nr.

978-87-93283-84-8

Ansvarsfraskrivelse:

Miljøstyrelsen vil, når lejlighed gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

Forord.....	5
Konklusion og Sammenfatning.....	7
Summary and Conclusion.....	10
1. Indledning	13
1.1 Betydningen af dyrkningsfaktorer for jordens biologi	13
1.1.1 Jordbearbejdning.....	13
1.1.2 Tilførsel af næringsstoffer.....	14
1.1.3 Pesticider	14
1.1.4 Vekselvirkninger	15
1.2 Biodiversitet og økosystem-funktioner.....	15
1.2.1 Aggregatstabilitet	15
1.2.2 Omsætning af afgrøderester	15
1.2.3 Trofisk struktur	16
1.2.4 Udvaskningsrisiko.....	16
1.3 Monitering af effekter	16
1.4 Formål og hypoteser	17
2. Materialer og metoder.....	19
2.1 Forsøgsareal	19
2.1.1 Det langvarige sædskifteforsøg.....	19
2.1.2 Jordfysiske egenskaber	19
2.1.3 Forsøgsdesign.....	20
2.1.4 Nedbør og temperatur	21
2.2 Valg af pesticider.....	21
2.2.1 Dosering	21
2.3 Drift af markforsøg	22
2.3.1 Jordbearbejdning og gødskning	22
2.3.2 Pesticidtilførsel.....	23
2.3.3 Høst, planteklip.....	23
2.4 Monitering af pesticideffekter under markforhold	25
2.4.1 Prøvetagningsstrategi	25
2.4.2 Mikroledyr.....	25
2.4.3 Regnorme	25
2.4.4 Potentiel nitrifikation.....	26
2.4.5 Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA).....	26
2.4.6 Jordstrukturegenskaber	27
2.5 Trofisk struktur belyst med stabile isotoper.....	27
2.6 Laboratorieforsøg med intakte kolonner	27
2.6.1 Forsøgsdesign.....	28
2.6.2 Udtagning og forbehandling af kolonner til forsøg	28
2.6.3 Pesticidtilførsel.....	28
2.6.4 Simulering af nedbør	28
2.6.5 Prøvetagning	30

2.6.6	Nedbrydning af halm	31
2.6.7	Mikroled dyr	31
2.6.8	Potentiel nitrifikation	31
2.6.9	Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA)	31
2.6.10	Mikrobiel diversitet, substratudnyttelse	31
2.6.11	Analyse af pesticider	32
2.7	Dataanalyser	33
2.7.1	Markforsøget – effekter og vekselvirkninger	33
2.7.2	Markforsøget - multivariate analyser	33
2.7.3	Kolonneforsøget - effekter og vekselvirkninger	35
3.	Resultater	36
3.1	Nedbør og temperatur	36
3.2	Afgrødens vækst	36
3.3	Effekter på jordstruktur	37
3.4	Effekter på jordlevende organismer i dyrkningsjorden	38
3.4.1	Regnorme	38
3.4.2	Mikroled dyr	45
3.4.3	Potentiel nitrifikation	53
3.4.4	Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA)	54
3.5	Multivariat analyse af effekter af dyrkningsfaktorer	60
3.5.1	Regnorme, springhaler, mider og mikrobiel biomasse	60
3.5.2	Mikrobiel biomasse, sammensætning	62
3.5.3	Regnorme, adulte og juvenile	63
3.5.4	Springhaler	64
3.5.5	Mider	65
3.6	Trofisk struktur belyst med stabile isotoper	66
3.6.1	Effekter på plante signaturer	66
3.6.2	Springhaler (collemboler)	66
3.6.3	Effekter på regnorme signaturer	66
3.7	Kolonneforsøg med simulerede nedbørshændelser	73
3.7.1	Strømningskarakteristika	73
3.7.2	Udvaskning af pesticider	75
3.7.3	Nedbrydning af halm	77
3.7.4	Mikroled dyr	78
3.7.5	Potentiel nitrifikation	79
3.7.6	Mikrobiel biomasse, membranlipider	80
3.7.7	Mikrobiel diversitet, substratudnyttelse	82
4.	Diskussion	83
4.1	Effekter af mancozeb og α -cypermethrin	83
4.2	Pesticiders vekselvirkning med andre dyrkningsfaktorer	85
4.2.1	Jordbearbejdning	85
4.2.2	Gødskning	86
4.3	Økosystemfunktioner	87
4.3.1	Nedbrydning af afgrøderester	87
4.3.2	Aggregat-stabilitet	87
4.3.3	Risiko for udvaskning af pesticider	88
4.4	Trofisk struktur, regnorme og springhaler	89
4.5	Perspektivering	89
4.5.1	Metodevalg	89
4.5.2	Forskningsbehov	90
4.5.3	Regulering af pesticidanvendelse	90
	Referencer	92

Forord

Projektet ”Pesticiders vekselvirkning med jordbearbejdning og gødskning” har været finansieret af Miljøstyrelsens program for bekæmpelsesmiddelforskning. Projektet er udført i perioden 2012-2014 ved Aarhus Universitet, Institut for Agroøkologi og Institut for Bioscience. I denne periode er projektets fremdrift blevet diskuteret med en følgegruppe bestående af:

Anne Mette Madsen, Det Nationale Forskningscenter for Arbejdsmiljø
Anne Munch Christensen, Miljøstyrelsen
Birgitte Cordua, Miljøstyrelsen
Birte Fonnesbech Vogel, Miljøstyrelsen
Carsten Suhr Jacobsen, GEUS
Christian Damgaard, Institut for Bioscience, AU
Jes Vollertsen, Institut for Byggeri og Anlæg, AAU
Jesper Lund-Larsen, Fagligt Fælles Forbund, 3F
Jørn Kirkegaard, Miljøstyrelsen
Kai Bester, Institut for Miljøvidenskab, AU
Kristian K. Brandt, Institut for Jordbrug og Økologi, KU
Lise Samsøe-Petersen, Miljøstyrelsen
Michael Nielsen, Videncenter for Landbrug

Vi vil gerne takke følgegruppen, og specielt de tre faglige granskere, Lise Samsøe-Petersen, Carsten Suhr Jacobsen og Kristian K. Brandt, for værdifulde kommentarer og forslag til forbedring af rapporten.

Desuden vil vi gerne takke David Croft og Arne Grud, Foulumgaard Forsøgsstation, for hjælp til etablering og gennemførelse af markforsøget, og Kristian Kristensen for gode råd vedrørende statistiske analyser. Et stort antal teknikere og laboranter takkes for hjælp til prøvetagninger og analyser af jord- og vandprøver.

Sammenfatning

Effektiv omsætning af afgrøderester og gødningsmaterialer er vigtig for landbrugets planteproduktion. Jordlevende organismer (mikroorganismer og fauna) er ansvarlige for fragmentering og den videre omsætning af organisk stof og næringsstoffer, som vedligeholder dyrkningsjordens frugtbarhed og fysisk-kemiske egenskaber. Brug af pesticider kan påvirke dyrkningsjorden negativt, hvis centrale funktioner forstyrres, og derfor er risikovurdering af pesticider nødvendig. Andre dyrkningsfaktorer påvirker dog også jordlevende organismer og deres aktivitet, og potentielt er der komplekse vekselvirkninger mellem disse faktorer, som bør inddrages i vurderingen af pesticideffekter. Dette blev bekræftet i det gennemførte projekt, hvor pesticideffekter på antal og aktivitet af jordlevende organismer i mange tilfælde blev modificeret af andre dyrkningsfaktorer, her valget af jordbearbejdningsstrategi og kvælstofkilde, ligesom der var en betydelig sæson- og årsvariation. Det understreger, at simple testsystemer med eksponering af enkeltorganismer giver et meget ufuldstændigt billede af pesticideffekter. Viden om vekselvirkninger mellem pesticider og andre dyrkningsfaktorer kan bidrage til forståelsen af pesticiders skæbne og effekter i naturlige miljøer.

Forsøgsstrategi

Projektet bag denne rapport udnyttede en unik mulighed for at belyse vekselvirkninger mellem pesticider og jordbearbejdning samt gødningsform indenfor rammerne af et langvarigt markforsøg ved Forskningscenter Foulum. Hovedbehandlingerne var to jordbearbejdningsstrategier (direkte såning eller pløjning) med fire gentagelser (marker, som repræsenterede blokke), hvor kombinationer af kvælstofgødskning (handelsgødning eller kvæggylle) og pesticidbehandling (fungicidet mancozeb, insekticidet α -cypermethrin eller en ubehandlet kontrol) blev integreret i 3 m $\times$ 10 m underparceller. Dele af underparceller med tilførsel af handelsgødning samt fungicid eller insekticid blev i under-underparceller behandlet med ekstra doser af de to pesticider for også at undersøge betydningen af dosis, og af vekselvirkninger mellem de to pesticider. Valg af pesticider og dosering skete på baggrund af dosis-reponsforsøg på et begrænset antal responsvariable.

Et monitoringsprogram undersøgte korttidseffekter (3-4 uger) og langtidseffekter (3-4 måneder) af pesticidbehandling i vinterhvede i to forsøgsår (2012 og 2013). Populationer af regnorme (0-30 cm dybde) samt mikroleddyr (mider, springhaler) (0-5 cm dybde) blev kvantificeret på arts- eller gruppeniveau. Mikrobielle populationer blev karakteriseret gennem analyser af membranlipider (*phospholipid fatty acids*, PLFA) samt målinger potentiel nitrifikation i jord fra 0-5 cm dybde. Endvidere blev isotopsignaturen ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) af regnorme og springhaler samt potentielle fødeemner analyseret for at beskrive dyrkningsfaktorerens mulige effekter på jordens fødenet.

Dyrkningssystemet kan modificere pesticiders effekt på vigtige funktioner (økosystemtjenester), såsom nedbrydning af afgrøderester, stabiliteten af jordstruktur, og risikoen for udvaskning af pesticider. For at belyse sådanne effekter blev der i det ene forsøgsår lavet separate målinger på intakt jord udtaget i markforsøget. Intakte kolonner (0-18 cm dybde) blev indsamlet i april og opfugtet til et veldefineret vandpotentiale, hvorefter pesticidbehandlingerne blev simuleret og kolonnerne inkuberet i 4 uger, hvor nedbør blev simuleret efter enten 1 eller 4 uger for at vurdere betydningen af denne faktor.

Resultater fra monitoringsprogrammet blev analyseret med multipel lineær regression for individuelle responsvariable; på grund af de mange forsøgsbehandlinger (20 i alt) blev der anvendt separate modeller for grundbehandlingerne, og for behandlinger med flere pesticidniveauer. Med det formål at sammenholde information vedrørende flere responsvariable, blev multivariate analyser (reduktionsanalyser, RDA) gennemført for forskellige grupperinger af responsvariable: 1) organismegrupper, 2) mikrobielle indikatorer, 3) regnorme, 4) springhaler og 5) mider.

Hypoteser

De planlagte forsøg skulle belyse følgende hypoteser:

1. I systemer med direkte såning vil et skærmende lag af afgrøderester på jordoverfladen reducere pesticideffekter på jordlevende organismer, men nedbrydningen af afgrøderester kan blive forsinket.
2. Husdyrgødning vil, med sit indhold af energirige substrater, reducere pesticideffekter på jordlevende organismer sammenlignet med handelsgødning.
3. Pesticider kan svække jordens struktur ved at hæmme biologiske mekanismer til stabilisering af aggregater; denne effekt vil være mindre med direkte såning hvor afgrøderester reducerer jordens eksponering for pesticider.
4. Ved udvaskning under nærmættede forhold, hvor kontinuiteten af det aktive strømningsvolumen er begrænset, vil risikoen for udvaskning af pesticider være mindre i jord under direkte såning sammenlignet med pløjet jord.

Hovedresultater

Der var store sæsonmæssige variationer, og variationer mellem år, mht. populationer af regnorme og mikroledyr. Bortset fra en koldere og mere nedbørsrig juni måned i 2012 var klimaet i forsøgsperioden normalt, og variationerne må derfor antages at afspejle en typisk tidsmæssig variation, som der skal tages højde for ved evaluering af pesticideffekter under markforhold.

Der var en negativ hovedeffekt af pesticidbehandling på forekomsten af mider i markforsøget, og generelt blev alle grupper negativt påvirket, specielt af insekticidet. Dette var i modsætning til springhaler, hvor nogle arter (men ikke alle) blev forøget i antal. For begge grupper var effekter af fungicidet mindre eller fraværende. Negative effekter på næste led i fødekæden, makroarthropoder, diskuteres som en mulig forklaring på den positive effekt på springhaler.

Der var signifikant flere individer af Stor orm (*Lumbricus terrestris*) i direkte sået jord end i pløjet jord, og en positiv effekt af kvæggylle fremfor handelsgødning for *L. terrestris* og Lang orm (*Aporrectodea longa*). Begge tendenser blev bekræftet af en RDA-analyse på grundlag af antal adulte (voksne) og juvenile (unge) individer af de fire arter. Den højeste dosis af insekticidet havde en negativ effekt på forekomsten af *A. longa*; isotopsignaturen af denne orm viste, at dens fødesammensætning blev påvirket af behandlingen, således at en større del af føden blev fundet nede i jorden.

Isotopsignaturer af faunagrupper og substrater (frisk plantemateriale, førne, handels- og husdyrgødning, jord) bekræftede for både regnorm og springhaler kendt viden om de forskellige livsformer, hvor nogle er ægte jordlevende (endogæiske), mens andre (aneciske) arter finder føde ved jordoverfladen. Der var markant forskel på isotopsignaturen med kvælstof i handelsgødning og kvæggylle uafhængigt af jordbearbejdningsmetode, så den fysiske forstyrrelse af pløjning havde således ikke påvirket fødevalget.

Noget uventet var der ingen målbar effekt af pesticider på potentiel nitrifikation (egt. potentiel ammoniak oxidation), selvom dosis-responsforsøg indikerede, at der skulle være en signifikant negativ effekt af fungicidet. Det blev konkluderet, at pesticidernes afsætning nær jordoverfladen havde forhindret kontakt med nitrificerende mikroorganismer. Heller ikke den samlede mikrobielle biomasse blev påvirket af pesticidbehandlingerne. Derimod var der signifikante effekter på udvalgte fedtsyrer, som i renkulturstudier er blevet knyttet til forskellige former for miljømæssig stress. Det kan fortolkes som enten sub-letale effekter på den mikrobielle biomasse eller forskydninger i artssammensætningen.

Stabiliteten af aggregater i jord under direkte såning var, ikke uventet, større end i pløjet jord. Det kunne forklares med det højere indhold af organisk materiale, som indgår i opbygningen af aggregater. Insekticidet viste en destabilisering af aggregater, målt som lerdispergering, mens der ikke var pesticideffekter på andelen af vådstabile aggregater eller trækstyrke.

Nedbørshændelser blev simuleret i intakte kolonner udtaget i markforsøget, og rester af pesticiderne mancozeb (i form af nedbrydningsproduktet etylenthiourea, ETU) og α -cypermethrin blev analyseret i fraktioner af det afstrømmende vand. Vandets strømningsmønster i kolonner fra jord under direkte såning (DS) og pløjning (PL) blev undersøgt ved at mærke vandet med tritium (^3H). Jorden fra begge jordbearbejdningsbehandlinger viste en svag præferentiel strømning i makroporer. Der var en tendens til tidligere gennembrud i DS-jord, som indikerede en større porekontinuitet, men også lavere maksimale koncentrationer af ^3H i DS-jord. Det skyldtes muligvis et lavere makropore-volumen i denne jordbehandling, som ville give større mulighed for diffusiv udveksling med jordmatricen. Det stærkt sorberende insekticid, α -cypermethrin, blev ikke fundet i afstrømmende vand. Nedbrydningsproduktet af fungicidet, ETU, blev fundet ved simuleret nedbør efter 1 uge, mens der kun var enkelte af ETU efter 4 uger, hvor stoffet formentlig var blevet nedbrudt.

Halmrester på overfladen af kolonner fra jord med direkte såning blev fjernet efter inkubationen og inkuberet separat for at observere eventuelle pesticid-effekter på halmens omsætning, målt som respirationsaktivitet. Der var forøget respiration i prøver med pesticider, og målingerne kunne altså ikke bekræfte hypotesen om en hæmmet nedbryderaktivitet. Det er uklart, om den højere respiration kunne skyldes stress-induceret metabolisme.

Pesticideffekter på jordlevende organismer blev også undersøgt efter inkubation af kolonner. Populationer af både mikroledyr og mikroorganismer var større i DS-jord end i PL-jord. I lighed med monitoreringen i marken stimulerede insekticidet, men ikke fungicidet, antallet af springhaler. Der blev observeret en signifikant reduktion af potentiel nitrifikation med fungicidet, som indikerede en bedre fordeling i jorden end under markforhold, mens sammensætningen af mikrobiel biomasse kun viste mindre kvalitative ændringer, som ikke kunne knyttes til stress, men muligvis til temperatur-adaptation.

Konklusioner

Det store datamateriale, som er indsamlet i projektet, dokumenterer en høj grad af kompleksitet, hvor andre dyrkningsfaktorer, herunder sæson- og årsvariation, vekselvirkede med pesticidbehandlingerne mht. effekter på jordlevende organismer. Pesticideffekter forventedes at være mindre i DS-jord med et beskyttende lag af afgrøderester, men ved direkte såning er der også en koncentration af jordlevende organismer nær jordoverfladen, og dermed en forøget risiko for eksponering sammenlignet med pløjet jord. Det var ikke muligt at afgøre, om kvæggylle, sammenlignet med handelsgødning, modvirkede pesticideffekter ved at levere energi til stofskifteprocesser fremkaldt af toksiske effekter; der var generelt en forøgelse af vækst og aktivitet, som dominerede det samlede billede.

Der blev observeret få, men signifikante hovedvirkninger af pesticidbehandling, specielt med hensyn til førneædende regnorme og mider på arealer behandlet med α -cypermethrin. Der var også tegn på stress-respons hos den mikrobielle biomasse. Omvendt var der ofte hovedvirkninger af både jordbearbejdningsmetode og gødningsform, som udløste større forstyrrelser end pesticiderne. Risikoen for udvaskning blev undersøgt ved nærmættede forhold; her er der behov for at undersøge effekterne i andre jordtyper og ved andre vandpotentialer.

Projektet har dokumenteret et kompliceret samspil mellem dyrkningsfaktorer, som bør indgå i risikovurderinger, f.eks. ved at supplere traditionelle dosis-reponsforsøg med mere realistiske testsystemer som også kan tage højde for indirekte effekter. Negative effekter af pesticider på populationsstørrelser forekom i dette projekt primært ved stærkt forhøjede doser, men også subletale effekter, og ændringer i artssammensætning, er vigtige, eftersom tab af biodiversitet kan mindske dyrkningssystemets robusthed overfor f.eks. klimaforandringer.

Summary

Efficient recycling of residues and manures is important for crop production within agriculture. Soil-dwelling organisms (microflora and fauna) are responsible for fragmentation and subsequent decomposition of organic matter and nutrients that contribute to maintenance of soil fertility and soil physical and chemical properties. The use of pesticides may affect cultivated soils negatively, if central functions are disturbed, and therefore risk assessment of pesticides is necessary. Other management factors, however, also influence soil organisms and their activity, and potentially there are complex interactions between these factors which should be taken into account in the evaluation of pesticide effects. This was confirmed in the present project, where pesticide effects on numbers and activity of soil organisms were in many cases modified by other management factors, i.e., the choice of tillage practice and nitrogen source, and additionally there was a considerable seasonal and annual variation. It underlines that simple test systems with exposure of individual species provide a very incomplete picture of pesticide effects. Knowledge about interactions between pesticides and other management factors may contribute to better understand the fate and effects of pesticides in natural environments.

Experimental approach

The research project behind this report made use of a unique opportunity to examine interactions between pesticides and tillage, as well as nitrogen source, within the boundaries of a long-term field experiment at Research Centre Foulum. Main treatments were two tillage strategies (direct seeding or moldboard ploughing) with four replicates (fields, serving as blocks in the statistical design), where combinations of nitrogen (mineral fertilizer or cattle slurry) and pesticide treatment (the fungicide mancozeb, the insecticide α -cypermethrin or an unamended control) were integrated in 3 m $\times$ 10 m sub-plots. Parts of sub-plots receiving mineral fertilizer and either fungicide or insecticide were treated with additional doses of the two pesticides in sub-sub-plots in order to examine also the importance of dose, and of interactions between the two pesticides. Pesticides doses were decided on the basis of dose-response experiments with a limited number of response variables.

A monitoring program investigated short-term (3-4 weeks) and long-term effects (3-4 months) of pesticide applications in winter wheat in two experimental years (2012 and 2013). Populations of earthworms (0-30 cm depth) and microarthropods (0-5 cm depth) were quantified to species or group level. Microbial populations were characterized through membrane lipid analyses (phospholipid fatty acids, PLFA), and by measurements of potential nitrification activity in soil from 0.5 cm depth. Also, isotope signatures ($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$) of earthworms and springtails (collembola), and potential food sources, were analyzed to characterize the possible impact of management factors on soil food webs.

The cropping system can modify effects of pesticides on important soil functions (*ecosystem services*), such as decomposition of crop residues, stability of soil structure, and the risk for leaching of pesticides. In order to investigate such effects, in one experimental year separate measurements were made on intact soil collected from the field experiment. Intact columns (0-18 cm depth) were collected in April and adjusted to a well-defined soil water potential, and then pesticide treatments were simulated and columns incubated for 4 weeks; precipitation was simulated after 1 or 4 weeks to examine the importance of this factor.

Results from the monitoring program were analyzed by multiple linear regression for individual response variables; due to the many experimental treatments (20 in total), separate models were used for main treatments, and for treatments involving several pesticide application rates. With the purpose of analyzing data across several response variables, this was supplemented with multivariate analyses (redundancy analyses, RDA) for the following groups of response variables: 1) organism groups, 2) microbial indicators, 3) earthworms, 4) springtails and 5) mites.

Hypotheses

The experiments were planned to address the following hypotheses:

1. In systems with direct seeding, a protecting layer of crop residues at the soil surface can reduce pesticide effects on soil organisms, but decomposition of crop residues could be delayed.
2. Livestock manure will, via its content of energy rich materials, reduce pesticide effects on soil organisms compared with mineral fertilizer.
3. Pesticides may weaken soil structure by inhibition of biotic mechanisms for stabilization of soil aggregates; this effect will be less by direct seeding where crop residues will reduce the exposure of soil to pesticides.
4. By leaching under near-saturated conditions, where continuity of pores with active water flow is limited, the risk for leaching of pesticides will be smaller in soil under direct seeding compared to ploughed soil.

Main results

There were substantial seasonal variation, and variation between years, with respect to populations of earthworms and microarthropods. Except for a colder and more wet June in 2012, the climate in the monitoring period was normal, and the variations observed must therefore be considered typical, and necessary to take into account when evaluating pesticide effects under field conditions.

A negative main effect of pesticide treatment on the abundance of mites was observed in the field monitoring study, and generally all taxonomic groups were affected negatively, especially by the insecticide. This was in contrast to springtails, where some species (but not all) increased in numbers. For both groups effects of the fungicide were small or absent. Negative effects on the next level in food chains, macroarthropods, is discussed as a possible explanation for the positive effects on springtails.

There was a significantly higher number of individuals of *L. terrestris* in soil under direct seeding than in ploughed soil, and a positive effect of cattle slurry as opposed to mineral fertilizer on *L. terrestris* and *A. longa*. Both trends were confirmed by an RDA on the basis of numbers of adult and juvenile earthworms of the four species observed. The highest dose of the insecticide had a negative effect on the abundance of *A. longa*; the isotope signature of this worm showed that it had changed the composition of food sources in response to this treatment, so that a higher proportion of the food was found belowground.

Isotope signatures of fauna groups and substrates (fresh plant material, litter, mineral fertilizer, cattle slurry, soil) confirmed for both earthworms and springtails existing knowledge about their contrasting life forms, where some are truly soil-dwelling (endogeic), while other (anecic) species find their food at the soil surface. There was a marked difference in the isotopic signature with mineral fertilizer as opposed to cattle slurry independent of tillage method, indicating that the physical disturbance did not influence the choice of food.

Somewhat unexpected there was not measurable effect of pesticides on potential nitrification (actually, potential ammonia oxidation), even though a dose-response experiment had indicated there would be a significant inhibition of the fungicide. It was concluded that, since pesticides are deposited at the soil surface, contact with nitrifying microorganisms belowground had largely been prevented. The size of the microbial biomass was not affected by pesticide treatments either. In contrast, significant concentration changes were seen for selected fatty acids which in pure culture studies have been associated with different types of environmental stress. This could be interpreted as sublethal effects on the microbial biomass, but it has to be stressed that also taxonomic changes may have occurred.

The stability of aggregates in soil under direct seeding were, not unexpected, larger than in ploughed soil. This could be explained by the higher content of organic matter that is available for formation of aggregates. The insecticide showed a destabilization of aggregates, as determined by dispersible clay, whereas no pesticide effects were seen for proportions of wet-stable aggregates or tensile strength.

Precipitation events were simulated for intact columns collected in the field experiment, and recovery of the pesticides mancozeb (in the form of the degradation product ethylenethiourea, ETU) and α -cypermethrin was determined in fractions of the leaching water. The flow pattern of water in columns with soil under direct seeding (DS) and ploughing (PL) was examined by labelling of the water with tritium (^3H). The soil from both tillage strategies showed a weak tendency for preferential flow in macropores. There was a tendency for earlier break-through in DS soil, indicating a higher degree of pore continuity, but also lower peak concentrations of ^3H . Possibly this was due to the smaller macropore volume in this tillage treatment which would enable more diffusive exchange with the soil matrix. The strongly sorbing insecticide, α -cypermethrin, was not found in leachates. The decomposition product of the fungicide, ETU, was found after simulated rainfall 1 week after pesticide application, whereas only a trace of ETU was recovered after 4 weeks where presumably the compound had been degraded.

Straw residues at the surface of columns with soil under direct seeding were removed after the 4-week incubation and incubated separately to observe any effects on respiratory activity. There was a stimulation in pesticide amended samples compared to the control, and hence these measurements could not confirm the hypothesis that decomposer activity would be inhibited. It is not clear if the higher respiration rates could be due to stress-induced metabolism.

Pesticide effects on soil organisms were also examined after the incubation of soil columns. Populations of both microarthropods and microorganisms were greater in DS soil compared to PL soil. In accordance with the field monitoring program, the insecticide, but not the fungicide, stimulated springtail numbers. A significant reduction in potential nitrification activity was observed with the fungicide which indicated a better distribution in the soil than under field conditions. The microbial biomass showed only minor, qualitative changes in PLFA composition that could not be associated with stress, but possibly with adaptation to a higher temperature.

Conclusions

The large data material compiled in this project documents a high degree of complexity, where other management factors, including seasonal and annual variation, interacted with pesticide treatments with respect to effects on soil organisms. Pesticide effects were expected to be smaller in DS soil with a protective layer of crop residues at the surface, but with direct seeding there will also be a higher concentration of soil organisms near the soil surface, and thus a higher risk of exposure compared with ploughed soil. It was not possible to determine if cattle slurry, compared with mineral fertilizer, alleviated pesticide effects by supplying energy for metabolic activity caused by toxic effects of pesticides; there was generally a stimulation of growth and activity which dominated the overall picture.

There were only few, but significant main effects of pesticide treatments, especially on litter-feeding earthworms and mites in field plots treated with α -cypermethrin. There were also signs of stress-related responses with the microbial biomass. On the other hand, often main effects of tillage or nitrogen source often induced greater disturbances than pesticides. The risk for leaching was examined under near-saturated soil conditions; there is a need to examine effects with other soil types and other soil water potentials.

This project demonstrated a complex interaction between management factors that should be considered in risk assessments, for example by supplementing traditional dose-response tests with more realistic test systems that can also take indirect effects into account. Negative effects of pesticides on populations occurred in this project mainly at highly elevated doses, but also sublethal effects, and changes in species composition, are important, as loss of biodiversity can reduce the robustness of cropping systems towards, e.g., climate change.

1. Indledning

For at dyrkningsjorden kan fungere effektivt og sikkert som medie for planteproduktion, skal en række krav være opfyldt med hensyn til bl.a. vandretention og afdræning, plantetilgængelighed af næringsstoffer samt neutralisering af miljøfremmede stoffer. Alle disse jordegenskaber påvirkes direkte eller indirekte af mængden, fordelingen og sammensætningen af organisk stof, som tilføres i form af afgrøderester eller gødning. Jordlevende organismer (såsom biller, regnorme, mikrolededyr og mikroorganismer) er ansvarlige for den fysiske fragmentering og videre nedbrydning af tilført organisk stof, som er en forudsætning for opretholdelse af jordens struktur og frugtbarhed, og derfor er det vigtigt at kvantificere effekter af dyrkningsfaktorer på jordlevende organismer.

Anvendelsen af pesticider er én blandt flere dyrkningsfaktorer i planteproduktionen, som potentielt kan påvirke jordlevende organismer. Men det er ukendt, i hvilket omfang pesticideffekter modificeres af andre beslutninger vedr. dyrkningsmetoder, der potentielt kan forstærke eller eventuelt neutralisere pesticiders effekt og skæbne i jordmiljøet. Dette projekt blev planlagt for at belyse pesticideffekters vekselvirkning med gødsning og jordbearbejdning.

1.1 Betydningen af dyrkningsfaktorer for jordens biologi

1.1.1 Jordbearbejdning

Jordbearbejdning benyttes før etablering af nye afgrøder for at indarbejde og fremme omsætningen af afgrøderester og gødning, og for løsne jorden med henblik på at sikre beluftning. I vækstsæsonen kan jordbearbejdning desuden anvendes til at kontrollere ukrudt. Mest indgribende er pløjning, som ”vender” jorden i pløjelaget på hovedet, hvad der indebærer at fauna, som er specialiseret til en levevis nær jordoverfladen, fjernes fra deres naturlige miljø (Petersen, 2002). Pløjefri dyrkning, især direkte såning, har i de seneste år fået opmærksomhed som en strategi, der kan mindske forstyrrelser af jordens funktioner og på samme tid mindske udgiften til markoperationer (Sainju et al., 2006). Ved reduceret jordbearbejdning vil der desuden være en mere permanent effekt på fordelingen af organismer, som skyldes en koncentration af afgrøderester og tilført gødning nær jordoverfladen (Petersen et al., 2008; Giacomini et al., 2010; Schjønning og Thomsen, 2013).

Fraværet af jordbearbejdning kan medføre kompaktion af jorden under sådybde (Munkholm et al, 2003; Kadziene et al., 2011; Schjønning og Thomsen, 2013). Omvendt vil etablerede makroporer (rodkanaler, regnormegange) have en lang levetid i horisonterne under pløjelaget (Hagedorn & Bundt, 2002; Whalen & Sampedro, 2010). I forhold til pesticidanvendelse kan direkte såning betyde, at den direkte kontakt mellem pesticider og jordlevende organismer reduceres af afgrøderester på jordoverfladen. Nedbør kan efterfølgende transportere unedbrudte pesticider ned i jorden, men der er begrænset viden om udvaskningsrisikoen, som kan afhænge af jordens porositet og porekontinuitet, eksempelvis i form af regnormegange (Lægdsmand et al., 2009), og dermed af dyrkningssystemet.

I dette projekt undersøges pesticideffekter i jord under hhv. pløjning og direkte såning.

1.1.2 Tilførsel af næringsstoffer

Både handels- og husdyrgødning er vigtige kilder til kvælstof og andre næringsstoffer i planteproduktionen. Husdyrgødning indeholder desuden varierende mængder organisk stof, der som energi- og kulstofkilde direkte eller indirekte stimulerer vækst af jordlevende organismer (Whalen & Sampedro, 2010). Store mængder plantenæringsstoffer kan dermed blive bundet i jordlevende organismer, primært mikroorganismer som er karakteriseret ved høje vækstrater sammenlignet med jordens fauna (Anderson, 1987).

Tilførsel af husdyrgødning fremfor handelsgødning kan potentielt ændre arternes eksponering og muligvis også robusthed overfor økotoksikologiske effekter. Tejada et al (2011) viste således, hvordan tilførslen af såvel spildevandsslam og kvægmøg nedsatte effekterne af insekticidet chlorpyrifos. Mens pesticidet signifikant nedsatte reproduktion og vækst hos to regnormearter ved eksponering i jord alene, så voksede og reproducerede regnorme mere end i kontrollen, hvor pesticidet blev tilført jorden sammen med henholdsvis slam og komøg. Hvorvidt den gavnlige effekt af det organisk materiale kan tilskrives en reduktion i biotilgængeligheden og/eller en øget fitness hos de eksponerede dyr, giver forsøgsdesignet ikke mulighed for at vurdere. En række andre studier, f.eks. Styriš et al (2010), har dog vist, at jordens organiske indhold kan mindske giftigheden af pesticider gennem en reduceret biotilgængelighed, målt som den frit opløselige fraktion i jordens porevand.

Eksponering til pesticider og andre miljøfremmede stoffer i økotoksiske niveauer kan tilsvarende føre til stress-induceret metabolisme (Calow, 1991). Elsgaard et al. (2001a) gennemførte et dosis-responsforsøg med det overflade-aktive stof lineær alkylbenzen sulfonat (LAS), der forstyrrer basale funktioner i cellemembranen (Lichtenberg, 1985; Lichtenberg et al., 2013). Her inhiberede LAS en række specifikke mikrobielle populationer/aktiviteter med mellem 25 og 100%. Men i modsætning til specifikke mikrobielle aktiviteter blev jordens samlede respiration forøget med stigende LAS-koncentration (Elsgaard et al., 2001a), en effekt der blev forklaret med et forhøjet stofskifte for at kompensere for skader på cellemembranen. Et senere forsøg (Elsgaard et al., 2001b) viste, at LAS tilført i spildevandsslam var mindre økotoksisk end LAS tilsat direkte til jorden, i overensstemmelse med undersøgelsen af regnorme, der blev omtalt i forrige afsnit. Her kan sorption af miljøfremmede organiske stoffer til det organiske stof det organiske gødningsprodukt dog også spille en rolle for den mindre biotilgængelighed (Song & Guo, 2014).

Med henblik på at undersøge betydningen af at tilføre energirige substrater sammen med kvælstofgødning, sammenlignes i dette projekt pesticideffekter efter tilførsel af hhv. handelsgødning og kvæggylle.

1.1.3 Pesticider

Pesticider anvendes i den konventionelle planteproduktion for at begrænse udbredelsen af insektangreb, ukrudt og plantesygdomme. Der ligger en økotoksikologisk vurdering til grund for godkendelsen, men den er baseret på udvalgte testorganismer og standardiserede testbetingelser som specificeret af EFSA (European Food Safety Authority), som ikke nødvendigvis repræsenterer forholdene i marken. Den internationale standardiseringsorganisation (ISO) har dog publiceret en række guidelines for, hvordan man designer og rent praktisk indsamler invertebrater i feltforsøg (f.eks. ISO 23611 nr. 1-6). Disse anvisninger har i store træk været fulgt i indeværende projekt. Samlet set mangler viden om, hvordan pesticideffekter påvirkes af de øvrige dyrkningsfaktorer.

Forskellige grupper af jordlevende organismer kan have meget forskellig sensitivitet overfor pesticider, eller effekter kan være indirekte. For faunaen kan sublethale effekter på vækst, reproduktion eller adfærd, og forskellig følsomhed hos adulte og juvenile individer, resultere i en kompleks respons (f.eks. Zhou et al., 2008). Nogle funktioner, såsom bakteriel nitrifikation (en nøgleproces i kvælstofkredsløbet), udføres af fylogenetisk snævre grupper af organismer, som gør funktionen relativt følsom overfor stresspåvirkninger. Det første trin, ammonium oxidation, benyttes ofte som effekt-indikator (*eng.* endpoint) i økotoksikologiske studier (f.eks. Krogh et al., 1996).

Pesticideffekter på faunaen kan vurderes kvalitativt ved at se på ændringer i artssammensætning eller aldersfordeling (de Jong et al., 2006; Pelosi et al., 2014). For jordens mikrobielle samfund kan molekyllære og biokemiske profiler tilsvarende afsløre ændringer i taksonomisk sammensætning eller stresspåvirkninger (Petersen and Klug, 1994; Campbell et al., 2003).

Med henblik på at få et nuanceret billede af kvantitative og kvalitative effekter af pesticidanvendelse, vurderes i dette projekt effekter på en række grupper af jordlevende organismer, ligesom også kvalitative karakteristika vurderes.

1.1.4 Vekselvirkninger

Det er nødvendigt at vurdere pesticideffekter i sammenhæng med andre dyrkningsfaktorer, herunder sædskifte, gødskningsstrategi og jordbearbejdning, som også kan have betydende effekter på jordlevende organismer. For eksempel kan jordbearbejdning reducere populationen af regnorme med op til 80% afhængigt af timing og teknik (e.g., Chan 2001; Krogh et al. 2007), hvilket helt eller delvist kan overskygge effekter af pesticider. Skal man vurdere strategier til kontrol af skadevoldere og sygdomme i planteproduktionen med henblik på at sikre biodiversitet og økosystem-funktioner (se næste afsnit), er det nødvendigt at vurdere både direkte effekter af pesticider og andre dyrkningsfaktorer, og deres vekselvirkninger. Det kan kun ske med et forsøgsdesign, hvor de enkelte dyrkningsfaktorer kan vurderes hver for sig og sammen.

1.2 Biodiversitet og økosystem-funktioner

Den aktuelle viden om pesticideffekter på jordlevende organismer er begrænset. Generelt er antal og diversitet vigtige for et økosystems robusthed, dvs. evne til at imødegå stresspåvirkninger og opretholde en given steady state, og denne evne er central for dyrkningssystemers bæredygtighed. Derfor er både strukturelle og funktionelle effekt-indikatorer relevante for studier af pesticideffekter.

1.2.1 Aggregatstabilitet

Omsætning af organisk stof i jorden er vigtig for jordens strukturegenskaber. Faunaens fragmentering af afgrøderester fremmer interaktion med jordpartikler i forbindelse med aggregatdannelse (Anderson, 1987), mens mikrobiel aktivitet kan stabilisere jordstrukturen via hyfedannelse (svampe) og ekskretion af polysaccharider (Chenu, 1989; Tisdall, 1991). Og da jordstrukturen har betydning for vandretention og infiltration, og dermed for udvaskningsrisiko, så kan utilsigtede effekter af pesticider på aggregatdannelse have alvorlige konsekvenser for dyrkningssystemet.

Uden pløjning vil afgrøderester akkumulere tæt ved eller på jorderoverfladen, hvilket reducerer vekselvirkningen med jordens mineralske partikler, med betydning for aggregatdannelse og dermed bevaring af jordens strukturegenskaber (Anderson, 1987). Pesticideffekter på jordlevende organismer kan ligeledes hæmme integrationen af tilført organisk stof i nye aggregater, og kan destabilisere eksisterende aggregater. I dette projekt belyses pesticideffekter på jordstrukturen med forskellige metoder.

1.2.2 Omsætning af afgrøderester

Effektiv omsætning af afgrøderester er en forudsætning for recirkuleringen af plantenæringsstoffer samt flere andre økosystemfunktioner. I systemer med direkte såning (DS) kunne den begrænsede kontakt mellem afgrøderester på jorderoverfladen og jordmatricen, men også den større eksponering for pesticider, forsinke denne omsætning i tilfælde af toksiske niveauer. Beare et al. (1993) fandt, at fungicidet Captan reducerede antallet af mikrobielle kolonidannende enheder (CFU) og tætheden af svampehyfer under DS sammenlignet med pløjet jord (PL). Desuden reducerede fungicidet nedbrydningen af afgrøderester i DS- og PL-jord med hhv. 23 og 7%, det vil sige med den største sideeffekt af pesticidet i dyrkningssystemet med direkte såning. Nedbrydning af afgrøderester undersøges i dette projekt gennem respirationsmålinger.

1.2.3 Trofisk struktur

Der findes en række metoder til at beskrive jordbundens fødenet kvantitativt (Traugott et al., 2013). En af disse er analyser af stabile isotoper, som har været brugt nu i to til tre årtier indenfor jordbundsøkologi, til at give indblik i den trofiske struktur blandt de grundlæggende sammenhængende elementer i jordbundens økosystem, naturligvis i den udstrækning disse elementer er blevet indsamlet og medtaget i analysen (Spain et al., 1990; Briones et al., 1999; Traugott et al., 2013). Stabile isotoper har ikke tidligere været anvendt i undersøgelser af jordbunds-økosystemer under indflydelse af potentielle stressfaktorer såsom pesticider, gødsning og jordbehandling. Girard et al. (2011) undersøgte dog sammenhængen mellem gødsning og afgrøder, og Birkhofer et al. (2011) undersøgte generalist-predatorer i økologiske og konventionelle dyrkningssystemer. En tommelfingerregel siger, at $\delta^{15}\text{N}$ øges med 3‰ fra et trofisk niveau til det næste, og $\delta^{13}\text{C}$ med 1‰, men observerede ændringer varierer meget, og der er fortsat behov for mere viden (Perkins et al. 2014). Her undersøges isotopsammensætningen af jord, afgrøde, afgrøderester, ukrudt samt gødningsmaterialer og sammenholdes med sammensætningen for de forskellige invertebrat-organismegrupper, som er indsamlet i forskningsprojektet. Ændringer i jordbundøkologiens struktur og funktion som følge af dyrkningsfaktorerne afspejles i isotopsignaturen, som er målet for denne teknik. Med andre ord er isotopsignaturer her anvendt som en komparativ metode med fokus på forskellige jordbundsøkologiske tilstande forårsaget af dyrkningsfaktorer.

1.2.4 Udvaskningsrisiko

Jordens struktur, herunder porøsitet, porestørrelsesfordeling samt porekontinuitet er styrende parametre i forhold til risikoen for udvaskning af pesticider (Lægdsmand et al., 2009). Strukturelle makroporer, som bioporer og rodkanaler, kan fungere som præferentielle strømningsveje for såvel opløste samt kolloid-bundne pesticider (Lægdsmand et al., 2009). Præferentiel strømning via makroporer bevirker en hurtig transport til dybere jordlag og dræn/grundvand, med reduceret interaktion med den omgivende jordmatrice (Smith et al., 1985). Ved forårsudbringning af pesticider sker infiltrationen af nedbør dog oftest under umættede (nærmættede) forhold, hvor de store strukturelle makroporer er afdrænede, og hvor vandet derfor infiltrerer via mindre vandfyldte (aktive) poresystemer (Kjaergaard et al., 2004; Glæsner et al., 2011). Såvel volumenfraktionen samt kontinuiteten af det vandfyldte aktive strømningsvolumen vil være styrende for transporten af vand, opløst stof og kolloider (Kjaergaard et al., 2004a; 2004b). Under umættede forhold vil kontinuiteten af det aktive strømningsvolumen være påvirket af omfanget af drænede luftfyldte porer, der afbryder det sammenhængende vandfyldte poresystem (Kjaergaard et al., 2004a).

Jordbearbejdning løsner jorden, hvorved dens jordens porøsitet øges (Soane et al., 2012). Ved jordbearbejdning, i form af harvning og pløjning, reduceres andelen af stabile bioporer og rodkanaler sammenlignet med direkte såning (Soane et al., 2012). Samtidig vil der ved direkte såning akkumuleres halm- og stubrester på jordoverfladen, hvilket giver mulighed for at udsprøjtede pesticider bindes direkte til afgrøderesten, hvorved pesticid-jordinteraktioner mindskes. Dette kan potentielt medføre større udvaskning af pesticider under mættede forhold, hvor transporten foregår præferentielt via jordens makroporer. Under umættede (nærmættede) forhold vil risikoen for udvaskning af pesticider bundet til afgrøderester på jordoverfladen være reduceret sammenlignet med udvaskningsrisikoen under mættede forhold.

Det er således usikkert i hvilken grad udvaskningsrisikoen under nærmættede forhold vil være højere ved direkte såning sammenholdt med pløjet jord. Gantzer & Blake (1978) fandt for en jord med 27% ler, at mættet hydraulisk ledningsevne var mere end dobbelt så høj i pløjet jord som i jord under direkte såning, hvilket taler for en større udvaskningsrisiko under nærmættede forhold, om end forskelle vil være mindre i en sandet jord. Risikoen for udvaskning af pesticider undersøges i dette projekt under kontrollerede forhold i laboratoriet.

1.3 Monitorering af effekter

I vurderingen af pesticideffekter er det tidsmæssige forløb vigtigt. Hvis negative effekter på organismegrupper eller nøglefunktioner er kortvarige, vil konsekvenser for planteproduktion eller jordens egenskaber være ubetydelig. Domsch et al. (1983) præsenterede en konceptuel model til evaluering af effekter af kemiske stoffer på mikroorganismer og mikrobielle aktiviteter som funktion af tiden efter eksponering. Man foreslog, at <25% inhibering med recovery indenfor 60 d var uden betydning for økosystemet, mens en >90% inhibering efter 30 d

ville være kritisk, og effekter der imellem blev anset for at være tolerable. Det aktuelle projekt anvender derfor en prøvetagningsstrategi, som vurderer både korttidseffekter og recovery.

Pesticideffekter skal vurderes på baggrund af den øvrige markvariation, herunder sæsonmæssig og årsvariation. Derfor er det nødvendigt at inkludere kontrolparceller uden pesticider for alle øvrige behandlingskombinationer.

1.4 Formål og hypoteser

Denne undersøgelse blev planlagt for at evaluere vekselvirkninger mellem pesticidanvendelse og andre dyrkningsfaktorer i planteproduktionen. Undersøgelsen er gennemført indenfor rammerne af et langvarigt jordbearbejdningsforsøg (Munkholm et al., 2008) og har involveret to jordbearbejdningsmetoder, to forskellige kilder til kvælstof, og to pesticider, i et split-plot design. I overensstemmelse med Domsch et al. (1983) har undersøgelsen omfattet prøvetagning ca. en måned efter pesticidanvendelse, og endnu en prøvetagning efter 3-4 måneder, og med gentagelse af behandlinger og prøvetagningsprogrammet i to separate år. I det andet forsøgsår er der også gennemført et laboratorieforsøg med intakte kolonner for at belyse betydningen af nedbør under kontrollerede forhold.

Moniteringen under markforhold samt laboratorieforsøget er planlagt for at belyse følgende specifikke hypoteser:

5. I systemer med direkte såning vil afgrøderester på jordoverfladen reducere pesticideffekter på jordlevende organismer, men nedbrydningen af afgrøderester kan blive forsinket.
6. Husdyrgødning vil reducere pesticideffekter på jordlevende organismer sammenlignet med handelsgødning.
7. Pesticider kan svække jordens struktur ved at hæmme biologiske mekanismer til stabilisering af aggregater; denne effekt vil være mindre med direkte såning hvor afgrøderester reducerer jordens eksponering for pesticider.
8. Ved udvaskning under nærmættede forhold, hvor kontinuiteten af det aktive strømningsvolumen er begrænset, vil risikoen for udvaskning af pesticider være mindre i jord under direkte såning sammenlignet med pløjet jord.

2. Materialer og metoder

2.1 Forsøgsareal

2.1.1 Det langvarige sædskifteforsøg

Det langvarige sædskifte-jordbearbejdningsforsøg startede i efteråret 2002 på to lokaliteter – Foulum (JB4) og Flakkebjerg (JB6). I projektet *Pesticide Interactions with N-source and Tillage* (PINT) er der udelukkende lavet forsøg i Foulum, hvor forsøget ligger på en lerblandet sandjord af jordtype JB4 (9% ler). Forsøget er et split-plot forsøg med fire gentagelser. Sædskifte er helplotfaktor og jordbearbejdning er delplot faktor. Der er fire kornbaserede sædskifter og fire jordbearbejdningssystemer. Sædskifterne varierer fra 100% vinterafgrøder til 50% vinterafgrøder og 50% vårafgrøder. I PINT er der lavet forsøg i sædskifte R2, som er et sædskifte udelukkende med vinterafgrøder (vinterbyg, vinterraps, vinterhvede og vinterhvede). Der blev dyrket vinterhvede i både 2012 og 2013 i parcellerne anvendt i PINT. Jordbearbejdningssystemerne varierer fra pløjning (PL) over reduceret jordbearbejdning med harvning til direkte såning (DS) med en tandkærsåmaskine. De undersøgte jordbearbejdningssystemer var pløjning og direkte såning. Hver jordbearbejdningsdelplot består af 2 stk 3 m brede baner, som er 70 m lange. Disse er underopdelt i 10 høstparceller (3 × 10m). I PINT benyttede vi 6 af disse høstparceller, som beskrevet nedenfor.

2.1.2 Jordfysiske egenskaber

Foulum jorden er en frugtbar landbrugsjord med en generelt set god jordstruktur (Abdollahi og Munkholm, 2014). Den pløjede jord er karakteriseret ved en ensartet løs struktur i hele pløjelaget, mens der er en tydelig lagdeling i den direkte såede jord. Øverst findes et ca. 5 cm top lag med løsjord og opkoncentrering af kulstof og næringsstoffer. Derunder findes et mere kompakt lag med lavere indhold af kulstof og næringsstoffer.

Indholdet af organisk stof i 0-5 cm dybde, bestemt som glødetab (*loss-on-ignition*) ved første prøvetagning i 2012, er vist i Tabel 1. Tallene bekræfter ovenstående kvalitative beskrivelse, idet der var et signifikant ($P < 0.001$) højere indhold af organisk stof nær jordoverfladen ved direkte såning.

TABEL 1

ORGANISK STOF I JORDEN, BESTEMT SOM GLØDETAB (*LOSS-ON-IGNITION, LOI*) I JORD INDSAMLET I JUNI 2012. GLØDETABET ER ANGIVET SOM % AF JORDENS TØRVÆGT. TALLENE VISER GENNEMSIT OG STANDARDFEJL (N = 4).

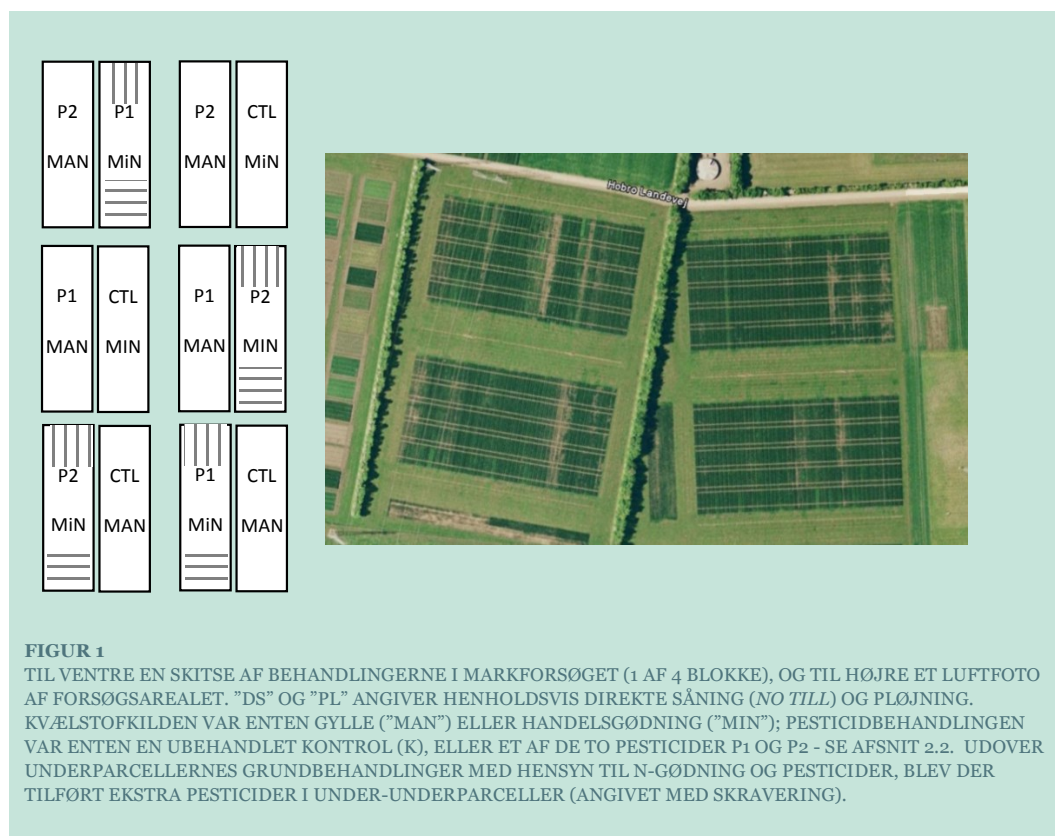
	Direkte såning (DS)	Pløjet (PL)
Gylle		
Kontrol	5,1 (0,3)	4,3 (0,1)
Fungicid ^a	4,9 (0,1)	4,2 (0,1)
Insekticid ^b	5,1 (0,3)	4,3 (0,1)
Handelsgødning		
Kontrol	5,0 (0,2)	4,1 (0,2)
Fungicid	5,0 (0,1)	4,2 (0,1)
Insekticid	5,0 (0,2)	4,0 (0,1)

^a Tridex (aktivstof: mancozeb); ^b Fastac (aktivstof: α-cypermethrin)

2.1.3 Forsøgsdesign

Markforsøget blev planlagt indenfor rammerne af det langvarige jordbearbejdningsforsøg med 4 gentagelser (blokke). To jordbearbejdningsmetoder, pløjning (PL = *ploughed*) og direkte såning (DS) blev anvendt i hovedparceller, som var opdelt i et antal 3 m × 10 m underparceller. I disse underparceller blev behandlinger mht. kvælstofkilde og pesticider introduceret. Kvælstofkilderne var handelsgødning (MIN = *mineral fertilizer*) eller kvæggylle (MAN = *manure*). Pesticidbehandlingerne var K (ubehandlet kontrol), P1 og P2 (mht. udvælgelse, se afsnit 2.2). Forhøjede doser af pesticider blev introduceret i 3 m × 3 m under-underparceller, altid med fungicid i den nordlige ende og insekticid i den sydlige ende. Afgrøden i det kornbaserede sædskifte var vinterhvede i både 2012 og 2013, mens forfrugten i 2011 var vinterbyg.

Figur 1 viser en oversigt over de 12 grundbehandlinger til undersøgelse af hovedeffekter af jordbearbejdning, N-kilde og pesticidbehandling samt otte underbehandlinger med forhøjede pesticidniveauer. Idet formålet med undersøgelsen ikke var at vurdere økotoxikologiske effekter, men at belyse vekselvirkninger mellem dyrkningsfaktorer, var fordelingen af pesticidbehandlinger den samme i de to forsøgsår.



2.1.4 Nedbør og temperatur

Information om middeltemperatur og nedbør pr. døgn i 2012 og 2013 blev registreret fra en klimastation placeret ca. 200 m fra forsøgsarealet.

2.2 Valg af pesticider

I udvælgelsen af aktivstoffer var det relevant at se på den aktuelle anvendelse af pesticider i Danmark, såvel som information om økotoxikologiske effekter fra litteraturen. Det blev besluttet at inddrage et fungicid, idet filamentøse svampe er vigtige for nedbrydningen af lignocellulose i afgrøderester på jordoverfladen (Sanchez, 2009). Mancozeb (CAS-nr. 8018-01-7), som er det aktive stof i bl.a. Tridex DG og Dithane NT, har været et dominerende fungicid på det danske marked, med en samlet markedsandel på over 50% af det samlede volumen i 2009 (Bekæmpelsesmiddelstatistik 2009). Nedbrydningsproduktet etylenthiourea (ETU) er meget vandopløseligt med en K_{ow} på -0,66 og en vandopløselighed på 20 g L⁻¹ (<http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/etu.pdf>). For den afgrøde, som blev dyrket på forsøgsarealet i 2012 og 2013, vinterhvede, er mancozeb dog blevet erstattet af produkter med epoxiconazol som aktivstof, f.eks. Rubric.

Desuden blev der udvalgt et pyrethroid; denne type insekticider er kontaktstoffer, som kan have sideeffekter på andre jordlevende invertebrater som springhaler og mider, men også oligochaeter som enchytraeider og regnorme (Gyldenkerne et al., 2000; Zhou et al., 2008; Roberts et al., 2011). I valget af dosering var det nødvendigt at tage hensyn til, at projektets formål var at undersøge interaktioner mellem dyrkningsfaktorer, hvilket forudsætter målbare effekter. Den største gruppe insekticider, som anvendes i Danmark, er pyrethroider, med α -cypermethrin (CAS-nr. 67375-30-8) som den dominerende aktivstof. Insekticidet α -cypermethrin tilhører gruppen af syntetiske pyrethroider, der anvendes til skadedyrsbekæmpelse i en lang række afgrøder. Stoffet er stærkt vandskyende, med en log K_{ow} på 6,6 og en vandopløslighed på ca. 4 μ g L⁻¹. Toksiciteten af α -cypermethrin overfor jordlevende invertebrater er blevet dokumenteret under laboratorieforhold (Hartnik et al. 2008abc; Styriehave et al 2010), og der findes viden om effekter under markforhold (Shires 1985, Frampton 1999).

Tabel 2 viser det årlige salg af mancozeb, epoxiconazol og α -cypermethrin, såvel som anbefalede doser.

TABEL 2

SALG I DANMARK (KG) I ÅRENE 2008-2010 OG ANBEFALET DOSERING FOR TRE PESTICIDER, SOM BLEV VURDERET TIL ANVENDELSE I UNDERSØGELSEN (MILJØSTYRELSEN, 2011).

Aktivstof	Mancozeb	Epoxiconazol	α -Cypermethrin
Anbefalet dosering (g ha ⁻¹)	1500	125	12.5
2010	247058	46720	1339
2009	284475	27816	9514
2008	520559	49867	5677

2.2.1 Dosering

Et dosis-responsforsøg blev gennemført med tre pesticider, som indeholdt hhv. mancozeb (Tridex DG), epoxiconazol (Rubric) og α -cypermethrin (Fastac). De biologiske variable var springhaler, potentiel nitrifikation (PN) og mikrobiel biomasse, målt som koncentrationen af fosfolipidfedtsyrer (PLFA). De anvendte doser svarede for PN og PLFA til 0, 4, 10, 20 og 50 gange den anbefalede dosis forudsat at stofferne fordeles i 0-5 cm dybde. For testen med springhaler var koncentrationerne 4 gange højere. Hvor det var muligt, blev EC50-værdier – den koncentration af stoffet, som hæmmer den pågældende biologiske indikator med 50% – beregnet (Haanstra et al., 1985).

Fra resultaterne i Tabel 3 er det tydeligt, at effekter af de tre stoffer var begrænsede eller fraværende. Der kan være subletale effekter, som ikke registreres med en korttidstest, og det bør også nævnes at jord til forsøget blev

indsamlet i marts, på et tidspunkt hvor populationer af jordlevende organismer er lave, hvilket kan have gjort det vanskeligere at detektere effekter. Endvidere blev pesticider opblandet homogent i et jordvolumen svarende til 0-5 cm dybde, mens stofkoncentration og dermed eksponeringen i praksis vil have en anden fordeling.

TABEL 3

RESULTATER FRA ET INDLEDENDE DOSIS-RESPONS FORSØG MED TRE UDVALGTE EFFEKT-INDIKATORER. DOSERING OP TIL 50× (PN, PLFA) ELLER 200× (SPRINGHALER) ANBEFALET DOSIS. EC₅₀-VÆRDIERNE ER VIST SOM MIDDELVÆRDI OG STANDARDFEJL (N = 3).

Respons- variabel	Eksponerings- tid	Mancozeb	Epoxiconazol mg kg ⁻¹	α-Cypermethrin
	Anbefalet dosis: ^c	2,31	0,19 EC ₅₀	0,019
Springhaler	14 d	332 (94)	Ingen effekt	Ingen effekt
PN ^a	7 d	6,6 (1,1)	Ingen effekt	Ingen effekt
PN	21 d	14,0 (4,0)	Ingen effekt	Ingen effekt
PLFA ^b	21 d	Ingen effekt	Ingen effekt	Ingen effekt

^a Potentiel nitrifikation; ^b Phospholipidfedtsyre-koncentration (mål for mikrobiel biomasse); ^c Anbefalet dosis er her omregnet til mg kg⁻¹ under forudsætning af opblanding i 0-5 cm dybde.

På baggrund af resultaterne i Tabel 3 blev det besluttet at anvende mancozeb, og ikke epoxiconazol, som fungicid i projektet. For α-cypermethrin blev der ikke fundet effekter i disse korttidsforsøg med op til 200× anbefalet dosis. Gyldenkerne et al. (2000) fandt en øget mortalitet for jordlevende biller ved koncentrationer over 2-8 gange anbefalet dosis (arealbasis). I en undersøgelse af regnormen *Eisenia fetida*s følsomhed overfor α-cypermethrin reagerede juvenile orm med hæmmet vækst ved 10 mg kg⁻¹ (Zhou et al., 2008). Roberts et al. (2011) fandt en høj dødelighed for miden *Bdellodes lapidaria* ved koncentrationer svarende til anbefalet dosering under markforhold. På baggrund af disse oplysninger blev grundbehandlingen i underparceller (3 m × 10 m) fastsat til 5 × anbefalet dosis for både mancozeb og α-cypermethrin. Under-underparceller (3 m × 3 m) blev behandlet en ekstra gang med enten fungicid eller insekticid. For fungicidet var denne ekstrabehandling også 5 × anbefalet dosis, mens den for insekticidet var 50 × anbefalet dosis; begrundelsen var delvist fraværet af observerede effekter i for-forsøget, og delvist erfaringer fra tidligere undersøgelser (Sechi et al., 2014a).

2.3 Drift af markforsøg

Forsøget blev gennemført i et vintersædsdomineret sædskifte, R2. Afgrøden det foregående år var vinterbyg. I både 2012 og 2013 var afgrøden vinterhvede, som blev sået i september det foregående år, dvs. i 2011, hhv. 2012. Markoperationer i forsøget er opsummeret i Tabel 4. Såning udgjorde den eneste fysiske forstyrrelse af jorden i parceller med direkte såning.

2.3.1 Jordbearbejdning og gødskning

Afgrøden i forsøget blev etableret det foregående efterår, dvs. i september 2011 og 2012, efterfulgt af såning. Datoer er vist i Tabel 4. Handels- og husdyrgødning blev tilført ad to omgange, en startgødskning med 1/3 af den samlede mængde i det tidlige forår, og resten i begyndelsen af maj. Parceller med husdyrgødning blev tilført i alt 200 kg kvælstof (N) pr. ha i form af kvæggylle. En del kvælstof er bundet i organiske forbindelser som ikke umiddelbart er plantetilgængelige; den plantetilgængelige andel var 130 kg N ha⁻¹. Parceller med handelsgødning blev tilført i alt 130 kg N ha⁻¹ i NS-gødning (Yara Danmark, Fredericia).

Pesticidbehandlingerne blev dermed udført 9-10 d efter gødskning i 2012, og 13-15 d efter gødskning i 2013. Den senere tilførsel i 2013 skyldtes ustadigt vejr.

TABEL 4

MARKOPERATIONER I FORBINDELSE MED DYRKNINGEN AF VINTERHVEDE I 2012 OG 2013, HERUNDER TILFØRSEL AF KVÆGGYLLE OG HANDELSGØDNING SAMT PESTICIDBEHANDLING.

Pløjning	29-08-2011 (PL), 6-10-12 (PL)
Harvning	29-09-2011 (PL), 8-10-2012 (PL)
Såning	29-09-2011 (PL), 30-9-2011 (DS), 9-10-2012 (PL og DS)
Startgødning	27-03-2012 (gylle), 3-4-2012 (NS), 19-4-2013 (gylle), 20-4-2013 (NS)
Restgødning	08-05-2012 (gylle), 9-5-2012 (NS), 6-5-2013 (gylle), 8-5-2013 (NS)
Pesticider	18-05-2012, 21-5-2013
Prøvetagning, forår	uge 23+24 (2012), uge 25 (2013)
Prøvetagning, efterår	uge 35 (2012), uge 37 (2013)
Høst	21-08-2012, 23-8-2013
Udtagning af kolonner, WP3	09-04-2013

2.3.2 Pesticidtilførsel

Tidspunktet for pesticidbehandling var 9-15 dage efter gødningstilførsel, hvor der var en forventning om øget biologisk aktivitet blandt jordlevende organismer, og dermed et øget potentiale for kontakt med pesticiderne.

Den praktiske behandling med pesticider er illustreret i Figur 2. Til grundbehandlingerne blev der anvendt 10 kg ha⁻¹ Tridex med 750 g kg⁻¹ aktivstof (mancozeb) og 1.25 L ha⁻¹ Fastac med 50 g L⁻¹ aktivstof (α -cypermethrin). Med hensyn til doseringen i under-underparceller henvises til oplysningerne i afsnit 2.2.1.

**FIGUR 2**

PESTICIDTILFØRSEL I 3 M × 10 M UNDERPARCELLER FOREGIK MED PARCELSPREDER MONTERET PÅ TRAKTOR MED 3 M HJULBREDDE (TIL VENSTRE). EKSTRA BEHANDLINGER MED PESTICIDER I 3 M × 3 M UNDER-UNDERPARCELLER SKETE MED ET MANUELT BETJENT UDSYR (TIL HØJRE).

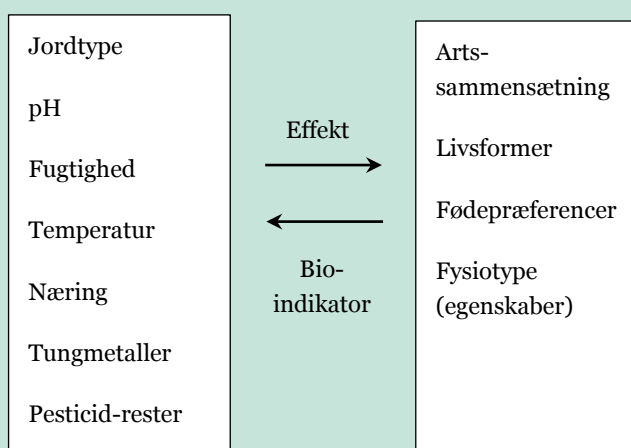
2.3.3 Høst, planteklip

Forstyrrelserne af markparceller i forbindelse med prøvetagninger i juni gjorde det umuligt at bestemme et høstudbytte med henblik på at vurdere utilsigtede sideeffekter på plantevækst. I stedet blev der umiddelbart inden høst i 2012 taget planteklip på 0.5-m² arealer i de 48 underparceller med pesticid-grundbehandlingerne; ressourcerne tillod ikke planteklip i under-underparceller. Plantematerialet blev tørret (60°C) og kerneprøver analyseret med near infrared transmission (NIT) spektroskopi.

Biologiske effekt-indikatorer

Den dyrkede jord er levested for mange organisme-grupper med varierende grader af diversitet. Antallet af arter bestemmes af forskelle med hensyn til levested, livscyklus, fødepræferencer samt tolerance overfor det fysiske-kemiske miljø, som tilsammen definerer niches hvor arter at sameksistere på et givet sted trods konkurrence om ressourcer.

Samspillet mellem miljø og organismer illustreres af figuren herunder (adapteret fra van Straalen, 1997), som også illustrerer, hvordan ændringer i populationers sammensætning og egenskaber kan benyttes som (bio)indikator for ændrede levevilkår. Effekter på en organismegruppe med hensyn til antal, fordeling eller artssammensætning kan dermed udgøre et mål for graden af forstyrrelse, som jorden påføres af dyrkningsfaktorer (eller klimatiske forhold).



I det aktuelle projekt er både kvantitative og kvalitative bioindikatorer anvendt til at belyse effekter og samspil mellem flere dyrkningsfaktorer. Kvantitative mål omfatter antal individer af de arter af regnorme og mikroledyr, som er fundet på forsøgslokaliteten, samt mikrobiel biomasse og potentiel nitrifikation. Disse bioindikatorer er generelt uproblematisk at fortolke. Kvalitative bioindikatorer, som er relateret til organismers stofskifte eller fysiologiske respons på et givet miljø, kan derimod være vanskeligere at fortolke. Med hensyn til pesticideffekter er det nødvendigt at forholde sig til, om faktorer som f.eks. temperatur, tilgængelighed af næringsstoffer, og livsstadie påvirker de pågældende markører, ligesom der kan være forskelle mellem arter i følsomhed som følge af levevis eller genetisk disposition (Forbes et al., 1997). I de følgende afsnit omtales kort tre typer af kvalitativ information, som anvendes i projektet; mere detaljeret diskussion af metoderne findes andre steder i rapporten.

Membranlipider (*phospholipid fatty acids*, PLFA) (afsnit 2.4.5), som anvendes til karakterisering af den mikrobielle biomasse i jorden, eksemplificerer udfordringerne med at adskille genetisk og fænotypisk variation. Hver art af bakterier eller svampe har en genetisk bestemt sammensætning af fedtsyrer, men den relative andel af individuelle fedtsyrer kan variere med både temperatur, vækststadium og stressfaktorer, både på arts- og samfundsniveau (Petersen & Klug, 1994). Forskelle kan dermed både skyldes varierende artssammensætning, vækstbetingelserne ved prøvetagningen, og stressfaktorer. Entydig fortolkning af resultaterne er ikke mulig, men må holdes op imod effekter beskrevet under mere kontrollerede forhold, eksempelvis med renkulturer i laboratoriet.

Substratudnyttelsesprofiler ved inkubation med 30 forskellige kulstofkilder kan give et "fingeraftryk" af mikrobielle samfunds fysiologiske diversitet (afsnit 2.6.10), men omfatter kun den del af jordens mikroorganismer, som vokser på et eller flere af substraterne indenfor måleperioden. Selvom responsen på dyrkningsfaktorer dermed er helt generel, vil der i et faktorielt forsøgsdesign være mulighed for at identificere effekter af pesticidbehandlinger.

En organismes sammensætningen af stabile isotoper, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ og $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ (afsnit 2.5), indeholder potentielt information om fødevalg, i det omfang fødekilderne har forskellig isotopsammensætning. Alle biokemiske processer

diskriminerer imod tunge isotoper, og hvert nyt trofisk niveau i en fødekæde vil dermed indeholde stigende ratioer af $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ og $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$. Fortolkningen af isotop-data forudsætter et grundigt kendskab til organismernes biologi, men også til betydningen af forskellige dyrkningsfaktorer; Seminina & Tiunov (2011) viste, i forsøg med springhaler, at isotop-diskriminationen afhang af dyrenes ernæringstilstand, udtrykt ved C:N-forholdet. Dette indikerer, at dyrkningsfaktorer med positiv eller negativ indflydelse på vækst eller overlevelse kan påvirke forholdet mellem fødekildens og konsumentens isotopsammensætning.

2.4 Monitoring af pesticideffekter under markforhold

2.4.1 Prøvetagningsstrategi

Med henblik på at registrere effekter og vekselvirkninger mellem jordbearbejdning, N-kilde og pesticidbehandling blev pesticider tilført kort tid efter slutgødskning, og prøver til bestemmelse af jordlevende organismer blev udtaget ca. 4 uger efter pesticidbehandlingen. Forekomsten af jordlevende organismer blev desuden undersøgt efter høst for at vurdere, om korttidseffekter var forsvundet, men også for at adskille effekter af dyrkningspraksis fra sæsonbestemt variation.

I vækstsæsonen havde der ikke været nogen forstyrrelse af jorden under vinterhvede siden det foregående efterår, og her vil effekter af jordbearbejdningsstrategi derfor primært være knyttet til fordelingen af afgrøderester og gødning. Med hensyn til kvælstoftilførsel og pesticidbehandling forventedes korttidseffekter, som ville aftage i takt med at kvælstof og pesticider blev omsat og/eller immobiliseret. De enkelte år kan være meget forskellige mht. nedbør og temperatur, og derfor blev monitoringsprogrammet gennemført i to forsøgsår. Tidspunkter for prøvetagninger er vist i Tabel 4. Detaljer vedr. prøvetagningen til de enkelte analyser er beskrevet i de følgende afsnit.

2.4.2 Mikrolededyr

Antallet og artssammensætningen af mikrolededyr blev undersøgt ved de fire prøveindsamlingskampagner i hhv. juni og september 2012 og 2013. Efterårs- og forårskampagnen var identiske ved at der fra hver underparcel blev indsamlet ét replikat; dog blev der indsamlet to replikater ved første prøvetagning i juni 2012.

Jordprøverne blev taget med et jordbor og opsamlet i et rør af akrylglas med en højde af 5,5 cm og en diameter på 6 cm. Prøverør blev lukket med plastlåg i begge ender umiddelbart efter opsamling. De intakte jordprøver blev transporteret og opbevaret vertikalt som indsamlet. Mikrolededyr blev ekstraheret fra jordprøverne i et uddrivningsapparat ved at temperaturen over en uge gradvis blev øget fra 30 til 60°C. Ved denne behandling flygter dyrene ud af jordsøjlen og opsamles og opbevares i glycerol til senere artsbestemmelse. Springhaler blev bestemt til artsniveau, mens mider blev artsbestemt til gruppe, dvs. Gamasida, Acaridida, Actinedida og Oribatida.

2.4.3 Regnorme

Antallet og artssammensætningen af regnorme blev undersøgt ved de fire kampagner i henholdsvis juni og september 2012 og 2013. Fra hver underparcel blev der indsamlet ét replikat i form af at en jordblok på 25 × 25 × 25 cm, som blev udgravet og placeret på et stykke plastik. Herefter blev jorden metodisk håndsorteret for såvel voksne som juvenile regnorme og derefter tilbageført til det gravede hul. De opfangede regnorme blev opbevaret i mindre plastikbøtter med lidt af testjorden indtil hjemkomsten, hvor de enkelte replikater blev placeret i en serie af sigter, hvor den mindste netstørrelse var 1 mm, og jorden skyllet væk med vand. Herefter kunne de tilbageblivende regnorme let opsamles og overføres til vædet filtrerpapir i mærkede petriskåle. Efter et døgn på køl, hvor ormenes tarm blev tømt, blev regnormene vejlet og artsbestemt, og for hvert replikat blev antal og biomassen af de enkelte arter registreret.

2.4.4 Potentiel nitrifikation

Autotrofe ammoniak-oxiderende mikroorganismer reagerer sensitivt og hurtigt på ændrede levevilkår i jordens økosystem (van Beelen and Doelman, 1997). I første trin af en mikrobiel proces, der betegnes nitrifikation, oxideres NH_3 (ammoniak) til NO_2^- (nitrit) ved hjælp af enzymet ammoniak monooxygenase. Nitrit omdannes (oxideres) normalt hurtigt til nitrat af nitrit-oxiderende bakterier, uden ophobning af mellemproduktet nitrit. Men blokeres nitrit-oxidationen, kan ophobning af nitrit anvendes som et følsomt mål for det første, hastighedsbegrænsende trin i nitrifikationsprocessen. Dette princip ligger til grund for et assay, som måler den potentielle nitrifikationsaktivitet i jorden under forhold med optimale betingelser for processen.

Potentiel nitrifikation blev målt i 300-mL inkubationsflasker med ca. 8.5 g jord (tørvægt). Jorden blev tilsat 100 mL 0,5 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ i 1 mM K_2HPO_4 (pH 7,2). For at inhibere nitritoxidation blev 1 mL 1 M NaClO_3 tilsat alle prøver (inklusiv blindprøver uden jord). Flaskerne med jordopslemning blev inkuberet på et rystebord (roterende) ved 20°C i mørke. Delprøver på 3 mL jordopslemning blev udtaget efter 15 min (t_0) og igen efter 5 timer (t_1) for kvantificering af nitritophobning som tidligere beskrevet (Elsgaard et al., 2001a). Resultaterne blev korrigeret for nitritproduktion i blankprøver (ubetydelig) og den specifikke rate af potentiel nitrifikation beregnet ud fra jordens tørvægt og dannelsen af nitrit i tidsintervallet fra t_0 til t_1 .

2.4.5 Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA)

Polære lipider er en hovedkomponent i de fleste organismers cellemembran, hvor de danner et dobbeltlag med langkædede fedtsyrer i midten. Hver organisme kan syntetisere et antal forskellige fedtsyrer (PLFA), som er genetisk bestemt, og derfor repræsenterer sammensætningen af fedtsyrer i en organisme et "fingeraftryk", som kan bruges til identifikation. Den relative fordeling af fedtsyrer afhænger dog også af de aktuelle vækstbetingelser, idet cellemembranens sammensætning kan ændres for at imødegå bl.a. stress, såsom næringsmangel, ekstreme klimaforhold eller toksiske effekter.

Udvalgte fedtsyrer – såkaldte signaturfedtsyrer – er blevet knyttet til forskellige grupper af mikroorganismer, såsom svampe, bakterier, Gram-positive og Gram-negative bakterier (f.eks. Harwood and Russell, 1984). Analyser af koncentration og sammensætning af langkædede fedtsyrer, isoleret fra komplekse mikrobielle samfund, kan derfor være et redskab til at karakterisere mikrobielle samfund (Frostegård and Bååth, 1996), og den samlede koncentration af fedtsyrer er et mål for størrelsen af den mikrobielle biomasse (Bailey et al., 2002). Stresseffekter på membraners fedtsyresammensætning kan også observeres på samfundsniveau (Petersen & Klug, 1994).

I hver underparcel og under-underparcel blev der ved hver prøvetagning udtaget tre jordringe (6 cm diam.) til 5 cm dybde. Jorden blev indenfor 24 timer sigtet <6,5 mm og sten og rødder fjernet. Jorden til PLFA-analyser (2-2,5 g) blev straks afvejet til ekstraktion, mens den øvrige del af prøven blev opbevaret ved 2°C indtil analyse for potentiel nitrifikation.

Metoden til analyse af langkædede fedtsyrer i jord var som beskrevet af Petersen et al. (2002). Fedtopløselige materialer blev ekstraheret med en enkeltfase-ekstraktion, hvorefter ekstraktet blev separeret i en vandig og en organisk fase. Den organiske fase blev inddampet og lipider herfra separeret på silica fastfasekolonner. Herfra blev polære lipider opsamlet og ester-bundne fedtsyrer methyleret. Efter ekstraktion til hexan og endnu en inddampning blev fedtsyremethylestrene analyseret ved hjælp af gas chromatografi. Identifikation skete på basis af retentionstider og krydsreference med prøver analyseret med massespektrometri.

2.4.6 Jordstrukturegenskaber

Der blev i 2013 udtaget jordprøver i uge 25 til måling af jordens strukturegenskaber. Prøverne blev udtaget i 0-5 cm dybde i alle underparceller som havde fået handelsgødning (MIN), dvs. behandlingerne DS-K-MIN, DS-F-MIN, DS-I-MIN, PL-K-MIN, PL-F-MIN og PL-I-MIN, hvor DS og PL er hhv. direkte sået (*no-till*) og pløjet jord, mens K, F og I står for kontrol, fungicid og insekticid. Fra jordprøverne blev der udtaget delprøver til måling af aggregatstabilitet ved vådsigtning og lerdispergering (Pojasok og Kay, 1990) samt aktuelt vandindhold. Der blev også udtaget en delprøve på ca. 400 g jord til lufttørring og efterfølgende sigtning. Ved sigtningen isolerede vi 4-8 mm aggregater, som efterfølgende blev anvendt til måling af trækstyrke (Dexter og Kroesbergen, 1985); der blev anvendt i alt 15 aggregater pr. underparcel.

2.5 Trofisk struktur belyst med stabile isotoper

Gennem forsøgsperioden blev der indsamlet plantemateriale, invertebrater, jord og gødningsprøver til analyse af stabile isotoper efter tørring i ovn ved 60 °C i højst 24 timer eller indtil konstant vægt. Alle synlige rødder og planterester blev fjernet fra jorden. For afgrøden blev der udtaget prøver af rødder, strå og skud. Regnorme kom fra jordblokkene udtaget til bestemmelse af biomasse og populationstætheder, og der blev lavet analyser på replikerede enkeltindivider af både adulte og juvenile på tværs af blokke og behandlinger. Mikrolededyr blev indsamlet fra særlige jordblokke udtaget til dette formål og uddrevet levende ned på gips. Et stort antal individer, typisk op til i størrelsesordenen 100 voksne individer, var nødvendigt for at opnå tilstrækkeligt materiale til ^{15}N og ^{13}C analyse. For plantemateriale, invertebrater, jord og gødning havde vi hhv. 269, 308, 100 og 13 prøver til analyse af isotop-ratioerne $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ og $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$. Alle analyser blev udført som såkaldte *bulk*-analyser, hvor hele organismer, eller eventuelt flere individer sammen, blev analyseret, og de rapporterede isotop-ratioer er således gennemsnitsværdier for isotopsammensætningen af stofferne i en organisme eller en heterogen masse af organisk stof, som typisk består af en blanding af organiske molekyler (Fry 2004). Dette adskiller sig fra stofsPECIFICKE isotopanalyser (*compound-specific isotope analyses* CSIA), som vi har brugt i anden sammenhæng (Sechi *et al.* 2014b). Analyserne blev udført ved UC-Davis Stable Isotope Facility, Californien.

2.6 Laboratorieforsøg med intakte kolonner

Vekselvirkninger mellem pesticider og jordmiljøet er vanskelige at belyse under markforhold. Det gælder bl.a. effekter af nedbør på jordlevende organismer, og risikoen for udvaskning til dybere jordlag. Projektet inkluderede derfor et forsøg i laboratoriet med intakte prøver fra forsøgsarealet.

Med direkte såning er der typisk halm- og stubrester på jordoverfladen, som vil fange en del af tilførte pesticider. Pesticider med effekt på nedbrydersamfundet vil kunne hæmme omstningen af disse afgrøderester. Blandt mikrolededyr vil især epigæiske ("ovenpå jorden") arter blive udsat for en direkte påvirkning. Tidsintervallet mellem pesticidbehandling og nedbør kan have betydning for eksponeringen af jordlevende organismer, idet nedbrydningen af aktivstofferne i pesticider vil være mere eller mindre fremskredet. Tilsvarende kan intervallet mellem tilførsel og nedbør påvirke risikoen for udvaskning.

Disse mulige vekselvirkninger blev undersøgt i et laboratorieforsøg med kontrolleret tilførsel af fungicidet mancozeb og insekticidet α -cypermethrin til intakte kolonner, som blev indsamlet i markforsøget i det tidlige forår 2013. Nedbør blev simuleret hhv. 1 og 4 uger efter pesticidbehandlingen. De intakte kolonnens hydrauliske egenskaber, udvaskningen af pesticider, og effekter på jordlevende organismer og økosystemfunktioner, blev bestemt efter 4 uger.

2.6.1 Forsøgsdesign

Laboratorieforsøget omfattede følgende variable: Jordbearbejdning (PL, DS), pesticidbehandling (K=kontrol, F=fungicid, I=insekticid) og tidspunkt for simuleret nedbør (1 uge, 4 uger). Behandlingerne blev inkluderet i to gentagelser, dvs. der blev anvendt i alt 24 kolonner til forsøget. Umiddelbart efter en simuleret nedbørshændelse med opsamling af effluent til pesticidanalyser blev der gennemført et tracer-udvaskningsforsøg med en ikke-reaktiv tracer, tritium ($^3\text{H}_2\text{O}$), med henblik på at identificere forskelle i strømningskarakteristika mellem PL og DS.

2.6.2 Udtagning og forbehandling af kolonner til forsøg

Jord til laboratorieforsøget blev udtaget i begyndelsen af april 2013 i parceller, som året før havde fået handelsgødning, men ingen pesticidbehandlinger. Det var af logistiske grunde ikke muligt at inkludere både handels- og husdyrgødning i forsøget. For at dække variationen i marken mht. jordegenskaber blev kolonner udtaget i alle fire markblokke, i hhv. pløjet (PL) og direkte sået jord (DS).

For at opnå bedst mulig repræsentation af jordbundsforholdene i marken, specielt mht. hydrauliske egenskaber, blev der for hver af de otte kombinationer af blok/jordbearbejdning udtaget fem intakte kolonner, selvom kun tre skulle bruges i forsøget. I hver underparcel blev kolonnerne udtaget indenfor et område på 1 m². Kolonnerne blev udtaget i rustfrie stålcyindre (diam. 20 cm, højde 20 cm) med skarpskåret kant, så de kunne presses ned i jorden til den ønskede dybde vha. hydraulisk tryk. På denne måde blev jordkolonnen bevaret intakt og med ca. 2 cm til øvre kant. Kolonnerne blev udgravet manuelt og den nedre rand forsigtigt skåret plan. Kolonnerne blev herefter forseglet og transporteret til videre forbehandling i laboratoriet.

I laboratoriet blev der på alle kolonner indledningsvist målt luftpermeabilitet som beskrevet af Iversen et al. (2001). Luftpermeabiliteten ved markkapacitet giver et indirekte mål for volumen og kontinuitet af makroporer. På baggrund af luftpermeabilitetsmålingerne blev de tre mest repræsentative kolonner, vurderet i forhold til middelværdien for hver blok/behandling, udvalgt til forsøget. Disse kolonner blev vejte for at bestemme vandindhold på udtagnings tidspunktet, og jordkolonnernes længde blev udmålt med skydelære til senere beregning af jordkolonnens volumen.

Før tilførsel af pesticider blev kolonnerne opfugtet til vandmætning ved kapillær infiltration i tensionsbokse med en jordvandsopløsning (0.652 mM NaCl, 0.026 mM KCl, 2.44 mM CaCl₂, 0.255 mM MgCl₂, elektrisk ledningsevne (EC) = 0.75 mS cm⁻¹). Kolonnerne blev herefter afdrænet til -100 cm over 7 dage, med henblik på at sikre identisk matrix-potentiale for alle kolonner før forsøgsstart. Efter afdræning blev kolonnerne vejte (w_{-100}), forseglet og opbevaret ved forsøgstemperaturen, 20°C, indtil pesticidtilførsel.

2.6.3 Pesticidtilførsel

Tilførslen af pesticider til de intakte kolonner foregik under punktudsug, og med en 5 cm høj plexiglaskrave for at undgå udvendig kontaminering af prøverne. Væskemængden svarede til ca. 0,1% af kolonnernes vandindhold, eller 0,07 mm nedbør. Den arealmæssige tilførsel af pesticider svarede til grundbehandlingen i marken, dvs. 5× anbefalet dosis, dog med en variation på op til 10%, idet tilførslen skete med en forstøverflaske, som blev vejte før og under tilførslen.

2.6.4 Simulering af nedbør

Simulering af nedbør blev udført i en forsøgssopstilling udviklet og beskrevet af Kjaergaard et al. (2004), og tilpasset 20 × 20 cm kolonner (Glæsner et al. 2011). Den enkelte kolonne hvilede på et 2-mm rustfrit stålnet med et 40 µm rustfrit stålfilter (Robusta, Spoerl) der tillader en konstant negativ tension på 5 cm ved nedre rand uden at hindre transport af pesticider og kolloider. Stålfilerets kolloidpermeabilitet blev forud for forsøget testet med kolloidsuspensioner (20-220 NTU), som viste en acceptabel genfindelse på 96,3-99,5%, og en positiv sammenhæng mellem genfindelse og NTU. Der blev i forbindelse med udviklingen af systemet gennemført tracerforsøg med henblik på at undersøge, om der er randeffekter der påvirker vandinfiltrationen, og det er således dokumenteret, at der ikke sker nedsivning langs kanten af stålcyindere ved umættet strømning (-5 cm) og variable vandingsrater.

Luftpermeabilitet ved -100 cm blev målt umiddelbart før simulering af nedbør, dvs. 7 eller 28 dage efter pesticidtilførsel.

Vandet anvendt til simulering af nedbør lignede naturlig nedbør (1.2×10^{-2} mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.015 mM $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0.12 M NaCl, pH 7.82, EC = 0.024 mS cm^{-1}). Nedbøren blev, via et roterende vandingshoved (1.2 rpm) placeret 5 cm over jordoverfladen, tilført jordoverfladen med en konstant nedbørsrate på 10 mm pr. time (78,5 cm^3 pr. time), svarende til en intensiv nedbørshændelse. Effluenten blev via en rustfri ståltragt med 5 cm hængende vandsøjle ledt ned i syrevaskede opsamlingsflasker med automatisk rotationsopsamling.

Monitering af pesticidudvaskning og udvaskning af $^3\text{H}_2\text{O}$ -tracer kunne ikke gennemføres samtidigt på grund af forskellige krav til prøveopsamlingen, og derfor blev der gennemført to udvaskningsforsøg sekventielt, en fase 1 med opsamling af effluent til pesticidanalyser, og en fase 2 med opsamling af $^3\text{H}_2\text{O}$ tracer. Begge udvaskningsperioder varede 10 timer, svarende til udvaskning af ~2 porevolumener (PV). I fase 1 blev der opsamlet effluent indtil ~0.5, 1 og 1.5 PV til pesticidanalyser i 2-L glasflasker, som var syrevasket og glødet. Fra hver af de tre opsamlede fraktioner blev 30 ml effluent dekanteret til bestemmelse af turbiditet, pH og EC. Pesticidprøver blev herefter nedfrosset til senere analyse. I fase 2 tilførtes med et separat vandingshoved en 15 min lang $^3\text{H}_2\text{O}$ puls (8325 Bq) ved 10 mm h^{-1} . Efter dosering af $^3\text{H}_2\text{O}$ blev der skiftet tilbage til regnvandsopløsningen med samme vandingsrate i 10 timer, svarende til en udvaskning på ca. 1.5-2 PV. Effluenten blev opsamlet i fraktioner svarende til hhv. 15, 30 og 60 min i de tre perioder 0-5,25, 5,25-8,25 og 8,25-13,25 timer. Effluentfraktionerne blev vejlet for at kunne beregne flow-rate, og der blev afpipetteret en prøve til bestemmelse af $^3\text{H}_2\text{O}$, pH og EC.

Efter nedbørshændelsen blev kolonnerne afdrænet til 5 cm og afdræningsvand samt jordkolonnen (w_{-5}) vejlet med henblik på bestemmelse af vandfyldt porevolumen under udvasknings- og tracerforsøget. Kolonnerne blev efterfølgende overført til tensionsboks og afdrænet til 100 cm, forseglet og opbevaret til senere analyse (afsnit 2.6.5).

Efter prøvetagning (se afsnit 2.6.5) blev der lavet tørstofbestemmelse på jorden ved ovntørring (105°C). Volumenvægt, ρ_b (kg m^{-3}), for hver kolonne blev estimeret fra prøvens volume (V_t) og tørvægt (M_s):

$$\rho_b = \frac{M_s}{V_t}$$

Vandfyldt porøsitet, θ_{-5} ($\text{m}^3 \text{m}^{-3}$), blev estimeret ud fra volumenvægt, densiteten af vand (ρ_w) og gravimetrisk vandindhold (w_{-5} , kg kg^{-1}) målt ved afslutningen af udvaskningsforsøget:

$$\theta_{-5} = \frac{\rho_b}{\rho_w} \times w_{-5}$$

Jordkolonnens vandfyldte porevolumen (V_0 , m^3), blev beregnet på basis af vandfyldt porøsitet (θ_{-5}) og prøvevolumen (V_t):

$$V_0 = \theta_{-5} \times V_t$$

Effluent volumen (V , m^3) blev omregnet til effluent pore volumen, (PV, $\text{m}^3 \text{m}^{-3}$) på basis af vandfyldt porevolumen:

$$PV = \frac{V}{V_0}$$

Samhørende aktiviteter af $^3\text{H}_2\text{O}$ i influent (C_0) og effluent (C) blev brugt til beregning af tracer-gennembrudskurver (*break-through curves*, BTCs) og genfindelse af $^3\text{H}_2\text{O}$ normaliseret til tilført mængde (M/M_0).

2.6.5 Prøvetagning

Fire uger efter pesticidbehandlingerne blev forsøget stoppet for at bestemme effekter på jordlevende organismer og udvalgte økosystemfunktioner. Først blev tre 100-cm³ stålringe (højde 3,3 cm, diam. 6,2 cm) nedsat i alle kolonner; de udgjorde delprøver beregnet til analyser af mikrolededyr. Mængden af halmrester på overfladen af DS-kolonner varierede meget, og for at vurdere effekten heraf blev der udtaget ringe med relativt meget og relativt lidt halm på overfladen i kolonner fra DS (Figur 3); forekomsten af halm blev altså her behandlet som en selvstændig variabel.

Den enkelte kolonne blev så placeret i en opstilling med hydraulisk stempel. De øverste 5 cm af jorden blev presset op i en stålring, hvorefter dette lag blev isoleret og vejjet (af hensyn til analyse af jordfysiske egenskaber). Jordoverfladen var ikke plan, derfor repræsenterer ringene dybdeintervallet, men prøverne var kun 3,3 cm høje. Resterende halm havde direkte kontakt med jordoverfladen, dvs. ingen signifikant andel i de 0-5 cm. De tre 100-cm³ ringe med indhold blev lukket med perforerede plastlåg og senere analyseret for mikrolededyr. Den øvrige jord fra 0-5 cm dybde blev homogeniseret, sigtet, og delprøver udtaget til mikrobiologiske analyser.



FIGUR 3

PROCEDURE FOR PRØVETAGNING I KOLONNEFORSØGET EFTER 4 UGERS INKUBATION. RINGE (10 CM³) BLEV NEDSAT TIL UDDRIVELSE AF MIKROLEDYR FØR JORDEN I 0-5 CM DYBDE BLEV ISOLERET. PRØVEN BLEV VEJET FØR FJERNELSEN AF RINGE OG DELPRØVER TIL MIKROBIOLOGISKE ANALYSER AF HENSYN TIL JORDFYSISK KARAKTERISERING AF KOLONNERNE.

2.6.6 Nedbrydning af halm

Ved forsøgets afslutning blev 2-4 g halm indsamlet fra overfladen af alle DS-kolonner. Halvdelen af kolonnerne havde som beskrevet ovenfor været udsat for simuleret nedbør efter 1 uge, og den anden halvdel efter 4 uger, hvilket i praksis var 1-3 dage før opskæringen. Halmprøverne blev inkuberet ved 20°C i et respirometer (Respicond; Uppsala, Sverige) i knap 3 uger, hvor CO₂ blev opsamlet i en base (KOH) med elektroder, som registrerede væskens ledningsevne hver time. Faldet i ledningsevne, som skyldes en neutralisering af basen med den opløste CO₂ (eller rettere kulsyre, H₂CO₃), blev omregnet til CO₂ og relateret til vægten af halm. Basen blev udskiftet efter behov.

2.6.7 Mikroled dyr

Mikroled dyr blev isoleret fra prøver udtaget i tre 100-cm³ metalringe pr. kolonne umiddelbart efter afbrydelsen af forsøget. Mikroled dyrene blev uddrevet og opsamlet som beskrevet i feltforsøget (afsnit 2.4.2).

2.6.8 Potentiel nitrifikation

Jordprøver fra 0-5 cm dybde blev udtaget som beskrevet nedenfor (afsnit 2.6.9) og opbevaret ved 2°C indtil analyse for potentiel nitrifikation indenfor en uge. Analysen for potentiel nitrifikation blev udført som beskrevet for markforsøget (se afsnit 2.4.4). Hver jordprøve fra de intakte kolonner blev analyseret med to gentagelser.

2.6.9 Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA)

Jorden udtaget i 0-5 cm dybde blev sigtet <6.5 mm og homogeniseret. Afgrøderester, rødder og sten blev fjernet. Herefter blev jord til PLFA-analyser (2-2.5 g) straks afvejet til ekstraktion, mens den øvrige del af prøven blev opbevaret ved 2°C indtil analyse for potentiel nitrifikation og diversitet. Se afsnit 2.4.5 for detaljer vedr. PLFA-analysen.

2.6.10 Mikrobiel diversitet, substratudnyttelse

Den mikrobielle biomasses (primært bakteriers) fysiologiske diversitet blev karakteriseret ved at måle profiler af substratudnyttelse i Biolog Ecoplates (Vinther et al., 2003). Med denne teknik måles det samlede potentiale for at omsætte hvert af en række forskellige kulstofholdige substrater (Garland & Mills 1991; 1994). Teknikken giver derfor et fysiologisk "fingeraftryk", som ikke er udtryk for den faktiske omsætning i jorden, men som kan bruges til at karakterisere og sammenligne mikrobielle samfund. På Biolog Ecoplates med 96 brønde optræder 31 forskellige substrater samt en kontrolbrønd uden substrat (n=3). Substraterne repræsenterer stofgrupper som aminosyrer, aminer, kulhydrater, carboxylsyrer samt polymerer.

Fra hver af de 24 intakte kolonner blev der fremstillet tre replikater af podemateriale; dette blev gjort ved at udryste 3 g jord i 40 ml sterilt fysiologisk saltvand (0,85 % NaCl) i et 50-ml Falcon-rør. Jorden blev udrystet i 30 min ved 20 rpm (end-over-end), hvorefter prøverne blev centrifugeret i 3 min ved 2000 rpm for at bundfælde jordpartikler. Fra supernatanten blev 3 ml overført til 27 ml sterilt fysiologisk saltvand. Den samlede fortynding af jordprøven på ca. 100×, blev lavet ud fra en antagelse om et totalt antal (udrystbare) bakterier i jord på ca. 10⁷ ml⁻¹, samt et ønske om podemateriale med ca. 10⁵ bakterier ml⁻¹. Efter omrystning blev 32 substratbrønde (¼ Ecoplate) podet med 150 µl fra hver opløsning; de tre podematerialer fra hver kolonne blev på denne måde podet på samme Biolog Ecoplate.

Efter podning blev absorptionen (OD) ved 595 nm i hver brønd aflæst på en multiplade-reader (SPECTROstar Nano, BMG Labtech), og pladerne blev derefter inkuberet ved 20°C. Målinger af OD blev efterfølgende udført to gange dagligt (intervaller på 10-14 timer) igennem fire døgn; en afsluttende måling blev udført efter seks døgn. Til hvert måletidspunkt blev den gennemsnitlige farveudvikling (*average well-colour development*, AWCD) beregnet for hver enkelt plade. Det tidspunkt blev udvalgt, hvor AWCD lå tæt på 0,6 (0,6 ± 0,2) OD, og resultaterne fra dette tidspunkt blev brugt i den videre databehandling (Vinther et al., 2003). Ud fra OD-værdierne beregnedes det såkaldte Shannon-Wiener diversitetsindeks (H), der beskriver jordprøvens diversitet med hensyn til substratudnyttelse:

$$H = \sum p_i (\ln p_i),$$

hvor p_i angiver hver enkelt substrats andel i den samlede OD for alle 31 substrater (Zak et al., 1994). Ligeledes kvantificeredes richness (R) som antallet af kulstofsubstrater, der blev omsat af mikroorganismerne i podematerialet. Som tærskelværdi benyttedes en OD på $3 \times$ niveauet i kontrolbrønde (uden kulstofsubstrat).

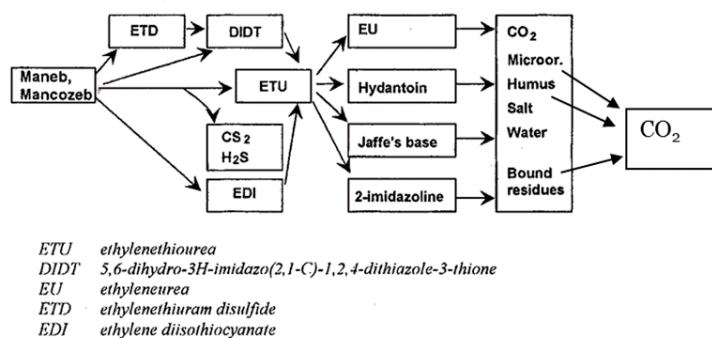
2.6.11 Analyse af pesticider

Afstrømmende vand fra kolonneforsøget blev analyseret for pesticidrester. Mancozeb har en halveringstid på under 2 dage i vand og veliltet jord (The Footprint Pesticide Property Database; <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/mancozeb.pdf>). Derfor fokuserede analysen af med hensyn til mancozeb på at måle koncentrationen af metabolitten ethylenthiourea (ETU), som er et dominerende nedbrydningsprodukt (Figur 4).

Matrixeffekten i de tre opsamlede fraktioner var forskellig, og derfor blev der fremstillet separate standardrækker for hver fraktion med effluent opsamlet fra kontrolprøver uden pesticidtilførsel.

Standardrækker af ETU (Dr. Ehrenstorfer) i matrix/10% MeOH (Rathburn) blev fremstillet med 1, 2, 5 og 10 ng ml⁻¹. Både standarder og prøver blev filtreret gennem 0,45 µm PTFE filter. Til analysen blev anvendt et HPLC system (Agilent 1200-serien) forsynet med ABSciex 3200 QTRAP massespektrometer. Den anvendte kolonne var BDS Hypersil C18, 250 × 2,1 mm, partikelstørrelse 5 µm. A-eluenten var 1% MeOH med 10 mM ammoniumacetat, og B-eluenten var 90% MeOH med 10 mM ammoniumacetat. Der anvendtes gradient-eluering med en flowrate på 0,2 ml min⁻¹ og et injektionsvolumen på 2,5 µl. Til ioniseringen blev anvendt turbo-electrospray (ESI), og scan-typen var multiple reaction monitoring (MRM) i positiv mode. Masseparret 103/86 blev brugt til kvantificering overfor standardrækkerne i matrix/10% MeOH.

Standardrækker af α-cypermethrin blev fremstillet i matrix/MeOH med 0,39, 0,78, 1,57, 3,13, 6,25, 12,5, 25 og 50 ng l⁻¹. Prøver blev tilsvarende fortyndet 1:1 med MeOH. Både standarder og prøver blev filtreret gennem 0,22 µm PTFE filter. Standarder og prøver blev analyseret med samme opsætning som beskrevet ovenfor, men med et injektionsvolumen på 50 µl, og med masseparret 416/191 til kvantificering af α-cypermethrin.



FIGUR 4
 SKEMATISK BESKRIVELSE AF NEDBRYDNINGEN AF FUNGICIDERNE MANEB OG MANCOZEB (EFTER FOMSGAARD ET AL., 1998). MANEB ER EN BESTANDDEL AF MANCOZEB.

2.7 Dataanalyser

2.7.1 Markforsøget – effekter og vekselvirkninger

I samarbejde med statistiker Kristian Morten Kristensen, Aarhus Universitet, blev følgende lineære mixed modeller opstillet til analyse for hovedeffekter og vekselvirkninger:

Model 1. Fuldt balanceret model i randomiseret blokdesign med split-split plots for tre pesticidbehandlinger, K, F og I, i kombination med de to N-gødskningstyper. Formelt er hovedplots (jordbearbejdning) opdelt i to split plots (N-gødskning), som igen er opdelt i tre split-split plots (pesticidbehandling) (Tabel 5). Med denne model blev kun pesticid-grundbehandlingerne analyseret, mens resultater fra under-underparceller med forhøjede eller samtidige doseringer blev udeladt.

Model 2. Alle pesticidbehandlingskombinationer i et split-plot randomiseret blok design (Tabel 5). Eftersom forhøjede pesticidniveauer kun var repræsenteret i underparceller med handelsgødning, optræder N-gødskning ikke som faktor i denne model. Der var ialt fire prøvetagninger i forsøget, svarende til 1, 4, 13 og 16 måneder efter første pesticidbehandling. Prøvetagningstidspunkt indgik som en kategorisk *repeated measurement* variabel, mens sammenligninger mellem år, sæsoneffekter, og sæsoneffekters afhængighed af år, blev undersøgt med CONTRASTS.

En mixed model blev også anvendt til at undersøge effekter af jordbearbejdning, N-gødskningstyper og pesticidbehandling på stivelse og kvælstofkoncentration i kerne ved høst i 2012. Alle regressionsanalyser blev gennemført i SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

Isotopdata på indsamlet materiale fra forsøgsparcellerne var ikke, som populationsdata, balancerede, og derfor var ikke alle effekter estimerbare. De blev analyseret med en faktoriel model inkluderende samme dyrkningsfaktorer som populationerne dvs. tidspunkt (D), gødskningstypen (FRT), pesticidbehandlingen (P), jordbehandling (T); derudover indgik typen af organisk materiale, enten som en artsfaktor med henblik på at teste for eventuelle forskelle mellem arter eller en stoftype (eksempelvis plantemateriale, gødning, førne eller jord) (TAXA). I dette ubalancerede faktorielle design er *least square means* præsenteret i stedet for aritmetriske gennemsnit.

2.7.2 Markforsøget - multivariate analyser

Regressionsanalyser indikerer signifikante effekter, men ikke hvordan de forskellige responsvariable indbyrdes fordeler sig i forhold til forklarende variable, herunder dyrkningspraksis. Effekterne blev derfor yderligere belyst med en multivariat analyse, som grupperer responsvariable sammen med forklarende variable i et multidimensionelt rum. Blandt flere mulige metoder faldt valget på redundansanalyse (RDA), som er en ordinationsmetode der ligger i direkte forlængelse af multipel lineær regression (Legendre & Legendre, 1998). RDA-analyser blev gennemført ved hjælp af pakken *vegan* i R (Legendre & Legendre, 2012).

Indsamling af fysisk-kemisk information om jordbundsforhold har ikke været en del af projektet, bortset fra en bestemmelse af organisk stof (målt som *loss-on-ignition*, LOI) på underparcel-niveau ved første prøvetagning. Forklarende variable var, udover LOI, dyrkningsfaktorerne jordbearbejdning, kvælstofkilde og pesticidbehandling samt prøvetagningstidspunkt (år, sæson). Men da regressionsanalyserne for individuelle responsvariable (Tabel 7 - Tabel 12) i stort omfang viste signifikante effekter af prøvetagningstidspunkt, ville analyser på tværs af prøvetagningstidspunkter blive svære at fortolke, og i stedet blev der gennemført separate analyser for hver prøvetagning. Kun hovedeffekter, svarende til data anvendt i Model 1 (se afsnit 2.7.1), blev analyseret med RDA.

TABEL 5

OVERSIGT OVER BEHANDLINGER INDENFOR HVER AF DE FIRE BLOKKE I MARKFORSØGET, SOM HVER BESTOD AF TO HOVEDPARCELLER/HELLOTS (JORDBEARBEJDNING, PL=PLØJET ELLER DS=DIREKTE SÅET), TO SPLIT PLOTS (GØDSKNING, G=GYLLE, H=HANDELSGØDNING) OG TRE SPLIT-SPLIT PLOTS PR. GØDSKNINGSNIVEAU (PESTICIDBEHANDLING, F=FUNGICID, I=INSEKTICID, K=KONTROL). TO STATISTISKE MODELLER BLEV ANVENDT, OG DE SIDSTE TO KOLONNER I TABELLEN VISER, HVILKE BEHANDLINGER SOM VAR REPRÆSENTERET I HVER AF DE TO MODELLER.

Jordbehandling (T)		Split plot nr.	Split plot behandling	Split-split plot behandlinger		Pesticid behandling	Statistisk model	
			Gødskning (FRT)	F	I	P	1	2
Helplot	DS	1	G	0	0	K	*	
		2	G	5	0	F	*	
		3	G	0	5	I	*	
		4	H	0	0	K	*	*
		5	H	5	0	F	*	*
			H	10	0	F+F		*
			H	5	50	F+I		*
		6	H	0	5	I	*	*
			H	5	5	I+F		*
			H	0	*55	I+I		*
Helplot	PL	1	G	0	0	K	*	
		2	G	5	0	F	*	
		3	G	0	5	I	*	
		4	H	0	0	K	*	*
		5	H	5	0	F	*	*
			H	10	0	F+F		*
			H	5	50	F+I		*
		6	H	0	5	I	*	*
			H	5	5	I+F		*
			H	0	55	I+I		*

* I den statistiske analyse blev 50 × og 55 × anbefalet dosis med hensyn til insekticid puljet.

Der blev gennemført separate analyser for hver prøvetagning med følgende grupper af responsvariable:

- Organismegrupper: Antal regnorme (**T_EW**), antal springhaler (**T_Colle**), antal mider (**T_Acari**) og mikrobiel biomasse (**T_PLFA**)
- Mikrobiel biomasse: PLFA-indikatorer for sammensætningen af den mikrobielle biomasse, incl. stress-indikatorerne 16:1ω7t/16:1ω7c (**16:1t/c**), cy17:0/16:1ω7c (**cy17/16:1**), cy19:0/18:1ω7c (**cy19/18:1**), forholdet mellem en svampeindikator (18:2ω6c) og bakterielle indikator-PLFA (defineret i Petersen et al. (2002) (**fung/bact**) og potentiel nitrifikation (PN – egt. ammonium oxidation, derfor anvendes i figuren koden **PAO**).
- Regnorme: Antal adulte (**ad**) og juvenile (**ju**) individer af *A. tuberculata* (**At**), *A. longa* (**Al**), *A. rosea* (**Ar**) og *L. terrestris* (**Lt**)
- Springhaler: Antal *Cryptopygus thermophilus* (**C_therm**), *Isotoma anglicana* (**I_ang**), *Isotomurus palustris* (**I_pal**), *Isotomurus* sp. (**Iso_sp**), *Lepidocyrtus cyaneus* (**L-cyan**), Seleg (**Sel**), Symphypleona (**Sym**), *Mesaphorura* sp. (**Mes**), *Parisotoma notabilis* (**P_not**), Entomobryidae (**Ent**), *Megalothorax minimus* (**M_min**), *Willemia* sp. (**Will**), cident (**cdent**) og *F. fimetaria* (**ffim**)

- e. Mider: Antal Oribatida (**Ori**), Actinedida (**Act**), Gamasida (**Gam**), Pygmephoridae (**Pyg**), Tarsonemidae (**Tar**) and Acaridida (**Aca**).

2.7.3 Kolonneforsøget - effekter og vekselvirkninger

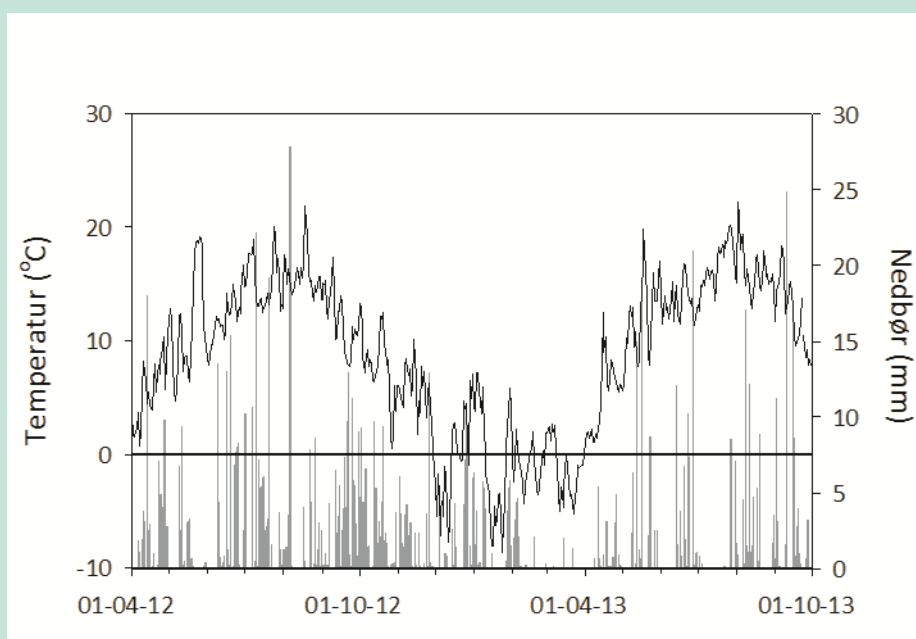
Alle kolonner, som indgik i forsøget, blev karakteriseret med hensyn til en række jordfysiske parametre som beskrevet i afsnit 2.6.2 – 2.6.4. En del af disse parametre blev målt under eller efter forsøget, og derfor blev forskelle mellem kolonnernes jordfysiske egenskaber evalueret med en mixed model, der havde Tillage, Pesticidbehandling og Blok som forklarende variable. Der blev i mange tilfælde fundet en blokeffekt, oftest i form af en vekselvirkning med Tillage, som indikerede at jordbundsforholdene på forsøgsarealet ikke var homogene (se Tabel 18 i resultat-afsnittet). Kun luftpermeabilitet viste en selvstændig effekt af blok. Med det formål at opnå en (delvis) korrektion for blokeffekten uden at fjerne behandlingseffekterne, blev det besluttet at anvende luftpermeabilitet som en co-variabel i analysen af resultater fra kolonneforsøget. Relevansen af dette for de observerede responsvariable diskuteres i afsnit 4.3.3.

Målingerne af biologiske parametre på kolonnerne blev herefter analyseret med en *mixed* effekt model, hvor behandlingerne var pesticidbehandling, tidspunktet for nedbørshændelse og jordbearbejdning. For mikrolededyrene indgik endvidere tilstedeværelsen af halm i den udtagne prøve fra DS kolonner som en faktor i modellen. Desuden indgik som nævnt luftpermeabiliteten som en co-variabel.

3. Resultater

3.1 Nedbør og temperatur

Figur 5 viser nedbør og temperatur i forsøgsperioden. Sammenlignet med middelværdier for perioden 1961-1990 var juni 2012 koldere (i gennemsnit -2.1°C), men maj 2013 var $1,9^{\circ}\text{C}$ varmere. For nedbør var der flere betydelige afvigelser fra langtidsgennemsnit, men mest interessant i forhold til prøvetagningerne i dette projekt faldt der 83 mm regn i juni 2012, eller næsten 50% mere end gennemsnit for juni måned i perioden 1960-1990, som er 57 mm. Det koldere og vådere vejr imellem pesticidbehandling og prøvetagning i 2012 kan have påvirket pesticideffekter på jordlevende organismer.



FIGUR 5
DAGLIG NEDBØR OG TEMPERATUR I PERIODEN APRIL 2012 TIL OKTOBER 2013.

3.2 Afgrødens vækst

På grund af de forhøjede pesticiddoser var det relevant at undersøge, om forsøgsbehandlingerne havde effekter på afgrødens vækst som indirekte kunne bidrage til effekter af den direkte eksponering via jorden. På grund af prøvetagninger og forsøgsdesign var det ikke muligt at bestemme høstudbytter. I stedet blev der i 2012 taget planteklip ca. en uge før høst for at vurdere plantevæksten. Udvalgte indikatorer for udbyttekvalitet blev målt med en nærinfrarød teknik (FOSS Infratec 1241 Grain Analyzer); i enkelte tilfælde var det nødvendigt at pulje materiale fra to blokke.

Tabel 6 viser koncentrationer af stivelse og total N i kerneprøver. Kvælstofkoncentrationen var højere efter direkte såning end ved såning i pløjet jord ($P < 0.01$), og højere efter gødskning med handelsgødning sammenlignet med kvæggylle ($P < 0.01$). Effekterne kan forklares med forskelle i potentialet for ammoniakfordampning; afgrøderester på jordoverfladen i DS-plots vil give læ for vinden, mens gyllen vil have et større ammoniakfordampningspotentiale end den faste NS-gødning. Derimod var der ingen pesticideffekter på

de udvalgte planteegenskaber. Eftersom der ikke var tegn på hverken direkte eller indirekte effekter af afgrødens vækst på jordmiljøet, vil resultaterne i Tabel 6 ikke blive behandlet yderligere.

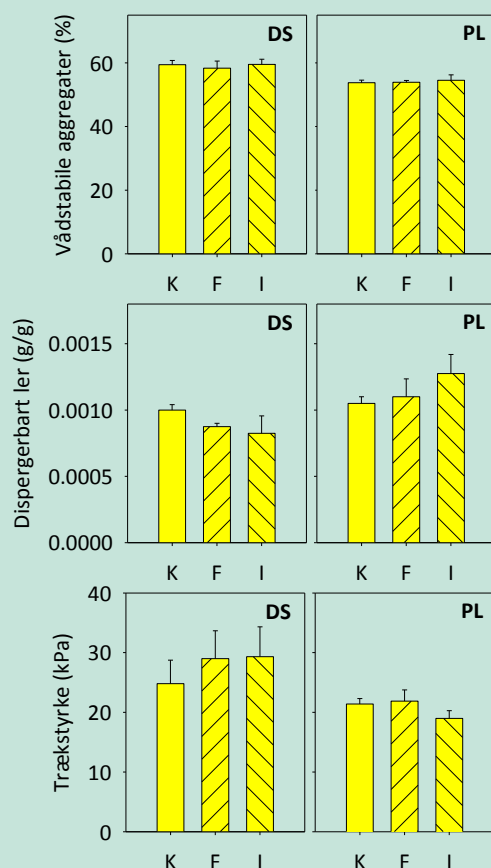
TABEL 6

KONCENTRATIONER AF STIVELSE OG KVÆLSTOF I KERNEPRØVER FRA GRUNDBEHANDLINGERNE, SOM BLEV INDSAMLET CA. EN UGE INDEN HØST I 2012. RESULTATER ER VIST SOM GENNEMSIT OG STANDARDFEJL (N=4). DS=DIREKTE SÅET; PL=PLØJET.

Jordbearbejdning	Kvælstofkilde	Pesticidbehandling	Stivelse (% tørstof)		Kvælstof (%)	
DS	Gylle	Kontrol	71.2	(0.3)	1.58	(0.02)
		Fungicid	70.9	(0.6)	1.57	(0.06)
		Insekticid	71.7	(0.1)	1.54	(0.00)
	Handelsgødning	Kontrol	70.8	(0.3)	1.74	(0.03)
		Fungicid	70.8	(0.4)	1.78	(0.03)
		Insekticid	71.1	(0.1)	1.68	(0.03)
PL	Gylle	Kontrol	71.2	(0.1)	1.51	(0.02)
		Fungicid	70.8	(0.1)	1.46	(0.03)
		Insekticid	71.7	(0.0)	1.49	(0.00)
	Handelsgødning	Kontrol	70.9	(0.1)	1.64	(0.03)
		Fungicid	71.5	(0.2)	1.58	(0.04)
		Insekticid	70.9	(0.2)	1.63	(0.03)

3.3 Effekter på jordstruktur

Jordstruktur-målingerne viste signifikant effekt af jordbearbejdning på aggregatstabilitet (DS>PL), signifikant vekselvirkning mellem jordbearbejdning og pesticidbehandling for lerdispergering, og ingen behandlingseffekter for aggregaters trækstyrke (Figur 6). Effekten af jordbearbejdning på aggregatstabilitet var ikke overraskende og kan forklares med ophobningen af organisk stof ved jordoverfladen kombineret med den mindre fysiske forstyrrelse af jorden i DS sammenlignet med PL. Lerdispergering er et mål for frigivelsen af ler ved rystning af en jordprøve i vand. Jo mere, der frigives, des dårligere strukturstabilitet.



FIGUR 6

FYSISKE EGENSKABER AF JORD INDSAMLET I DET TIDLIGE FORÅR I PLOTS UNDER DIREKTE SÅNING (DS) OG PLØJNING (PL). ØVERST: VÅD-STABILITET AF AGGREGATER. MIDTEN: VÅD-DISPERGÉRBART LER. NEDERST: TRÆKSTYRKE (N = 4). BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). RESULTATER ER VIST SOM GENNEMSNIT OG STANDARDFEJL (N=4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

3.4 Effekter på jordlevende organismer i dyrkningsjorden

Forsøgsbehandlingernes effekt på jordlevende dyr blev undersøgt i to årlige kampagner (forår og efterår) i 2012 og 2013. Herved kunne såvel korttids- som langtidseffekter af dyrkningsfaktorer observeres og sammenholdes med sæsonvariationen i kontrolbehandlingerne. Udvalgte resultater præsenteres som figurer med angivelse af standardfejl, mens information om statistisk signifikante effekter fremgår af de tilhørende tabeller. I teksten omtales primært signifikante effekter, medmindre andet oplyses.

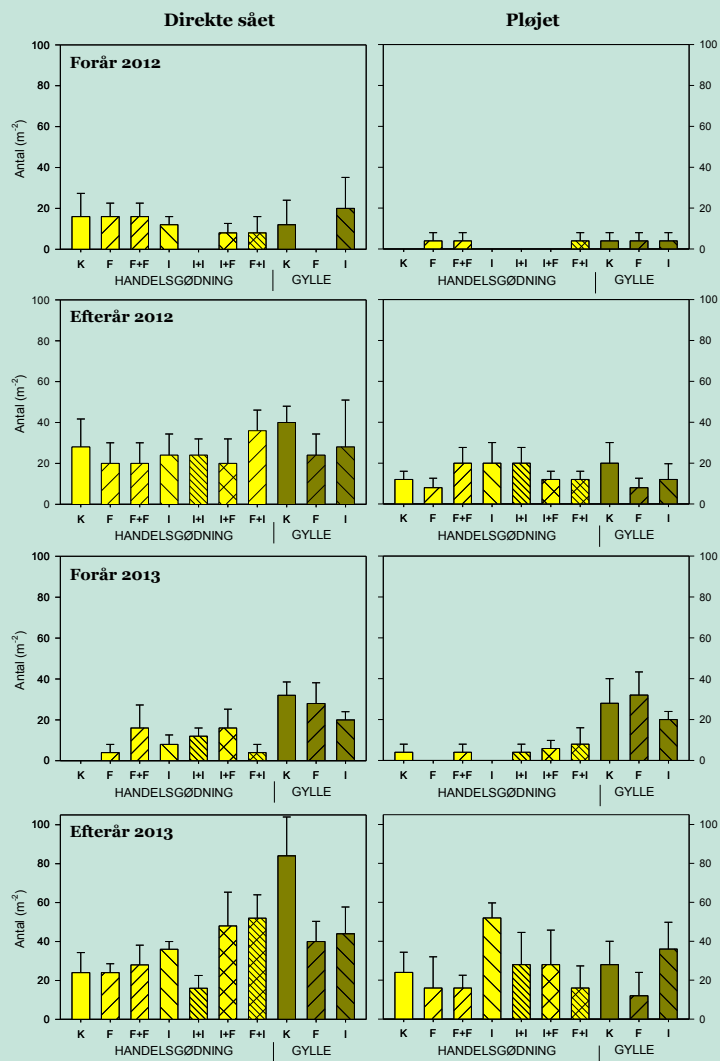
3.4.1 Regnorme

Figur 7 til Figur 10 viser antallet af forskellige regnormearter i $30 \times 30 \times 30 \text{ cm}^3$ jordprøver indsamlet ved de fire kampagner, mens biomassen er vist i Figur 36 til Figur 39 i Bilag 1. Følgende arter blev identificeret: Stor grå orm (*Aporrectodea tuberculata*), Lang orm (*Aporrectodea longa*), Rosa orm (*Aporrectodea rosea*) og Stor regnorm (*Lumbricus terrestris*). I antal var *A. longa* den hyppigst forekommende art, mens relativt få individer af *A. tuberculata* blev fundet i de fleste plots. Med hensyn til biomasse udgjorde *A. longa* og *L. terrestris* langt den største andel. Variationen mellem blokke var beskeden med undtagelse af *A. tuberculata*, hvor der i en række behandlinger blev fundet relativt store spredning (Figur 8); samme art var den eneste, som ikke blev fundet i alle forsøgsbehandling.

Resultaterne af de statistiske analyser er vist i Tabel 7 og Tabel 8. Begge modeller fandt, at prøvetagningstidspunktet havde markant indflydelse på forekomsten og biomassen af regnorme i landbrugsjord. Jordbearbejdningen havde tilsyneladende kun en hovedeffekt på *L. terrestris*, mens N-gødsning alene (FRT) havde en hovedeffekt på to af arterne, *A. longa* og *L. terrestris* (Tabel 7). Model 1 viste markante effekter af pesticidanvendelsen på alle orm undtagen *L. terrestris*. Som det fremgår af figurerne, er der dog ikke tale om et entydigt responsmønster, idet der blev observeret såvel positive som negative effekter på grundbehandlingerne (5× normal markdosis). Sammenlignet med parceller uden pesticidtilførsel var antallet og biomassen af f.eks. *A. tuberculata* således markant større i parceller tilført kvæggylle, hvor disse var sprøjtet med pesticider, specielt fungicidet (Figur 8). Ydermere var antal og biomasse i de færreste tilfælde markant forskellige fra sammenlignelige pesticidfrie parceller.

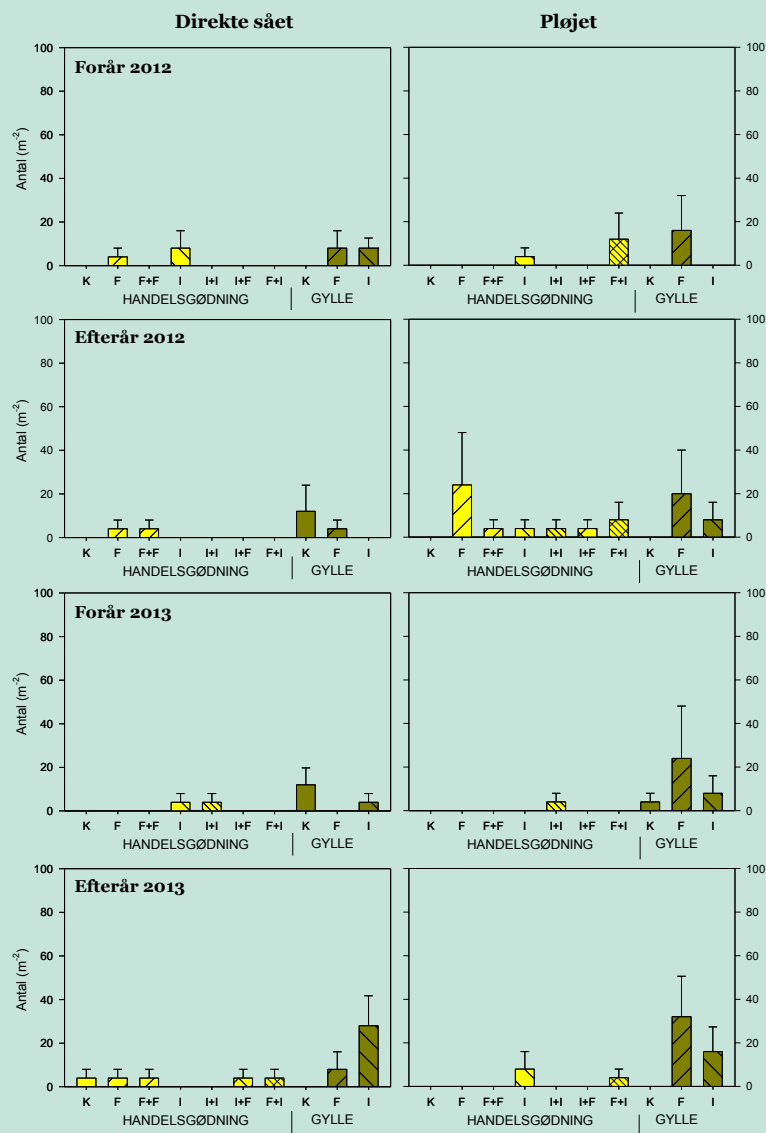
Når man analyserer samspillet mellem de forskellige dyrkningsfaktorer (gødsning, jordbearbejdning, pesticid-behandling og årstid), kan der observeres en række forhold alt afhængigt af hvilken model og hvilke responsvariable, der indgår. Model 2, hvor flere pesticidniveauer blev undersøgt, men kun i parceller tilført handelsgødning, viste kun en hovedeffekt af pesticider på *A. longa*, og da *A. longa* var den mest almindelige orm, havde effekten af pesticiderne på denne art også en overordnet effekt på den samlede population og biomasse af regnorme. Effekterne på *A. longa* var signifikant forskellige fra kontrollen i parceller, hvor der var anvendt en høj dosis af insekticidet (50-55× mark dosis) (Tabel 8 og Figur 9). Men hvor insekticidet ved 55× markdosis generelt havde en stimulerende effekt, hvor den forekom alene, så var effekterne det første år negative, såfremt eksponeringen skete i samspil med et fungicid (Figur 9). Effekterne på *A. tuberculata* er vanskelige at fortolke, eftersom der generelt blev fundet meget få individer. Der var generelt færre individer af *A. rosea* i parceller, der havde fået en høj dosis af fungicid (10× normal markdosis) (Figur 10).

Analysen af vekselvirkninger mellem pesticidbehandling og jordbearbejdninger, målt på både forekomsten og biomassen af *A. longa*, viste generelt en større negativ effekt af pesticiderne i pløjefrie (DS) parceller sammenlignet med pløjet jord (Tabel 8). Analyserer man effekten af de enkelte pesticid-kombinationer (Tabel 8 nederst) overfor kontroljorden, var der kun signifikante effekter i de scenarier, hvor der blev anvendt stærkt forhøjede doser, nærmere bestemt fungicid 10× over markdosis (F+F) og insekticid 55× over markdosis (I+I) samt, allermest markant, ved kombinationen af fungicid og insekticid (F+I, med fungicid og insekticid henholdsvis 5× og 50× over markdosis). De kraftigste effekter sås for *A. longa*, specielt i juni 2012, hvorimod der ingen effekt af pesticider blev observeret for *L. terrestris*.



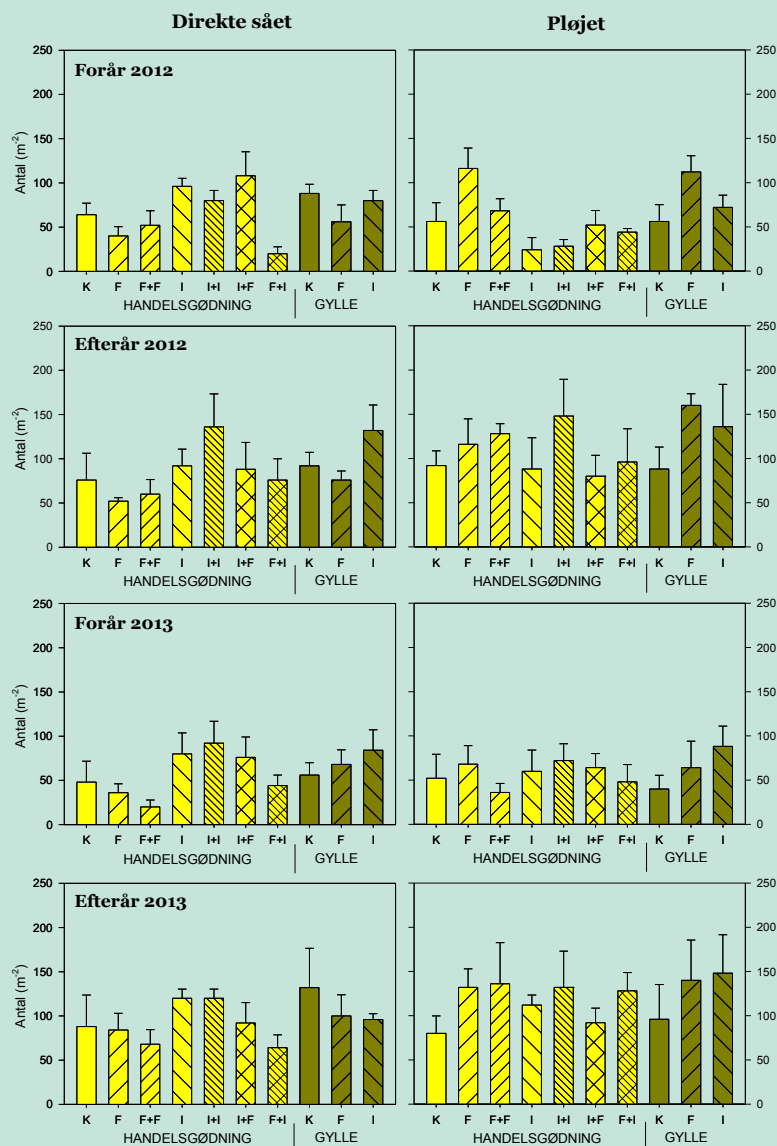
FIGUR 7

ANTAL (ANTAL M⁻²) *L. TERRESTRIS* I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



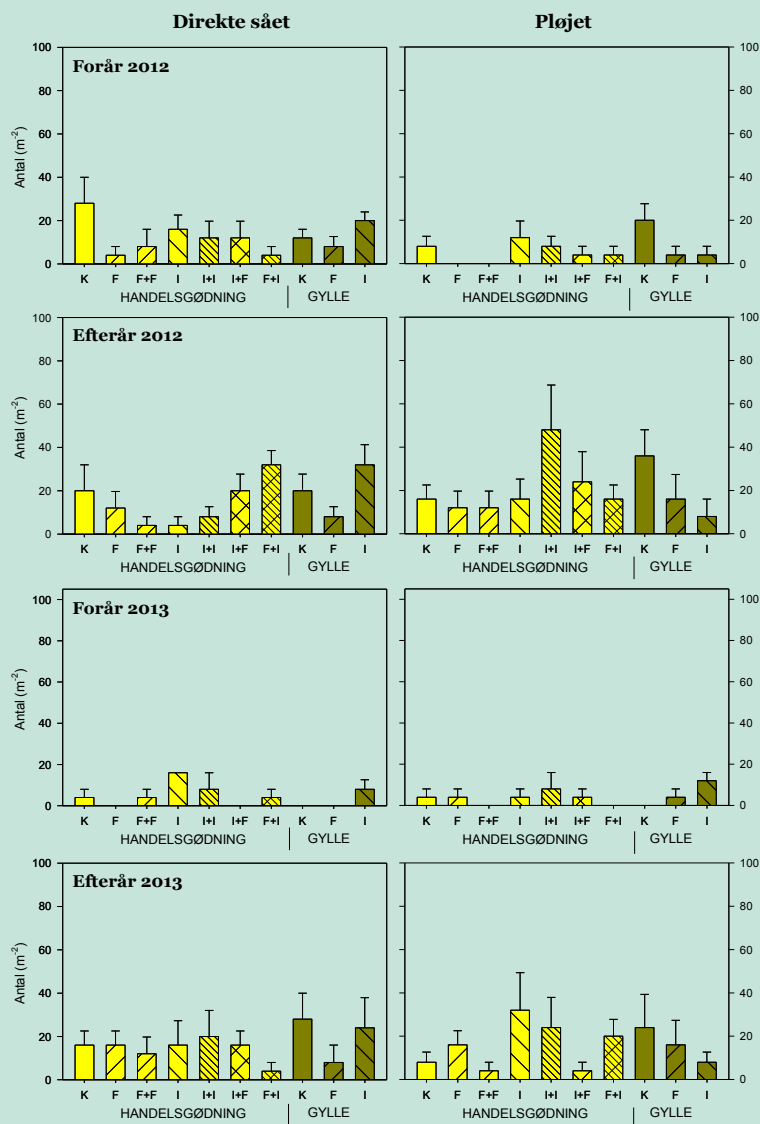
FIGUR 8

ANTAL (ANTAL M⁻²) AF A. TUBERCULATA I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



FIGUR 9

ANTAL (ANTAL M⁻²) *A. LONGA* I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



FIGUR 10

ANTAL (ANTAL M⁻²) FOR A. ROSEA I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

TABEL 7
EFFEKTER PÅ REGNORME (FRISKVÆGT, ANTAL) AF ALLE FAKTORER EFTER MODEL 1, SAMT DERES INTERAKTIONER. D:
TIDSPUNKT; FRT: GØDSKNING; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING.

Effekt	Stor grå orm <i>A. tuberculata</i>		Lang orm <i>A. longa</i>		Rosa orm <i>A. rosea</i>		Stor regnorm <i>L. terrestris</i>		Total antal regnorme	
	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal
D			***	***	***	***	***	***	***	***
T							*	*		
T*D										
FRT			*					*	*	*
FRT*D							*	***		
T*FRT										
T*FRT*D										
P	**	*		*	*	**				
P*D										
T*P			**	***					***	**
T*P*D										
FRT*P										
FRT*P*D										
T*FRT*P	*			*						
År 1 vs. År 2							*	***		
Forår vs. efterår	*		***	***	***	***	***	***	***	***
År 1 vs. År 2									*	*
sæsoneffekt										

*: P<5%; ***: P<1%; ****: P<0.1%.

TABEL 8
EFFEKTER PÅ REGNORME (FRISKVÆGT, ANTAL) AF PESTICIDER I HANDELSGØDEDE PARCELLER EFTER MODEL 2, SAMT DERES INTERAKTIONER. D: TIDSPUNKT; FRT: GØDSKNING; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING.

Effekt	Stor grå orm <i>A. tuberculata</i>		Lang orm <i>A. longa</i>		Rosa orm <i>A. rosea</i>		Stor regnorm <i>L. terrestris</i>		Total regnorme	
	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal	Vægt	Antal
D			***	***	***	***	***	***	***	***
T							*	*		
T*D									*	
P				*					*	
P*D										
T*P			**	***					*	*
T*P*D										
Parvise sammenligninger med kontrollen										
F										
F+F						*				
F+I										
I										
I+F										
I+I				**					*	
I*F		*								
F*I				***					*	

*, P<5%; ***, P<1%; ***, P<0.1%.

3.4.2 Mikrolededyr

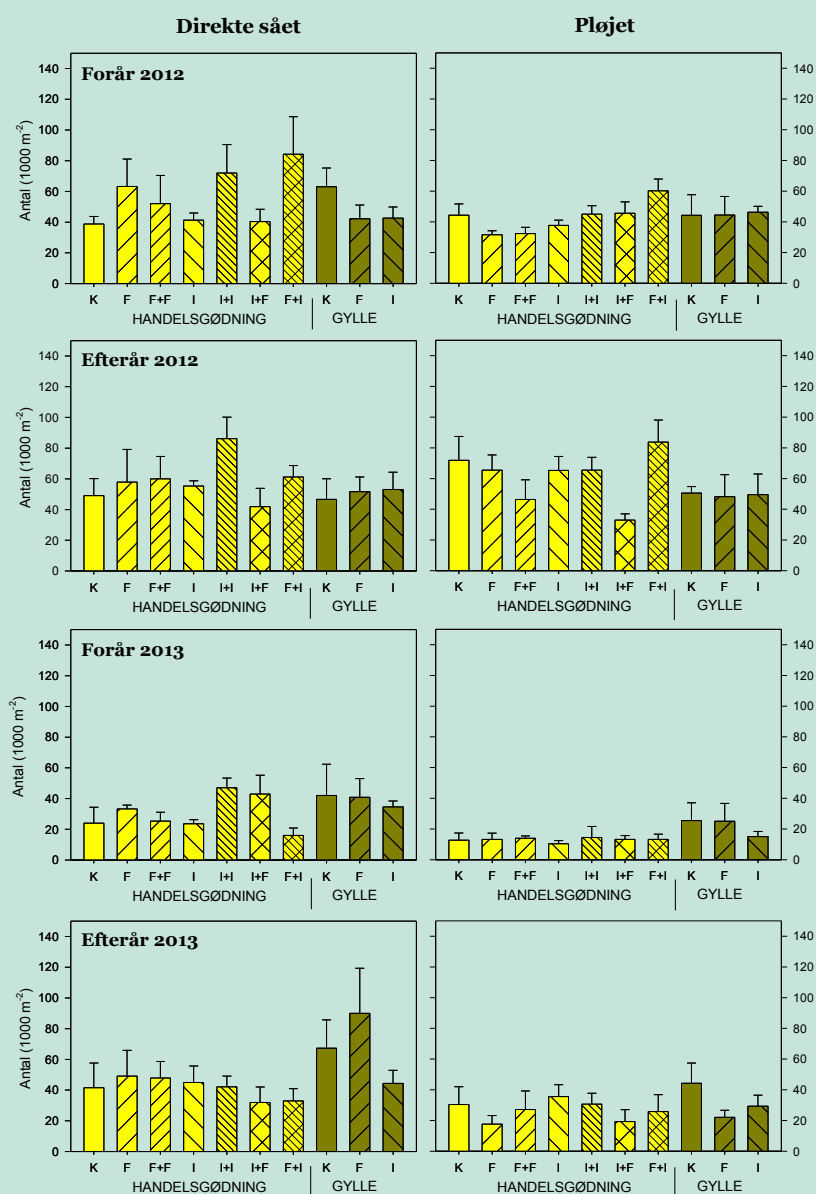
Figur 11 og Figur 13 viser effekterne af de forskellige dyrkningspraksis på antal af hhv. springhaler og mider. I Bilag 1 viser Figur 41 til Figur 48 resultater for undergrupper af mider, og for enkeltarter af springhaler. Resultater af de statistiske analyser er vist i Tabel 9 og Tabel 10. Antallet af mikrolededyr var stærkt afhængigt af såvel årstiden som indsamlingsåret. Ligeledes var der generelt en stærkt signifikant effekt af jordbearbejdningsmetode, med højere værdier ved direkte såning end i pløjet jord (Tabel 9). Med en enkelt undtagelse (springhalen *P. notabilis*, Figur 12) var der ikke for nogen organismegrupper en selvstændig effekt af gødningsformen (Tabel 9), men der blev dog i flere tilfælde observeret to- og trevejs vekselvirkninger mellem gødningstype, prøvetagningstidspunkt og jordbearbejdning.

Pesticider havde en overordnet effekt på antallet af mikrolededyr, som primært skyldtes effekter på mider (*Acari*, Figur 13). Stort set alle grupper var negativt påvirket af insekticid, mest markant måske hornmider (*Oribatida*, Figur 14) og fløjlsmidter, *Actinedida* (Figur 15). Ved pesticid-grundbehandlingerne (svarende til 5× markdosis) var det således kun for disse to grupper samt springhalen *Isotoma anglicana*, at der var hovedeffekter af pesticider (Tabel 9).

Med Model 2, som inkluderede de stærkt forhøjede pesticiddoseringer (10× og 50× anbefalet dosis) i analysen, var der også signifikante effekter på andre springhalearter (Tabel 10). Fungicid påført alene påvirkede kun gruppen *Actinedida*, og kun hvis påført i 10 × normal markdosis (Tabel 10). Effekterne på *Actinedida* af den høje fungicidbehandling (F×F) var generelt negativ. Effekter af insektidet på grupperne af mider, alene eller i samspil med fungicidet, var mere markante, og signifikante effekter var entydigt negative (Tabel 10, Figur 13 til Figur 15, Figur 41, Figur 42).

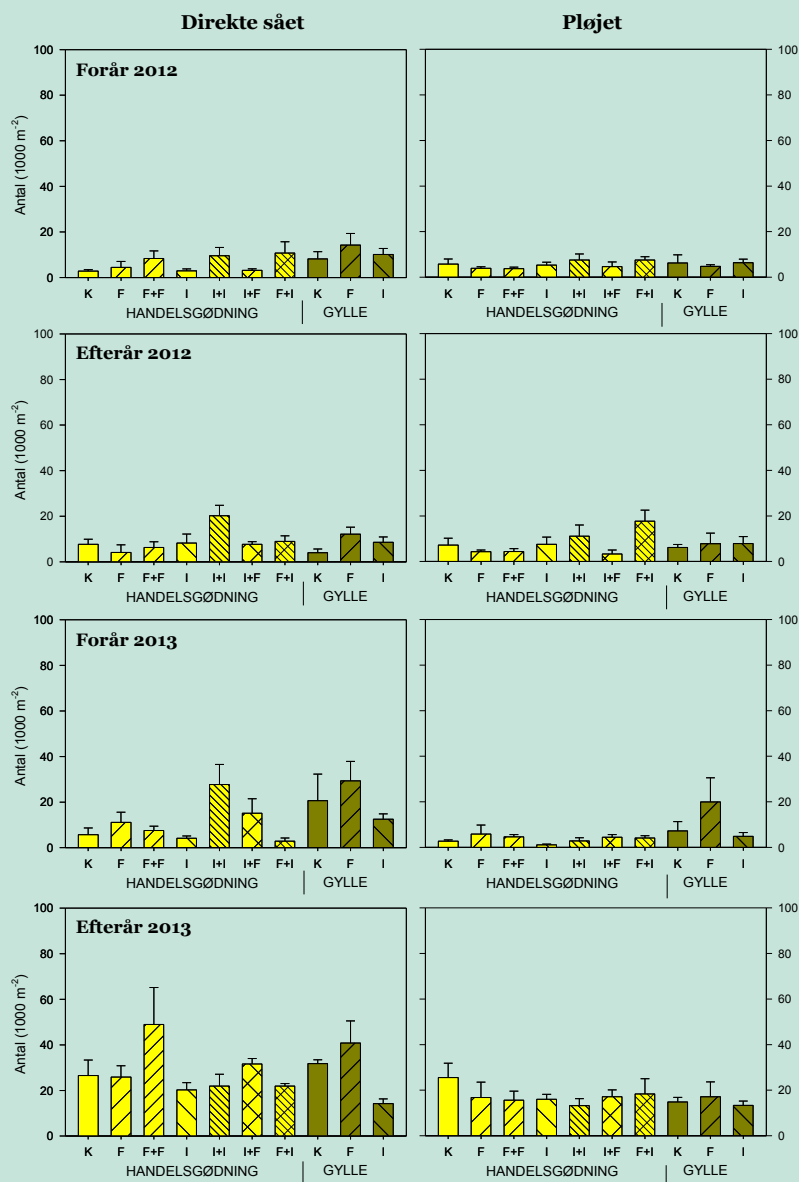
Hvad angår gruppen af springhaler blev der i langt de fleste tilfælde observeret positive effekter af pesticider, idet der blev fundet flere individer af de forskellige springhalearter specielt i underparceller med den højeste dosering af insekticidet (I×I) sammenlignet med de tilsvarende kontrol-underparceller. Der var dog stor variation imellem arter og år (Figur 11, Figur 12, Figur 43 til Figur 48) hvor de mest markante effekter kunne observeres for arterne *P. notabilis*, *C. thermophilus* og *I. anglicana*.

Overordnet set blev der ikke fundet markante effekter af den lave – svarende til 5× normal dosis - insekticidbehandling på det samlede antal springhaler, hverken i underparceller gødet med handelsgødning eller med gylle (Figur 11), omend der var en svag, men dog signifikant, stimulering af én art (*I. anglicana*) (Tabel 10), ligesom der var en ikke-signifikant tendens til, at insekticidet i enkelte år reducerede antallet af springhaler i gyllehandlet jord.



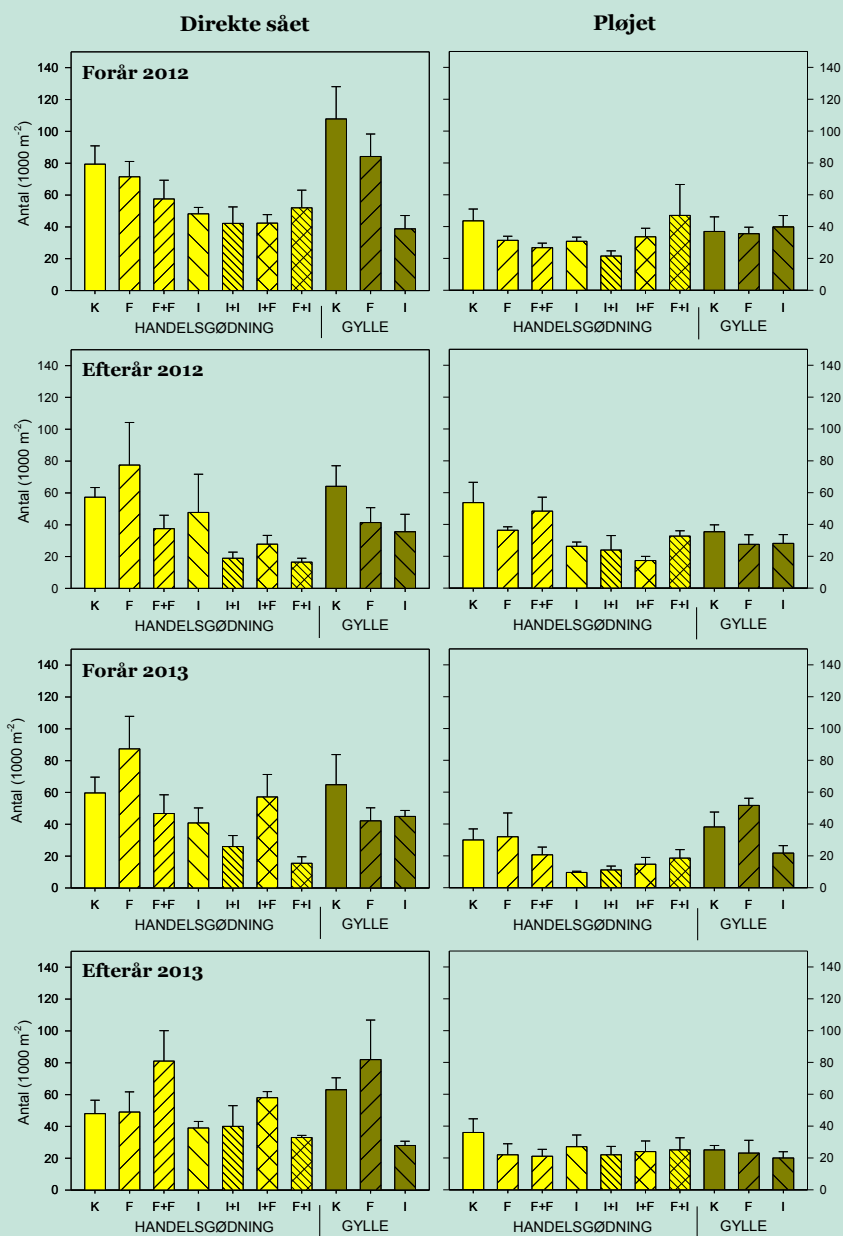
FIGUR 11

ANTAL SPRINGHALER (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



FIGUR 12

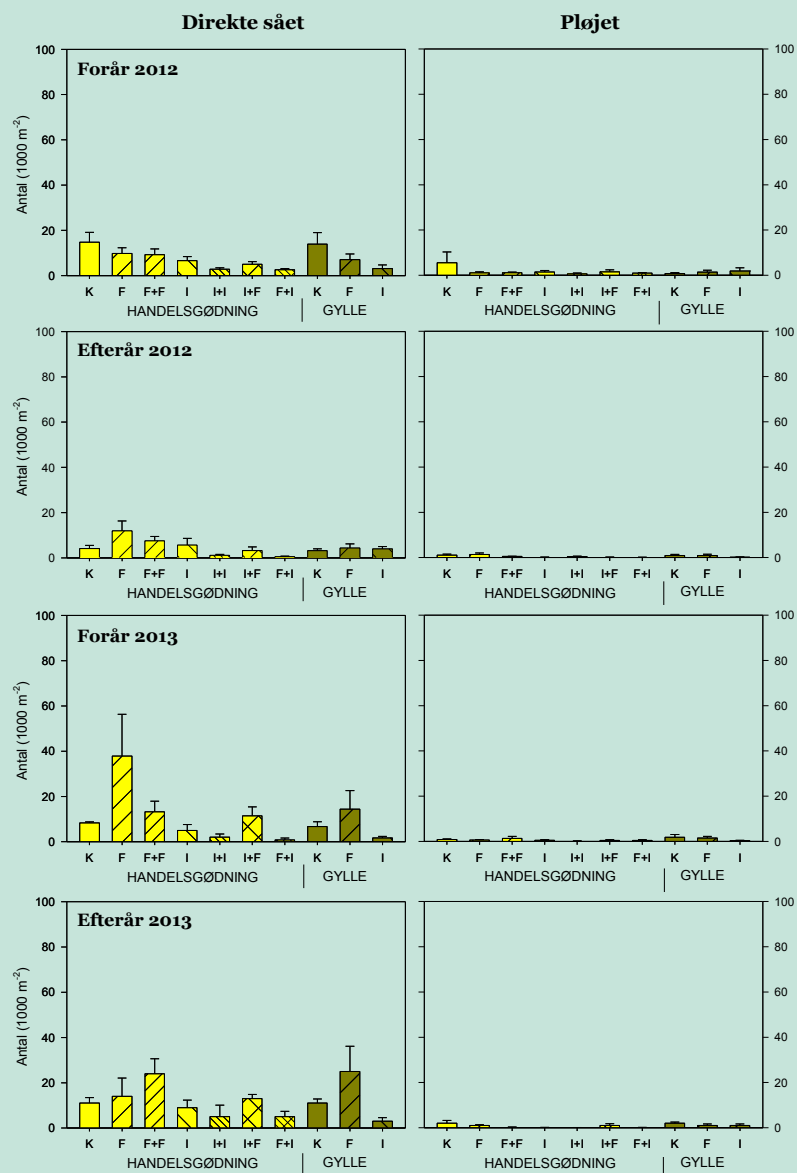
ANTAL AF SPRINGHALEN *PARISOTOMA NOTABILIS* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



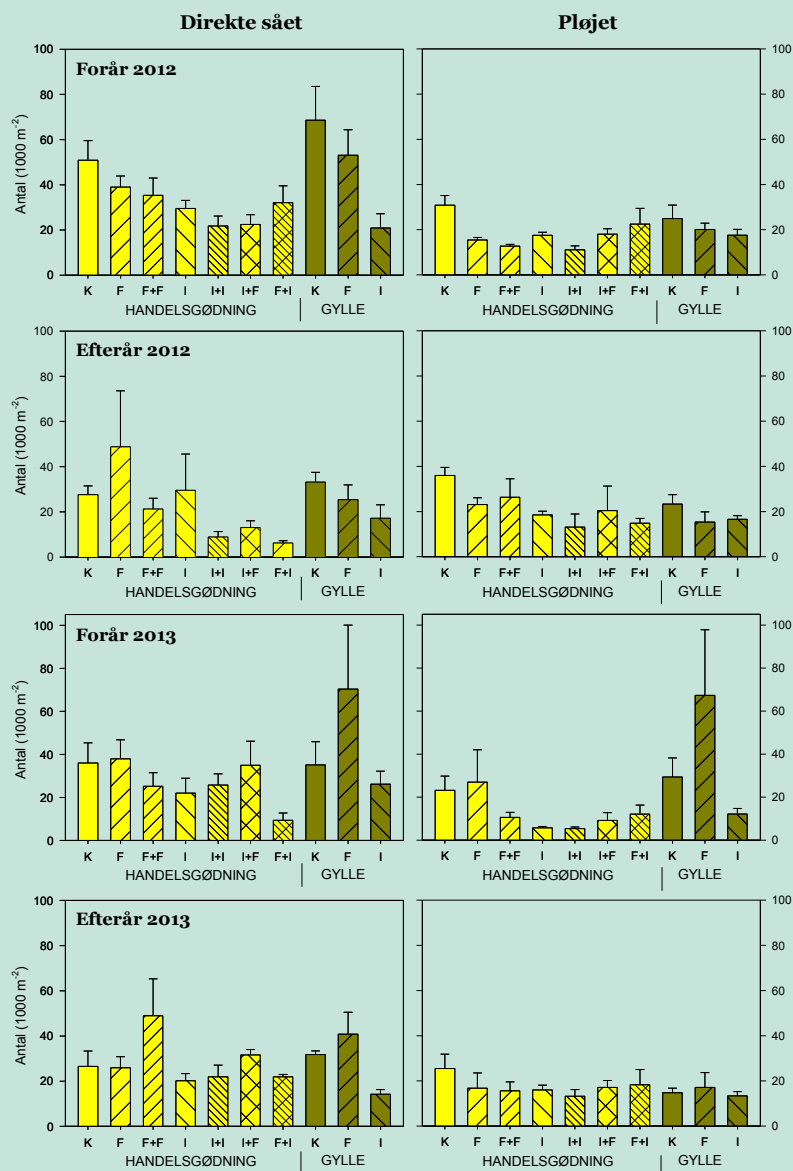
FIGUR 13

ANTAL MIDER (TIL HØJRE) (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR.

BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



FIGUR 14
 ANTAL AF MIDE-ORDENEN *ORIBATIDA* (1000 INDIVIDIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.



FIGUR 15

ANTAL AF MIDE-ORDENEN *ACTINIEDIDA* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

Med Model 2, som inkluderede de stærkt forhøjede pesticiddoseringer (10× og 50× anbefalet dosis) i analysen, var der også signifikante effekter på andre springhalearter (Tabel 10). Fungicid påført alene påvirkede kun gruppen af mider kaldet *Actinedida*, og kun hvis påført i 10 × normal markdosis (Tabel 10). Effekterne af fungicid af både positiv og negativ karakter (Figur 15). Effekterne af insekticid var mere markante. I langt de fleste tilfælde var der dog tale om positive effekter, idet der blev fundet flere individer af de forskellige springhalearter i insekticidbehandlede underparceller end i de tilsvarende kontrol-underparceller, dog med stor variation imellem arter og år.

Overordnet set blev der ikke fundet markante negative effekter af insekticidbehandling på det samlede antal springhaler, hverken i underparceller gødet med handelsgødning eller med gylle (Figur 11), omend der var en ikke-signifikant tendens til, at insekticid reducerede antallet af springhaler i gyllehandlet jord. I de fungicidbehandlede underparceller blev der ved en enkelt ud af fire indsamlinger fundet signifikant færre springhaler sammenlignet med den tilsvarende kontrol.

TABEL 9
EFFEKTER PÅ MIKROLEDDYR AF ALLE FAKTORER EFTER MODEL 1, SAMT DERES INTERAKTIONER. D: TIDSPUNKT; FRT: GØDSKNING; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING; M: MIDER; S: SPRINGHALER; V: TIL VENSTRE; H: TIL HØJRE.

Effekt	Mikrolededyr	Springhaler	Mider	Actinedida	Mesophorura sp.	Gamasida	<i>P. notabilis</i>	<i>I. anglicana</i>	Oribatida	Pygmephoridae	<i>L. cyaneus</i>	<i>C. thermophilus</i>	Kuglespringhaler	<i>I. palustris</i>	<i>C. denticulata</i>	Tarsonomidae	<i>F. fūnetaria</i>	<i>Willenia sp.</i>	<i>M. minimus</i>
Gruppe:				M	S	M	S	S	M	M	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	***	***	**	*	***	***	*	***	*	***	***	*	***	***		***	***	***	***
T	**	*	**	*		*			**		*			*			*		
T*D	***	***			**		*	**			*	**	***	*			***		**
FRT								*											
FRT*D	*	*		**				**								**			
T*FRT																			
T*FRT*D			*											*			*		
P	**		***	***				*	***										
P*D				*															
T*P																			
T*P*D																			
FRT*P																			
FRT*P*D																			
T*FRT*P			*																
År 1 vs. År 2	***	***	**		***			***	*	***	***		***	***	***	*	***	***	**
Forår vs. efterår	*	***		*	***	***		***		***	***		***	***		***	***	***	
År 1 vs. År 2 sæsoneffekt		*			**	*	**	*	*			*	***	***		***	**	***	***

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.

TABEL 10

EFFEKTER PÅ MIKROLEDDYR AF PESTICIDER I HANDELSGØDEDE PARCELLER EFTER MODEL 2, SAMT DERES INTERAKTIONER. D: TIDSPUNKT; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING; M: MIDER; S: SPRINGHALER; V: TIL VENSTRE; H: TIL HØJRE.

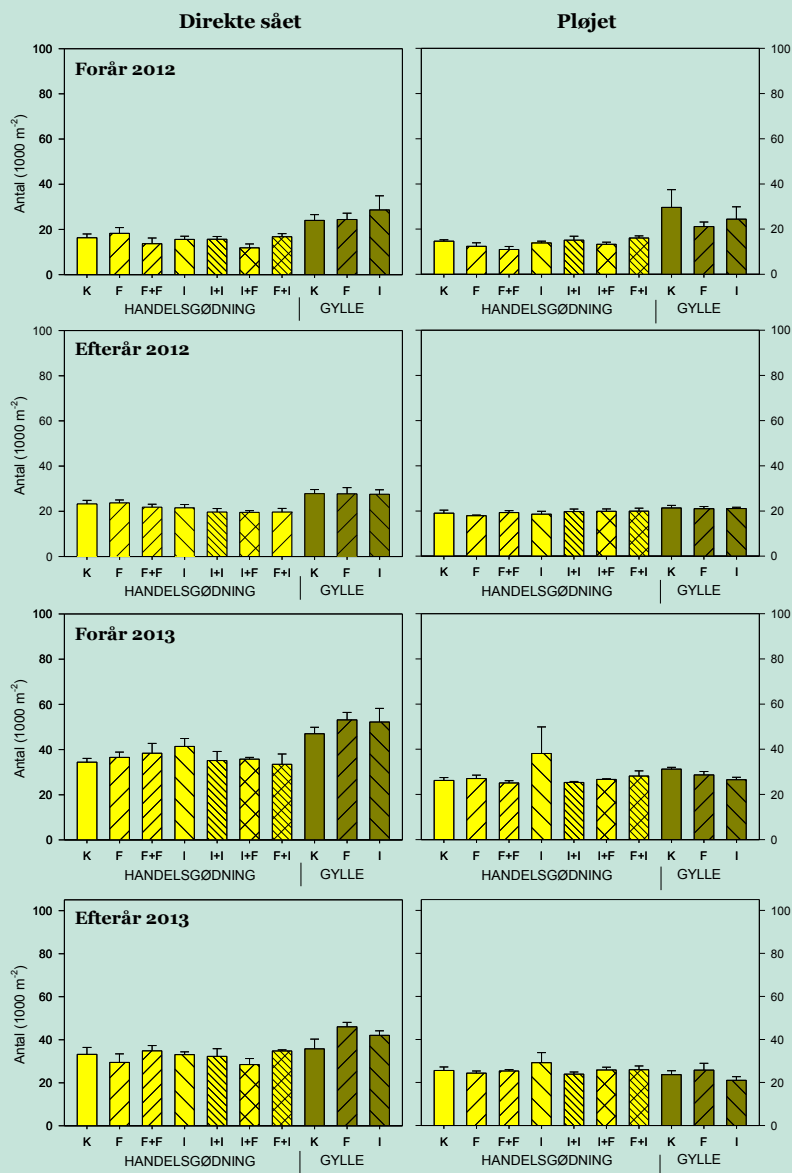
Effekt	Mikrolededyr	Springhaler	Mider	Actinedida	Mesophorura sp.	Gamasida	<i>P. notabilis</i>	<i>I. anglicana</i>	Oribatida	Pygmephoridae	<i>L. cyaneus</i>	<i>C. thermophilus</i>	Kuglespringhaler	<i>I. palustris</i>	<i>C. denticulata</i>	Tarsonomidae	<i>F. funetaria</i>	<i>Willemia sp.</i>	<i>M. minimus</i>
Gruppe:				M	S	M	S	S	M	M	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	***	***	***	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***	***	**	***	***	***	***
T	**	*	**	*		*			***		*	**		*			*		
T*D	***	***	***	***	**	*	**	***	*		**	***	***	*			**		*
P	*		***	***			**	***	***		*	***	**			*			
P*D	*		*	*			**				**								
T*P	**		**	*			**	*	***		*								
T*P*D																			
Parvise sammenligninger med kontrollen																			
F																			
F+F			*	**															
F+I	**		***	***				**	***			***				**	*		
I	*		***	***				*	**										
I+F	**		***	***															
I+I	*	*	***	***		**	***	***	***		**	***	*						
Pesticid interaktioner																			
I*F																			
F*I stor																			

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.

3.4.3 Potentiel nitrifikation

Der var generelt lille variation imellem de fire blokke i markforsøget med hensyn til potentiel nitrifikation (Figur 16). De højeste rater blev fundet efter tilførsel af gylle, hvor niveauet ved direkte såning nåede 45-55 $\text{nmol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ i det andet forsøgsår. For behandlinger med mineralsk gødning var niveauet typisk 15-25 $\text{nmol NO}_2^- \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Dette er i kontrast til planteoptagelsen af kvælstof (Tabel 6), som var højest ved tilførsel af handelsgødning.

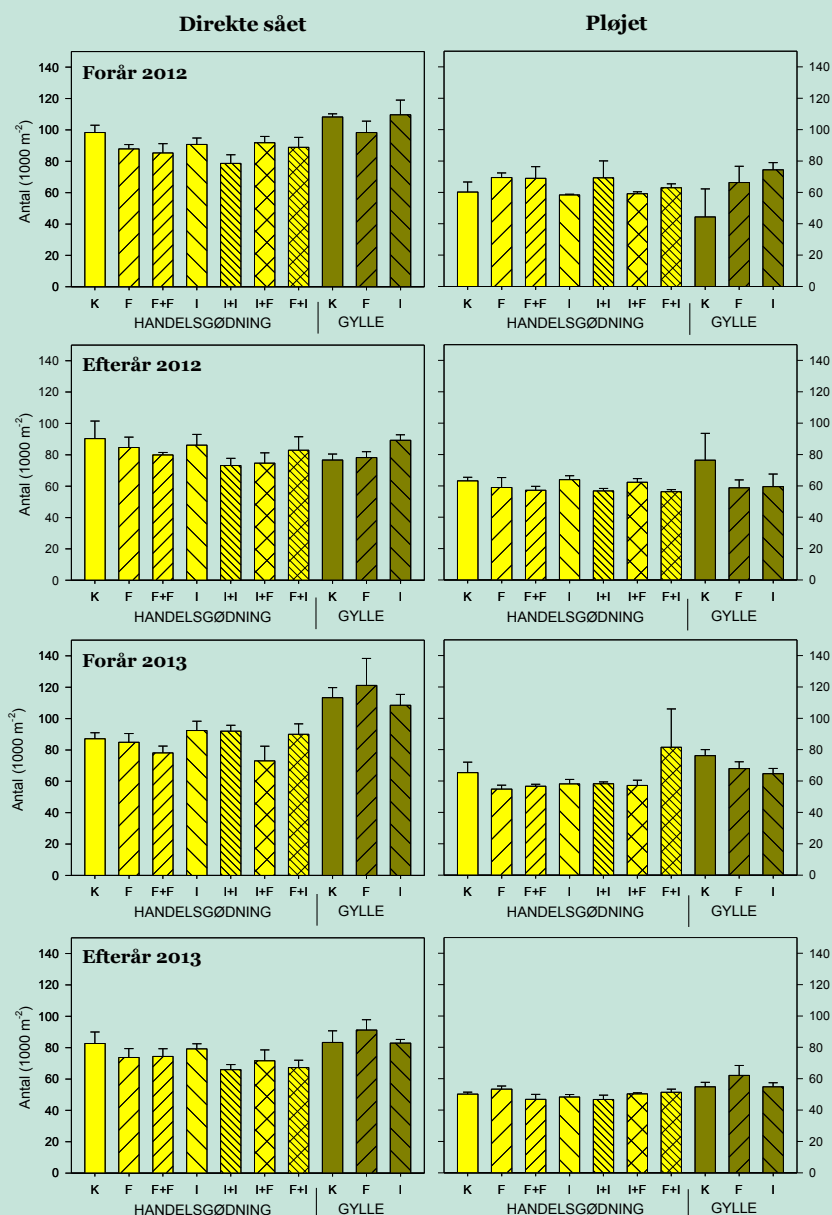
Den statistiske analyse viste ingen signifikante effekter af pesticidbehandling på potentiel nitrifikation (Tabel 11). Derimod var der statistisk signifikante effekter af jordbehandling og gødskning, ligesom der var signifikante effekter af prøvetagningstidspunkt.



FIGUR 16
POTENTIEL NITRIFIKATION ($\text{NMOL NO}_2^- \text{ G}^{-1} \text{ H}^{-1}$) ($N = 4$). BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN ($N = 4$). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

3.4.4 Mikrobiel biomasse, membranlipider (PLFA)

Figur 17 viser koncentrationer af membran-associerede fedtsyrer (PLFA) i jord fra de forskellige forsøgsbehandlinger og prøvetagninger. Koncentrationen af PLFA er et mål for størrelsen af den mikrobielle biomasse. De følgende figurer viser resultater for specifikke fedtsyrer, som kan indeholde information om den mikrobielle biomasses sammensætning eller fysiologiske tilstand. Resultater af statistiske analyser er vist i Tabel 11 og Tabel 12.

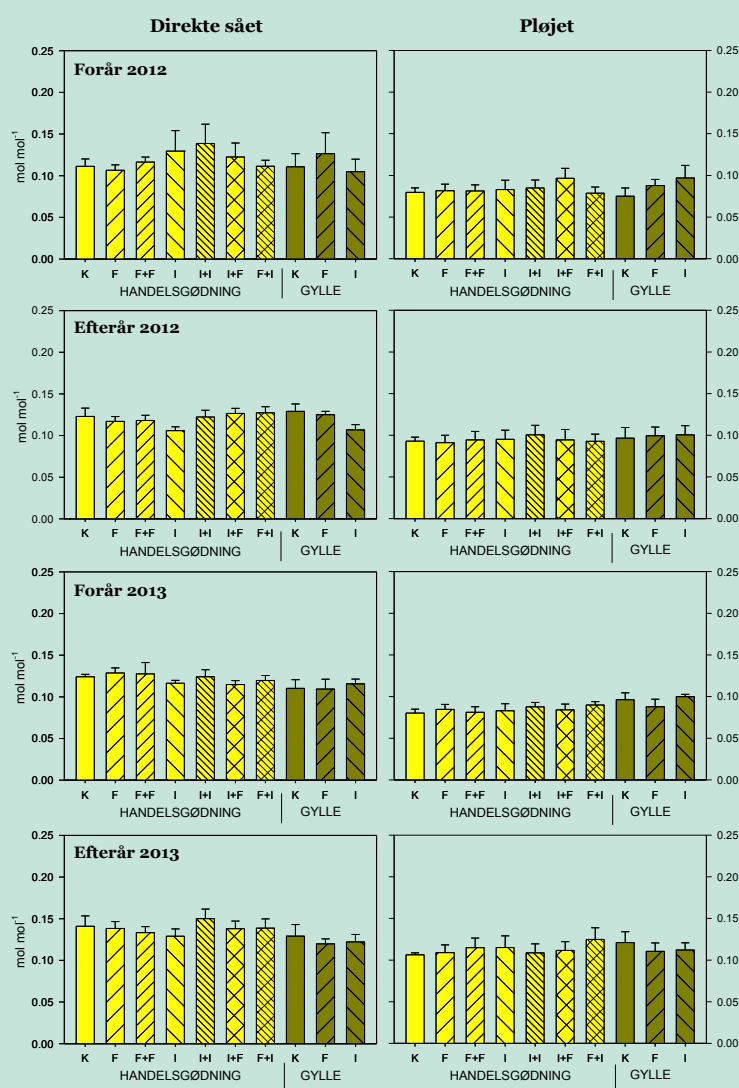


FIGUR 17
STØRRELSEN AF DEN MIKROBIELLE BIOMASSE, MÅLT SOM KONCENTRATIONEN AF MEMBRANLIPIDER (NMOL G⁻¹) (N = 4). BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

Summen af PLFA, der som nævnt er et mål for den mikrobielle biomasse, varierede betydeligt med prøvetagningstidspunkt og jordbearbejdningsmetode, men også med gødningstype. Overordnet var koncentrationen af mikrobiel biomasse højere i juni end i september, og højere ved tilførsel af gylle fremfor

handelsgødning (Figur 17, Tabel 11). Ifølge Model 2, som analyserede effekter af flere pesticidniveauer samt vekselvirkninger mellem pesticider, var der i handelsgødet jord signifikante hovedeffekter af insektid-grundbehandlingen (I) samt behandlingerne I × F og I × I på summen af PLFA, som er en indikator for størrelsen af den mikrobielle biomasse i jorden (Tabel 12). Retningen af disse effekter er dog svær at aflæse i figuren.

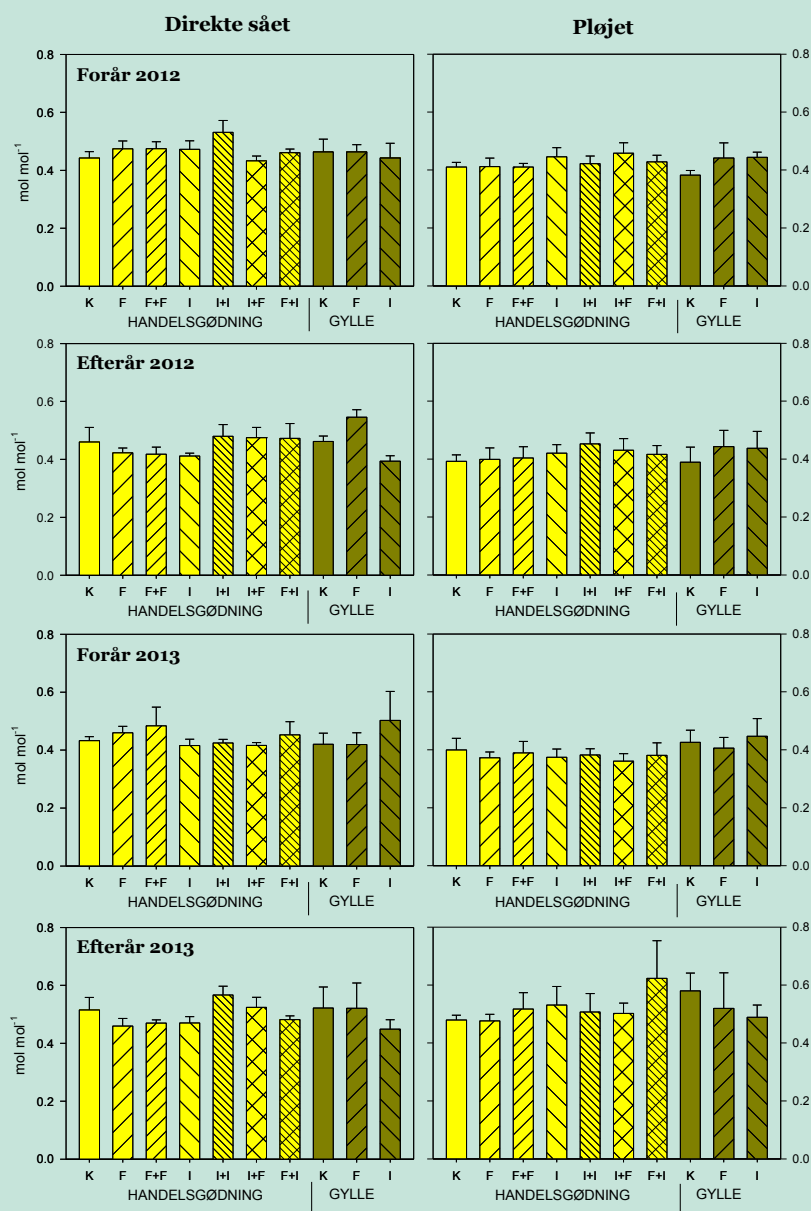
Forholdet mellem svampe og bakterier kan, med visse forbehold (se tekstboks s. 24), belyses ved at se på forholdet mellem udvalgte indikator-fedtsyrer (Figur 49 i Bilag 1). Der var signifikante effekter af prøvetagningstidspunkt og jordbearbejdningsmetode (Tabel 11), og resultaterne indikerede en højere andel af svampe om efteråret i 2012, men ikke i 2013, men der var ingen pesticideffekter på forholdet mellem svampe og bakterier.



FIGUR 18
FORHOLDET MELLEM TRANS- OG CIS-KONFIGURATION AF 16:1 ω 7, SOM ER EN POTENTIEL STRESS-INDIKATOR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

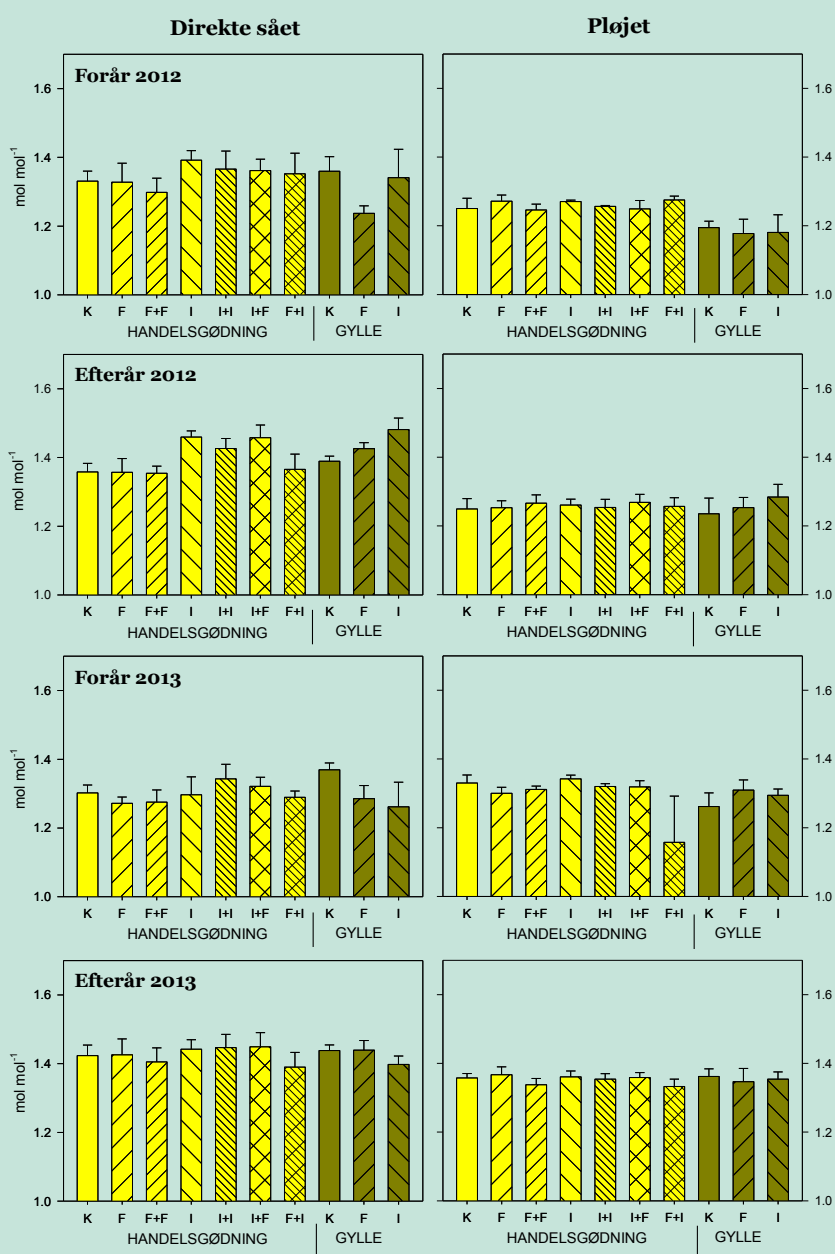
Mange mikroorganismer kan ændre konfigurationen af fedtsyren 16:1 ω 7c til *trans*-konfiguration (16:1 ω 7t), som gør det muligt at pakke cellemembranen tættere. En omlejring til højere andel af 16:1 ω 7t er i renkultur-studier

observeret som respons på toksiske effekter (Heipieper et al., 1992), selvom det også må understreges, at i naturlige miljøer kan ændringer i temperatur eller i artssammensætning også føre til ændringer i denne ratio (Heipieper et al., 2003). Udover effekt af prøvetagningstidspunkt og jordbearbejdning var der for forholdet mellem 16:107t og 16:107c signifikante vekselvirkninger med disse faktorer, dvs. korttidseffekter, som var forskellige i DS-jord og pløjet jord (Figur 18, Tabel 11). Effekterne var små, og ingen pesticidbehandling var isoleret set forskellig fra kontroljorden på tværs af alle prøvetagninger (Tabel 12), men specielt efter direkte såning i 2012 var der en tendens til højere 16:107t/c-ratioer efter tilførsel af insekticider.



FIGUR 19
FORHOLDET MELLEM CY17:0 OG 16:107C. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

Fortrinsvis Gram-negative kan syntetisere cykliske fedtsyrer ved modifikation af en dobbeltbinding i hhv. 16:1 ω 7 og 18:1 ω 7. Det er en stabiliserende faktor, der typisk er forbundet med perioder uden vækst, dvs. stationære faser (Guckert et al., 1986). En stigning i forholdet mellem cy17:0, hhv. cy19:0, og deres respektive *precursors* kan derfor være tegn på dårlige vækstbetingelser, herunder miljømæssig stress. Der var overordnet set mindre, men dog signifikante effekter af pesticidbehandling i form af vekselvirkninger med tidspunkt og jordbearbejdning for både cy17:0/16:1 ω 7 (Figur 19) og cy19:0/18:1 ω 7 (Figur 50 i Bilag 1), som det fremgår af Tabel 11. Det højeste niveau af insekticid (I×I) var, også på tværs af prøvetagninger, signifikant højere end i kontroljorden (Tabel 12).



FIGUR 20

FORHØDET MELLEM ISO- OG ANTEISO-KONFIGURATION AF 15:0. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4). FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

Forgrenede fedtsyrer forekommer især blandt Gram positive bakterier (Kaneda, 1991). I modsætning til øvrige PLFA-resultater var der ikke for *iso15:0/anteiso15:0* (Figur 20) eller *iso17:0/anteiso17:0* (Figur 51 i Bilag 1) en isoleret effekt af jordbearbejdning, men også her signifikante vekselvirkning mellem tid, jordbearbejdning og pesticidbehandling (Tabel 11). Pesticideffekter vedrørte især forekomsten af disse forgrenede membranlipider, som viste stigende andel af iso-fedtsyrer med insekticidbehandling. Ud fra en visuel bedømmelse forekommer de mest markante effekter i DS-jord med tilførsel af handelsgødning (Figur 20). Hvorvidt årsagen var ændringer i artssammensætning, eller en tilpasning af cellemembranen som respons på en toksisk effekt, vides ikke.

TABEL 11
EFFEKTER PÅ MIKROBIELLE PARAMETRE AF ALLE FAKTORER EFTER MODEL 1, SAMT DERES INTERAKTIONER. D: TIDSPUNKT;
FRT: GØDSKNING; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING.

Effekt	Pot. nitrifikation	Sum, PLFA	Fungal/bact. PLFA	16:1 ω 7/c	cy17:0 / 16:1 ω 7c	cy19:0 / 18:1 ω 7c	i15:0 / a15:0	i17:0 / a17:0	Branched-chain
D	***	***	***	***	***	***	***	**	***
T	**	**	*	**		*			**
T*D	***	**	***						**
FRT	***	*							**
FRT*D	*	*							*
T*FRT	**								
T*FRT*D	**								
P									
P*D				*					
T*P				**	*	*	**	*	
T*P*D				*	*	*	*	**	
FRT*P									
FRT*P*D									
T*FRT*P									
År 1 vs. År 2	***			***	**	*	***	**	***
Forår vs. efterår		***	***	**					**
År 1 vs. År 2 sæsoneffekt	***		**	**	***	***		**	

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.

TABEL 12

EFFEKTER PÅ MIKROBIELLE PARAMETRE AF PESTICIDER I HANDELSGØDEDE PARCELLER EFTER MODEL 2, SAMT DERES INTERAKTIONER. D: TIDSPUNKT; FRT: GØDSKNING (FRT); P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING.

Effekt	Pot. nitrifikation	Sum, PLFA	Fungal/bact. PLFA	16:1ω7/c	cy17:0 / 16:1ω7c	cy19:0 / 18:1ω7c	i15:0 / a15:0	i17:0 / a17:0	Branched-chain	LOI
D	***	***	***	***	***	***	***	**	**	
T	*	**		**		*			**	**
T*D	***		***	*	*					
P						*			*	***
P*D							**			
T*P							*			***
T*P*D		*					**			
F vs K										*
F+F										
F+I										
I		*						*	**	
I+F		*							*	
I+I		*				*			*	***
I*F								*		
F*I stor	*									

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.

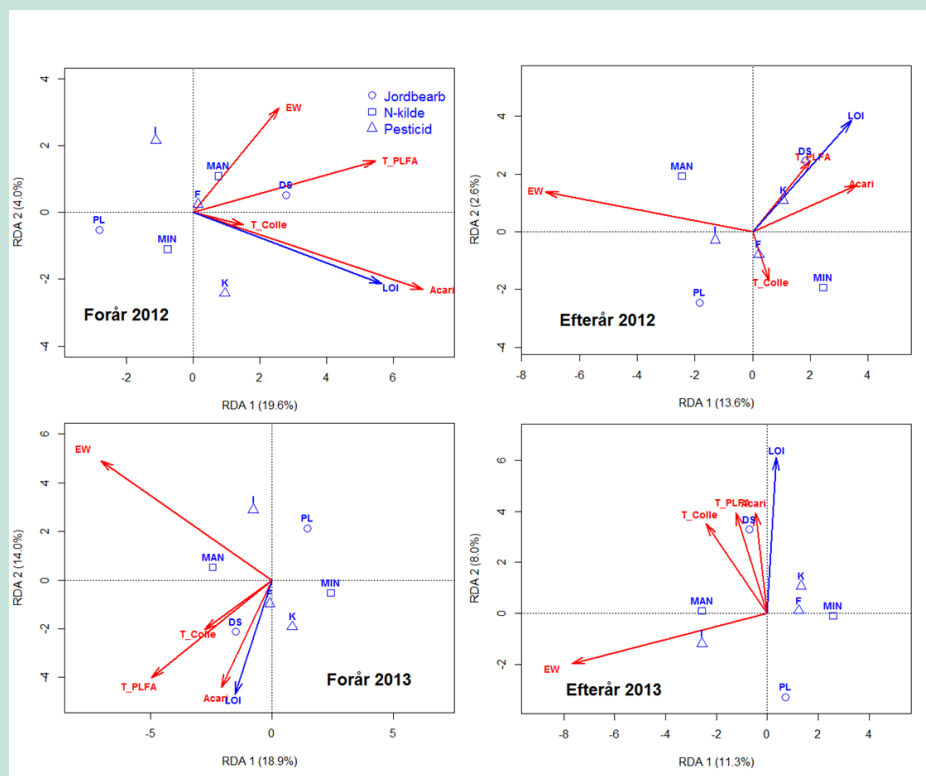
3.5 Multivariat analyse af effekter af dyrkningsfaktorer

Afsnit 3.4 beskrev med multipel lineær regression effekter af dyrkningsfaktorer på individuelle responsvariable. Behandlingseffekterne blev eksemplificeret med stolpediagrammer i de foregående afsnit, mens Tabel 7-12 opsummerede statistisk signifikante effekter. Det kan dog være vanskeligt på baggrund af en sådan sideordnet præsentation af effekter på individuelle responsvariable at vurdere den relative betydning af dyrkningsfaktorerne, og at vurdere den relative betydning af dyrkningsfaktorerne for forskellige responsvariable. Derfor blev de statistiske analyser på baggrund af Model 1 og 2 suppleret med multivariate analyser, der kan præsentere dyrkningsfaktorer og responsvariable sammen i et flerdimensionelt rum. Vi valgte at benytte redundansanalyse (RDA), som er nært beslægtet med multipel lineær regression (Legendre & Legendre, 1998).

Herunder præsenteres separate analyser for hovedgrupper og undergrupper af de biologiske indikatorer, og separate analyser for hvert prøvetagningstidspunkt. Beskrivelsen af resultater fokuserer på effekter, som var signifikante i regressionsanalyserne af de individuelle responsvariable. Den andel af den samlede variation, som kunne forklares af de to akser i figurerne, varierede mellem 6,2 og 29,9% for den primære akse, og mellem 2,6 og 14% for den sekundære akse. Legendre et al. (2011) anbefalede, at der blev fastsat en afskæringsværdi på 1% eller evt. 5% for videre fortolkning. I lyset af den store variation med hensyn til årstid, dyrkningsforhold og biologisk diversitet, som analyserne repræsenterede, vurderes det at forklaringsgraden i de viste analyser var tilfredsstillende.

3.5.1 Regnorme, springhaler, mider og mikrobiel biomasse

Som tidligere beskrevet var der en signifikant hovedeffekt af gødningstype på det totale antal regnorme (Tabel 7). Den effekt blev genfundet i en RDA med de fire hovedgrupper af jordlevende organismer, hvor der for alle fire prøvetagninger var en positiv sammenhæng mellem antal regnorme og tildelingen af gylle (Figur 21). Der var også ved alle prøvetagninger en sammenhæng mellem antal mider og LOI, og mellem mikrobiel biomasse og DS. LOI og DS var som forventet indbyrdes korrelerede (jfr. Tabel 1). Med hensyn til antal springhaler var effekten mindre entydig, idet relationen til DS og LOI i efteråret 2012 var svag og negativ, mens relationen ved de øvrige prøvetagninger var positiv. Der var overordnet set en negativ sammenhæng mellem insekticidbehandling og antallet af springhaler og, specielt, mider.



FIGUR 21

REDUNDANSANALYSE FOR ANTAL REGNORME (EW), SPRINGHALER (T_COLLE) OG MIDER (ACARI) SAMT MIKROBIEL BIOMASSE (T_PLFA). FORKLARENDE VARIABLE ER ANGIVET MED BLÅ, OG RESPONSVARIABLE MED RØD FARVE. KONTINUERTE VARIABLE ER MARKERET MED EN VEKTOR, OG SYSTEMATISKE VARIABLE MED ET SYMBOL. VINKLER MELLE FORKLARENDE VARIABLE OG RESPONSVARIABLE ER ET UDTRYK FOR KORRELATIONEN.

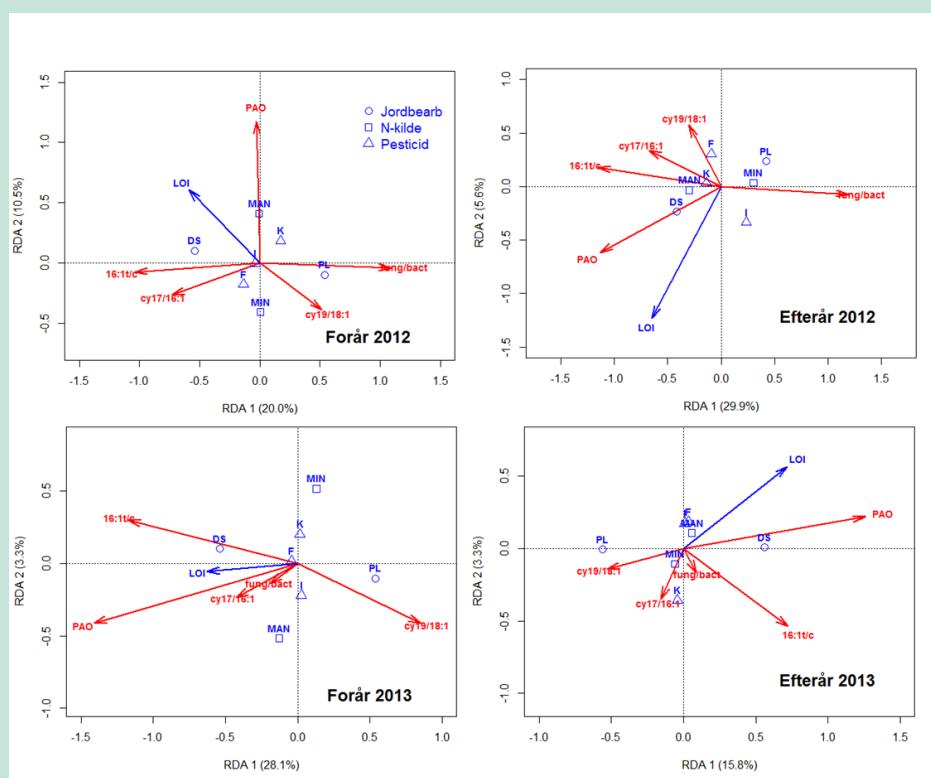
KODE TIL FORKLARENDE VARIABLE: **DS**, DIREKTE SÅNING; **PL**, PLØJET; **MIN**, HANDELSGØDNING; **MAN**, GYLLE; **K**, KONTROL; **F**, FUNGICID; **I**, INSEKTICID. FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

KODE TIL RESPONSVARIABLE: **EW**, REGNORM; **T_PLFA**, KONCENTRATION AF PLFA (MIKROBIEL BIOMASSE); **T_COLLE**, ANTAL SPRINGHALER; **ACARI**, ANTAL MIDER.

3.5.2 Mikrobiel biomasse, sammensætning

Denne RDA vurderede udvalgte indikatorer for den mikrobielle biomasses sammensætning (potentiel nitrifikation, forholdet mellem svampe og bakterier) og fysiologiske tilstand (forskellige stress-markører blandt membranlipiderne). Der var generelt en positiv sammenhæng mellem potentiel nitrifikation og LOI (og dermed DS), som afspejler at kvælstofomsætningen er knyttet til organisk stof i jorden (Figur 22). Tilsvarende blev potentiel nitrifikation stimuleret mest ved tildeling af gylle, og mest ved den første prøvetagning, få uger efter slutgødsningen.

Selvom organisk stof i jorden typisk stimulerer mikrobiel vækst og aktivitet, så var der i denne analyse i mange tilfælde en positiv sammenhæng mellem de mikrobielle stress-indikatorer og DS. Som beskrevet ovenfor, kunne det skyldes koncentrationen af mikrobiel biomasse tæt ved jordoverfladen og dermed en større grad af eksponering for pesticider i DS-jord. Er det tilfældet, kan pesticideffekter derfor være blevet skjult på grund af collinearitet med organisk stof.



FIGUR 22

REDUNDANSANALYSE FOR MIKROBIELLE INDIKATORER FOR POPULATIONER OG FYSIOLOGISK TILSTAND. FORKLARENDE VARIABLE ER ANGIVET MED BLÅ, OG RESPONSVARIABLE MED RØD FARVE. KONTINUERTE VARIABLE ER MARKERET MED EN VEKTOR, OG SYSTEMATISKE VARIABLE MED ET SYMBOL. VINKLER MELLEM FORKLARENDE VARIABLE OG RESPONSVARIABLE ER ET UDTRYK FOR KORRELATIONEN.

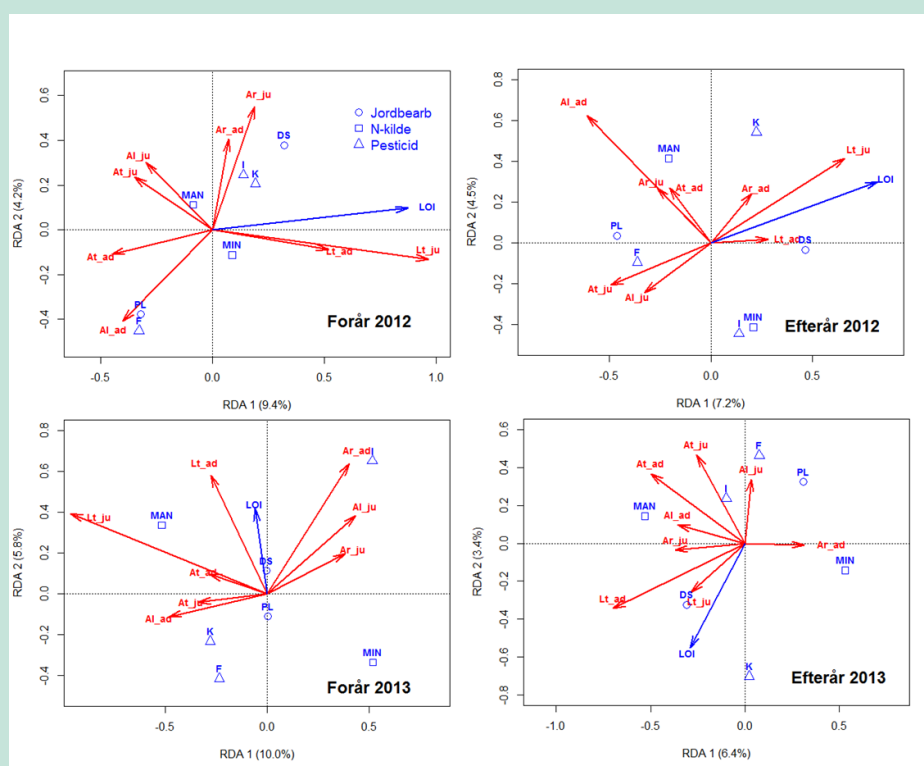
KODE TIL FORKLARENDE VARIABLE: DS, DIREKTE SÅNING; PL, PLØJET; MIN, HANDELSGØDNING; MAN, GYLLE; K, KONTROL; F, FUNGICID; I, INSEKTICID. FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN. KODE TIL RESPONSVARIABLE: PAO, POTENTIEL NITRIFIKATION; FUNG/BACT, FORHOLD MELLEM SVAMPE OG BAKTERIER; 16:1t/c, TRANS-CIS FORHOLD FOR 16:1 (HEXADECENSYRE); CY17/16:1, FORHOLD ML. CY17:0 OG DENS PRECURSOR, 16:1; CY19/18:1, FORHOLD ML. CY19:0 OG DENS PRECURSOR, 18:1.

Forholdet mellem svampe og bakterier viste modsatrettede effekter i 2012 (størst i pløjet jord) og 2013 (størst i DS jord). Der er ingen umiddelbar forklaring på dette. Det bør understreges, at indikator-fedtsyrerne ikke er entydige markører, men også varierer med artssammensætning og fysiologisk tilstand, herunder

jordtemperaturen (Petersen & Klug, 1994). Der var dog ingen større forskel på jordtemperaturen i juni og september (Figur 5)

3.5.3 Regnorme, adulte og juvenile

En RDA for alle regnormearter (adulte, juvenile) viste, overordnet set, en positiv sammenhæng mellem forekomsten af *L. terrestris* og organisk stof (LOI), svarende til større populationer i DS-jord, og dermed lavere populationer i pløjet jord (Figur 23). Tilsvarende var der en positiv sammenhæng mellem forekomsten af *A. longa* og tildelingen af gylle. Sammenhængen mellem *A. tuberculata* og pesticidanvendelsen var kompleks; der var registreret en signifikant hovedeffekt (Tabel 7), men den var ikke entydigt relateret til hverken fungicid eller insekticid på tværs af de fire prøvetagninger. Endelig var der tilsyneladende en negativ sammenhæng mellem forekomsten af *A. rosea* og behandling med fungicid. I modsætning til større ormearter lever *A. rosea* primært i overjorden (Lavelle, 1998), hvad der måske forklarer den mulige effekt af fungicidet.



FIGUR 23

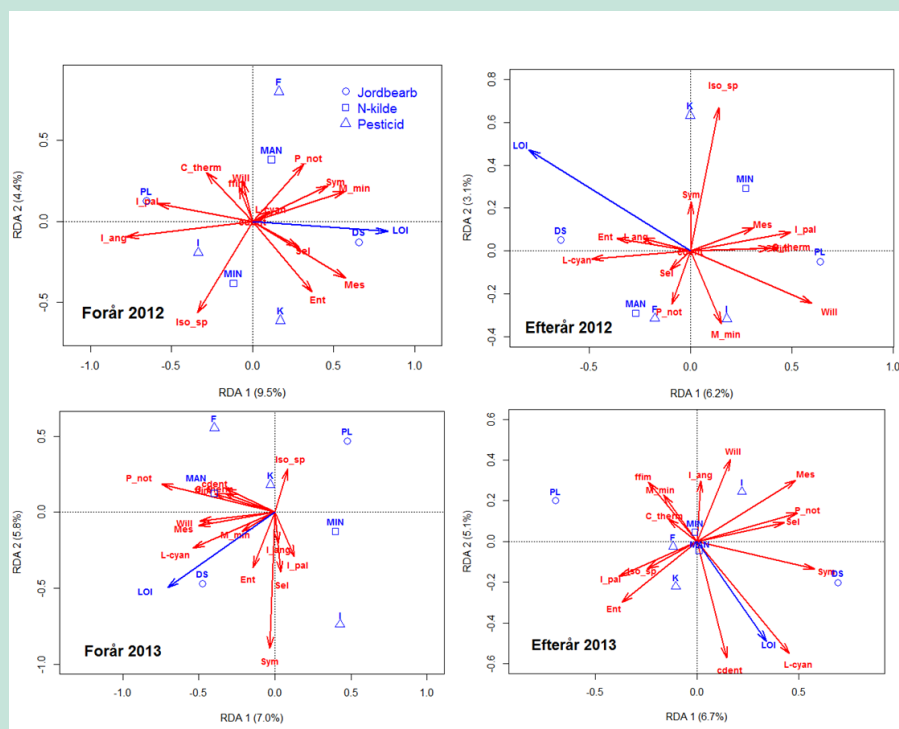
REDUNDANSANALYSE FOR ALLE REGNORMEARTER (ADULTE, AD) OG JUVENILE, JU). FORKLARENDE VARIABLE ER ANGIVET MED BLÅ, OG RESPONSVARIABLE MED RØD FARVE. KONTINUERTE VARIABLE ER MARKERET MED EN VEKTOR, OG SYSTEMATISKE VARIABLE MED ET SYMBOL. VINKLER MELLEM FORKLARENDE VARIABLE OG RESPONSVARIABLE ER ET UDTRYK FOR KORRELATIONEN.

KODE TIL FORKLARENDE VARIABLE: DS, DIREKTE SÅNING; PL, PLØJET; MIN, HANDELSGØDNING; MAN, GYLLE; K, KONTROL; F, FUNGICID; I, INSEKTICID. FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.
KODE TIL REPNOSVARIABLE: LT, *L. TERRESTRIS*; AL, *A. LONGA*; AT, *A. TUBERCULATA*; AR, *A. ROSEA*.

3.5.4 Springhaler

Der var meget stor variation i størrelsen af springhale-populationer imellem prøvetagningerne (Tabel 9 og figurer i sektion 3.4.2), som gør det vanskeligt at fortolke effekterne. Populationer af *F. fimetaria*, *Isotomurus* sp. og *I. palustris* var tilsyneladende mere talrig i plojet jord end i DS-jord, og tilsyneladende blev *F. fimetaria* stimuleret af gylletildeling ved prøvetagningen i juni i begge forsøgsår (Figur 24). Der var generelt en større forekomst af *L. cyaneus* i DS-jord, ligesom der var en positiv sammenhæng med LOI/DS for Entomobryidae og *Symphyleona* sp.

Pesticideffekter på springhaler blev kun observeret ved de stærkt forhøjede pesticidniveauer, som ikke var omfatte at denne analyse.



FIGUR 24

REDUNDANSANALYSE FOR ANTAL SPRINGHALER. FORKLARENDE VARIABLE ER ANGIVET MED BLÅ, OG RESPONSVARIABLE MED RØD FÆRVE. KONTINUERTE VARIABLE ER MARKERET MED EN VEKTOR, OG SYSTEMATISKE VARIABLE MED ET SYMBOL. VINKLER MELLE FORKLARENDE VARIABLE OG RESPONSVARIABLE ER ET UDTRYK FOR KORRELATIONEN.

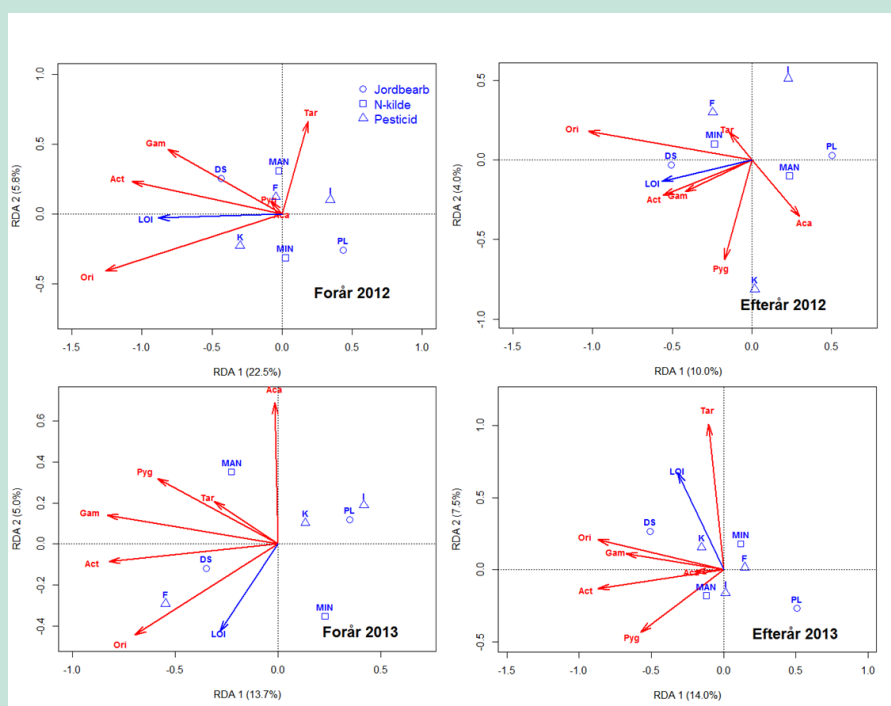
KODE TIL FORKLARENDE VARIABLE: DS, DIREKTE SÅNING; PL, PLØJET; LOI, ORGANISK STOF (LOSS-ON-IGNITION); MIN, HANDELSGØDNING; MAN, GYLLE; K, KONTROL; F, FUNGICID; I, INSEKTICID. FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

KODE TIL RESPONSVARIABLE: C_THERM, *CRYPTOPYGUS THERMOPHILUS*; I_ANG, *ISOTOMA ANGLICANA*; I_PAL, *ISOTOMURUS PALUSTRIS*; ISO_SP, *ISOTOMURUS* SP.; L-CYAN, *LEPIDOCYRTUS CYANEUS*; SEL, *SMINTHURINUS ELEGANS*; SYM, *SYMPHYPLEONA*; MES, *MESAPHORURA* SP.; P_NOT, *PARISOTOMA NOTABILIS*; ENT, ENTOMOBRYIDAE; M_MIN, *MEGALOTHORAX MINIMUS*; WILL, *WILLEMA* SP.; CDENT, *CERATOPHYSSELLA DENTICULATA*; OG FFIM, *F. FIMETARIA*.

3.5.5 Mider

For de fleste kategorier af mider var der en positiv relation til LOI (Figur 25), som viser at populationerne var størst i jorden med direkte såning (DS). Det kunne skyldes en højere koncentration af fødeemner i 0-5 cm dybde i DS-jord, hvor der sker en koncentration af organisk stof (Kay & VandenBygaart, 2002).

Actinedida tilhører ordenen *Prostigmata*, for hvilken der blev fundet en signifikant hovedeffekt af pesticidbehandling. Figur 25 viser for de tre første prøvetagninger en klar negativ sammenhæng med insekticid-grundbehandlingen ($5 \times$ normal dosis).



FIGUR 25

REDUNDANSANALYSE FOR ANTAL AF FORSKELLIGE UNDERGRUPPER AF MIDER. FORKLARENDE VARIABLE ER ANGIVET MED BLÅ, OG RESPONSVARIABLE MED RØD FARVE. KONTINUERTE VARIABLE ER MARKERET MED EN VEKTOR, OG SYSTEMATISKE VARIABLE MED ET SYMBOL. VINKLER MELLEM FORKLARENDE VARIABLE OG RESPONSVARIABLE ER ET UDTRYK FOR KORRELATIONEN.

KODE TIL FORKLARENDE VARIABLE: **DS**, DIREKTE SÅNING; **PL**, PLØJET; **LOI**, ORGANISK STOF (LOSS-ON-IGNITION); **MIN**, HANDELSGØDNING; **MAN**, GYLLE; **K**, KONTROL; **F**, FUNGICID; **I**, INSEKTICID. FUNGICIDET VAR TRIDEX MED AKTIVSTOFFET MANCOZEB, OG INSEKTICIDET VAR FASTAC MED AKTIVSTOFFET ALPHA-CYPERMETHRIN.

KODE TIL RESPONSVARIABLE: **ORI**, ORIBATIDA; **ACT**, ACTINEDIDA; **GAM**, GAMASIDA; **PYG**, PYGMEPHORIDAE; **TAR**, TARSONEMIDAE; OG **ACA**, ACARIDIDA.

3.6 Trofisk struktur belyst med stabile isotoper

I Figur 26 er de isotopiske nicher vist for jordbundsinvvertebraterne samt deres fødegrundlag stammende fra primærproducenterne (afgrøden) og andre kilder til organisk stof i systemet. En isotopisk niche defineres som et område i det bivariate δ -plan med $\delta^{15}\text{N}$ og $\delta^{13}\text{C}$ isotopsignatur-værdierne som koordinater (Newsome al. 2007; Korobushkin et al. 2014). Regnorme og springhaler danner langstrakte grupper (Figur 26), da de omfatter både jordædende former og mere herbivore eller førnædende former der fordeler sig langs akserne. Herbivori og førnædere (Eng. *litter feeder*) giver lavere værdier for både $\delta^{15}\text{N}$ og $\delta^{13}\text{C}$, som det ses for aneciske regnorme, mens detritivori giver højere værdier, især for $\delta^{15}\text{N}$, som det ses for endogæiske regnorme, og de vil derfor kunne identificeres som hørende til separate isotopiske nicher.

Forskellene i δ -signaturen mellem to organismer fra forskellige trofiske niveauer, hvor den ene konsumerer det andet, lavere trofiske niveau, angives med Δ og benævnes *trophic shift* - eller blot fraktionering. Således er $\delta_{\text{konsumant}} - \delta_{\text{føde}} = \Delta$, og størrelsen af Δ har tidligere som tommelfingerregel ofte været sat til ca. 3‰ for $\Delta^{15}\text{N}$ og ca. 1‰ for $\Delta^{13}\text{C}$. Disse nøgletal kan dog variere meget, afhængigt af hvilket system der studeres, og har f.eks. vist sig at være højere for $\Delta^{13}\text{C}$ og lavere for $\Delta^{15}\text{N}$ (Potapov et al. 2013).

3.6.1 Effekter på plante signaturer

De to typer gødninger gav markant forskellige bidrag til $\delta^{15}\text{N}$ isotop-signaturen. Således var handelsgødningens $\delta^{15}\text{N}$ på 1,0 [0,9-1,1] ‰ og gyllens på 8,5 [8,9-8,9] ‰. Så ikke overraskende var hvedebladens $\delta^{15}\text{N}$ signatur i hver af de to gødningsbehandlinger på hhv. 0,54 [-0,2-1,3] ‰ og 5,68 [4,7-6,6] ‰ (Tabel 23, se Bilag 1). Planternes $\delta^{15}\text{N}$ signatur var også afhængig af jordbehandling, tidspunkt (sæson og år) og plantedel, så disse er præsenteret i Tabel 24 (Bilag 1). Plantemateriale under nedbrydning (førne), primært fra afgrøden, var signifikant 2‰ lavere med tilførsel af handelsgødning end med tilførsel af med gylle (Tabel 14). Det er denne plantefraktion, som oftest anses for at være grundlag for jordbundsdyrenes fødekæde.

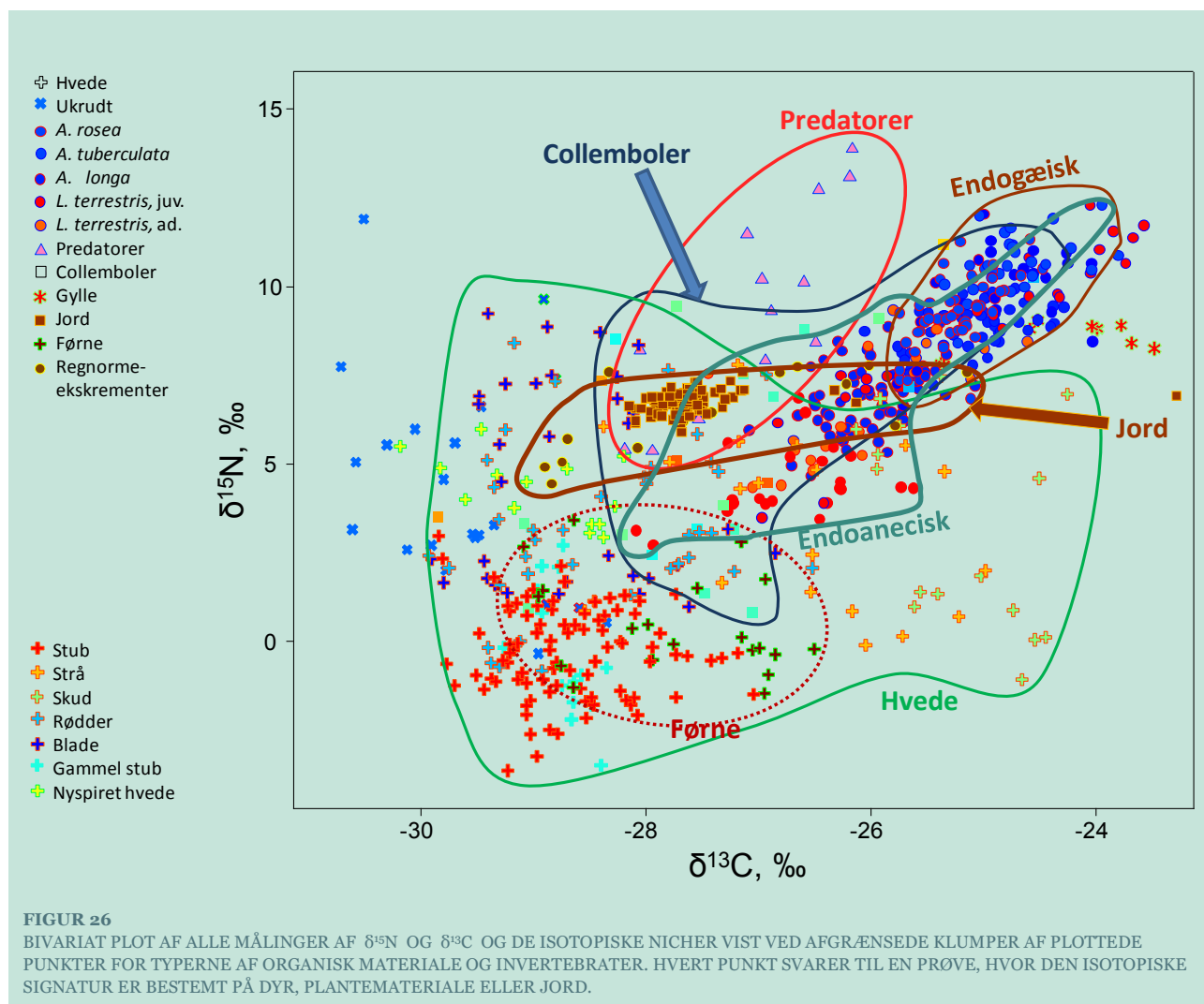
Isotoper blev bestemt i hvedestrå, - skud, - blade, - rødder og - stubbe. Disses $\delta^{15}\text{N}$ var ikke påvirkede af jordbehandlingsmetode og pesticidbehandling (Tabel 23). Ligeledes var der ingen effekt af dyrkningsfaktorerne på signaturen i jordens humus med undtagelse af en smule lavere $\delta^{15}\text{N}$ på 6,6 [6,5-6,8] ‰ i handelsgødede parceller sammenlignet med 7,0 [6,8-7,1] i gylleparceller ved direkte såning ($P < 1\%$) (signifikant T*FRT, Tabel 13) i overensstemmelse med gødningstypernes markant forskellige signaturer. Det kan derfor forventes, at isotop-signaturen af organismer, som lever af jordens organiske stof, ikke vil afhænge af gødningsformen.

3.6.2 Springhaler (collemboler)

Springhaler grupperedes i to trofiske niveauer, hvor *Isotoma sp.* og *Lepidocyrtus sp.*, vurderet ud fra $\Delta^{13}\text{C}$ på 2,2 [1,2-3,2] ‰ lå omtrent et trofisk niveau under *F. fimetaria*, som dermed kan betragtes som værende mere detritivori, idet den også falder sammen med de endogæiske regnorme. Collembolernes $\delta^{15}\text{N}$ var stærk afhængig af om de fandtes med handelsgødning eller med gylle (Tabel 15). Således var $\delta^{15}\text{N}$ i *Isotoma sp.* 6‰ højere med gylle end handelsgødning. Dens fødegrundlag var således direkte afhængig af gyllen og evt. hvedeplanterne. Antallet af collemboler var ikke nok til at lave statistiske analyser af effekter af pesticider (Tabel 15).

3.6.3 Effekter på regnorme signaturer

For $\delta^{15}\text{N}$ kunne vi overordnet se artsspecifikke effekter på regnorme af pesticider og sæson, men ikke af jordbearbejdningsmetoden (se Tabel 13). For $\delta^{13}\text{C}$ var der effekter af gødningsbehandling og jordbearbejdning, således at denne værdi var ca. 1‰ højere med gylle sammenlignet med handelsgødning, og 0,3‰ højere med direkte såning sammenlignet med pløjet jord (Tabel 16). Kulstofkilden i regnormeføden var altså signifikant forskellig for de to gødningstyper og i de to jordbehandlingssystemer. Hos begge regnorme-livsformer, aneciske (*A. longa* og *L. terrestris*) og endogæiske (*A. tuberculata* og *A. rosea*), ændrede føden sig med pløjning til en mere "anecisk" føde i handelsgødede parceller, hvilket ses ved at $\delta^{15}\text{N}$ faldt med ca. 1‰ sammenholdt med direkte såning (Tabel 16).



Regnormenes $\delta^{15}\text{N}$ adskilte tydeligt, som det altid ses, aneciske og endogæiske livsformer, som var væsentligst påvirkede af gødningstypen. Således var den aneciske $\delta^{15}\text{N}$ på 8,7 [8,4-9,0]‰ og 6,2 [5,9-6,4]‰ i hhv. gyllebehandlede og handelsgødede parceller (se Tabel 16) for signaturer på artsniveau og på tværs af arter og dyrkningsfaktorerne). Som det generelt observeres for disse livsformer var de endogæiske ormes $\delta^{15}\text{N}$ signifikant højere i hhv. gyllebehandlede og handelsgødede parceller med 10,5 [10,1-10,9] ‰ og 9,3 [9,0-9,6] ‰, dvs. 2-3‰ højere, svarende til et trofisk niveau. Effekterne af jordbehandling kunne ikke påvirke fødebiologien, som udtrykkes kvantitativt i $\delta^{15}\text{N}$ (se Tabel 16). Juvenile individer af *L. terrestris* og *A. longa* var lidt mere endogæiske med hensyn til trofisk position, idet deres $\delta^{15}\text{N}$ var 1‰ højere end de adulte individers $\delta^{15}\text{N}$. I Figur 26 er de derfor afgrænset i en gruppe benævnt "endoanecisk", en term der også anvendes til beskrivelse af *A. longa*'s placering som en livsform mellem anecisk og endogæisk (Felten & Emmerling, 2009).

På enkeltartsniveau var *A. longa* dog påvirket af insekticidet (Tabel 17) ved den høje dosis, som øgede $\delta^{15}\text{N}$ med 1,1‰ fra 7,7 [7,5-7,9]‰ til 8,8 [8,2-9,5]‰ (Tabel 17). Denne art, som typisk ville hente organisk stof ved jordoverfladen, kan være blevet tvunget til at æde mere nede i jorden på grund af kontaminering med insekticid på jordoverfladen. Endvidere var pesticideffekten afhængig af jordbearbejdningen (Tabel 13), idet øgningen i $\delta^{15}\text{N}$ var mest markant og statistisk detekterbar i direkte såning.

For $\delta^{15}\text{N}$ i *L. terrestris* (Stor regnorm) kunne vi i gylleparceller se en ændring hen over sæsonen, idet $\delta^{15}\text{N}$ faldt i efteråret fra gennemsnitligt 9‰ i juni til 7‰ i september, hvilket må tolkes som at gyllen blev en mindre del af

føden i efteråret. En lignende dynamik var ikke til stede i de handelsgødede parceller, dvs. deres fødegrundlag tilsyneladende ikke forandrede sig over sæsonen.

Regnormeekskrementerne havde en signifikant 0.8 ‰ lavere $\delta^{15}\text{N}$ sammenlignet med jord med handelsgødning. Eftersom førne i handelsgødet parcel havde en signatur på 0 ‰, dvs. markant lavere end i jorden med 7‰, kan dette forklares med at ormene selekterer førne som en del af jorden de konsumerer. Hvis vi antager at humus går ufordøjet gennem tarmen, må ormene have spist jord med førne, dvs. plantedele under nedbrydning, med en masse som modsvarer fortyndingen af $\delta^{15}\text{N}$. Man kan således med en simpel formel (*mixing model*) beregne andelen af førne i føden, jvf. Fry (2006):

$$\text{Andel af førne i føden} = \frac{\delta_{\text{ekskrement}} - \delta_{\text{jord}}}{\delta_{\text{førne}} - \delta_{\text{jord}}}$$

De estimerede $\delta^{15}\text{N}$ signaturer anslår andelen af førne i ekskrementerne til 12% og resten er rå jord fra topjorden.

TABEL 13

EFFEKTER AF DE EKSPERIMENTELLE FAKTORER SAMT DERES INTERAKTIONER PÅ ISOTOP SIGNATURERNE $\delta^{15}\text{N}$ OG $\delta^{13}\text{C}$. D: TIDSPUNKT; FRT: GØDSKNING; P: PESTICID; T: JORDBEARBEJDNING; TAXA: ARTSFAKTOREN ELLER PLANTEDELE. I GRÅFARVEDE FELTER ER FAKTORERNE IKKE DEFINERET ELLER VAR IKKE ESTIMERBARE PGA. FOR FÅ DATA.

Faktorer og to-vejs interaktioner	$\delta^{13}\text{C}$ jord	$\delta^{15}\text{N}$ jord	$\delta^{13}\text{C}$ hvede plantedele	$\delta^{15}\text{N}$ hvede plantedele	$\delta^{13}\text{C}$ collembolær	$\delta^{15}\text{N}$ collembolær	$\delta^{13}\text{C}$ førne	$\delta^{15}\text{N}$ førne	$\delta^{13}\text{C}$ regnorme	$\delta^{15}\text{N}$ regnorme	$\delta^{13}\text{C}$ A. tuberculata	$\delta^{15}\text{N}$ A. tuberculata	$\delta^{13}\text{C}$ L. terrestris	$\delta^{15}\text{N}$ L. terrestris	$\delta^{13}\text{C}$ A. longa	$\delta^{15}\text{N}$ A. longa	$\delta^{13}\text{C}$ A. rosea	$\delta^{15}\text{N}$ A. rosea
D	*		***	***					**	***			**		**	**		
T					*		*											
D*T				**														
FRT				***	*	**		*	***	***	**		***	***	***	***	***	**
D*FRT			*	*						**			*	*		*		
T*FRT		*		**						*						**		
P										***		*				**		
D*P																		
T*P												*				**		
FRT*P												*						
TAXA			***	***	**				***	***								
D*TAXA			**						**									
T*TAXA			**															
FRT*TAXA				***					*	**								
P*TAXA										**								

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.

TABEL 14

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{13}\text{C}$ OG $\delta^{15}\text{N}$ I FØRNE I SEPTEMBER ANDET FORSØGSÅR UNDER PÅVIRKNING AF FAKTORERNE GØDSKNING, G: GYLLE OG H: HANDELSGØDNING, OG JORDBEARBEJDNING, DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING.

Jordbe- arbejdning	Gødskning	$\delta^{13}\text{C}$	95% C.L.	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
DS	G	-28,9	[-29,3--28,5]	2,4	[1,1-3,8]
DS	H	-28,3	[-28,6--28]	-0,1	[-1,0-0,8]
PL	G	-27,2	[-27,6--26,8]	1,4	[0,0-2,8]
PL	H	-26,9	[-27,2--26,6]	-0,2	[-1,1-0,7]

TABEL 15

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{15}\text{N}$ OG $\delta^{13}\text{C}$ I COLLEMBOLER UNDER PÅVIRKNING AF FAKTORERNE GØDSKNING, G: GYLLE OG H: HANDELSGØDNING, OG JORDBEARBEJDNING, DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING.

Jordbe- arbejdning	Gøds- kning	Art	$\delta^{13}\text{C}$	95% C.L.	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
DS	G	<i>Isotoma sp.</i>	-26,9	[-27,8 - -26]	6,9	[3,3-10,5]
DS	G	<i>Lepidocyrtus sp.</i>	-25,9	[-26,8 - -25]	9,1	[5,5-12,7]
PL	G	<i>F. fimetaria</i>	-24,5	[-25,5 - -23,6]	10,2	[6,6-13,8]
PL	G	<i>Isotoma sp.</i>	-26,9	[-27,5 - -26,2]	8,2	[5,6-10,7]
PL	G	<i>Lepidocyrtus sp.</i>	-27,7	[-28,6 - -26,8]	9,4	[5,8-13]
PL	G	<i>P. notabilis</i>	-25,3	[-26,3 - -24,4]	11,2	[7,6-14,8]
DS	H	<i>Isotoma sp.</i>	-27,1	[-27,8 - -26,5]	2,0	[-0,6-4,5]
DS	H	<i>Lepidocyrtus sp.</i>	-27,3	[-28,2 - -26,4]	3,8	[0,2-7,4]
PL	H	<i>F. fimetaria</i>	-25,7	[-26,6 - -24,8]	7,2	[3,6-10,8]
PL	H	<i>Isotoma sp.</i>	-27,5	[-28,4 - -26,6]	1,3	[-2,3-4,9]
PL	H	<i>Lepidocyrtus</i>	-28,2	[-29,1 - -27,3]	3,0	[-0,6-6,6]

TABEL 16

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{13}\text{C}$ OG $\delta^{15}\text{N}$ I REGNORMEARTER UNDER PÅVIRKNING AF FAKTORERNE GØDSKNING, G: GYLLE OG H: HANDELSGØDNING, OG JORDBEARBEJDNING, DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING. NEDERST VÆRDIERNE PÅ TVÆRS AF REGNORMEARTERNE.

Jordbe- arbejdning	Gødskning		$\delta^{13}\text{C}$	95% C.L.	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
DS	G	<i>A. tuberculata</i>	-24,6	[-25,0--24,2]	10,5	[9,7-11,3]
DS	H		-25,3	[-25,7--24,9]	9,9	[8,9-10,8]
PL	G		-24,8	[-25,2--24,4]	10,3	[9,4-11,3]
PL	H		-25,6	[-26,1--25,1]	8,3	[7,1-9,4]
DS	G	<i>A. longa</i>	-24,9	[-25,2--24,7]	9,2	[8,7-9,7]
DS	H		-25,7	[-25,9--25,6]	7,6	[7,2-8,0]
PL	G		-25,1	[-25,4--24,9]	9,1	[8,5-9,7]
PL	H		-26,1	[-26,4--25,9]	6,7	[6,2-7,2]
DS	G	<i>A. rosea</i>	-24,4	[-24,7--24,1]	11,4	[10,8-12]
DS	H		-25,0	[-25,2--24,8]	10,1	[9,7-10,6]
PL	G		-24,6	[-24,9--24,3]	11,0	[10,3-11,8]
PL	H		-25,3	[-25,6--25,1]	9,2	[8,6-9,8]
DS	G	<i>L. terrestris</i>	-25,0	[-25,3--24,8]	8,9	[8,3-9,5]
DS	H		-26,4	[-26,6--26,2]	5,7	[5,3-6,2]
PL	G		-25,7	[-26,0--25,3]	8,2	[7,5-9,0]
PL	H		-26,8	[-27,1--26,4]	4,7	[4,0-5,4]
DS+PL	G		-24,9	[-25,0--24,8]	9,8	[9,5-10,2]
	H		-25,8	[-25,9--25,7]	7,8	[7,5-8,1]
DS	G+H		-25,2	[-25,3--25,0]	9,2	[8,9-9,4]
PL			-25,5	[-25,7--25,3]	8,5	[8,1-8,9]
DS	G		-24,7	[-24,9--24,6]	10,0	[9,6-10,4]
DS	H		-25,6	[-25,7--25,5]	8,3	[8,0-8,7]
PL	G		-25,1	[-25,3--24,8]	9,7	[9,2-10,2]
PL	H		-26,0	[-26,2--25,8]	7,2	[6,8-7,7]

TABEL 17

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{15}\text{N}$ FOR *A. LONGA* UNDER PÅVIRKNING AF PESTICIDKOMBINATIONER PÅ TVÆRS AF JORDBEARBEJDNING (DS+PL), OG PESTICIDKOMBINATIONER I VEKSELVIRKNING MED JORDBEARBEJDNING. DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING OG PESTICIDER OG PESTICIDKOMBINATIONER (SE TABEL 5). MIDDELVÆRDIER MED FORSKELLIG INDEX ER SIGNIFIKANT FORSKELLIGE $P < 5\%$ (TUKEY'S TEST).

Jordbe- arbejdning	Pesticid- kombinationer	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
DS+PL	K	7,7 ^a	[7,6-7,9]
	F	7,8 ^a	[7,5-8,1]
	I	8,0	[7,5-8,4]
	F+F	8,3	[7,8-8,7]
	F+I	7,7	[7,2-8,2]
	I+F	8,5	[7,9-9,2]
	I+I	8,9 ^b	[8,2-9,5]
DS	K	8,3	[8-8,5]
	F	8,1	[7,7-8,4]
	I	8,0	[7,3-8,6]
	F+F	8,7	[8-9,3]
	F+I	7,8 ^a	[7,2-8,3]
	I+F	7,9	[7,3-8,6]
	I+I	9,6 ^b	[8,7-10,4]
PL	K	7,2	[7-7,5]
	F	7,6	[7,2-7,9]
	I	7,9	[7,3-8,6]
	F+F	7,9	[7,2-8,5]
	F+I	7,6	[6,7-8,5]
	I+F	9,2	[7,9-10,4]
	I+I	8,2	[7,3-9,1]

3.7 Kolonneforsøg med simulerede nedbørshændelser

3.7.1 Strømningskarakteristika

Udvalgte jordfysiske egenskaber med relevans for jordens strømningskarakteristika blev bestemt, herunder volumenvægt, porøsitet, makroporøsitet ($> 30 \mu\text{m}$) samt luftpermeabilitet ved -100 cm (Tabel 18). Af resultaterne fremgår det, at volumenvægten var højere, og total porøsitet lavere, for DS sammenlignet med PL, dog med undtagelse af blok 3. Samtidig var makroporøsiteten større for PL end for DS i alle blokke. Luftpermeabiliteten, der ved -100 cm er et indirekte estimat for volumen samt kontinuitet af makroporer, viste en betydelig variation mellem individuelle prøver, men den gennemsnitlige luftpermeabilitet var højere for PL end for DS, dog igen undtaget blok 3 (Tabel 18).

I PL-jord udgjorde makroporøsiteten (porer $> 30 \mu\text{m}$) en større andel (47-52%) af den totale porøsitet end i DS-jord (42-44%). Andelen af makroporøsiteten bestående af porer $> 600 \mu\text{m}$ var i samme størrelsesorden for PL (28-32%) og DS (22-33%), og DS havde således et mindre volumen af makroporer i området $> 30\text{-}600 \mu\text{m}$, men en større andel af mikroporer.

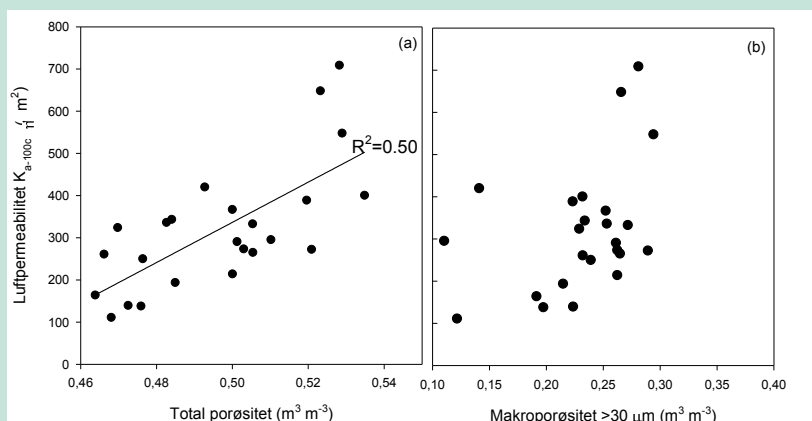
Scatter-plots af $K_a\text{-}100\text{cm}$ som funktion af total porøsitet viste en svag positiv korrelation (Figur 27a), mens der ikke var nogen korrelation mellem makroporøsitet og total porøsitet, eller mellem makroporøsitet og luftpermeabilitet (Figur 27b).

TABEL 18

HYDRO-FYSISKE KARAKTERISTIKA FOR UNDERSØGTE BEHANDLINGER PR. BLOK. *TILLAGE* = JORDBEARBEJDNING; PL = PLØJET; DS = DIREKTE SÅET.

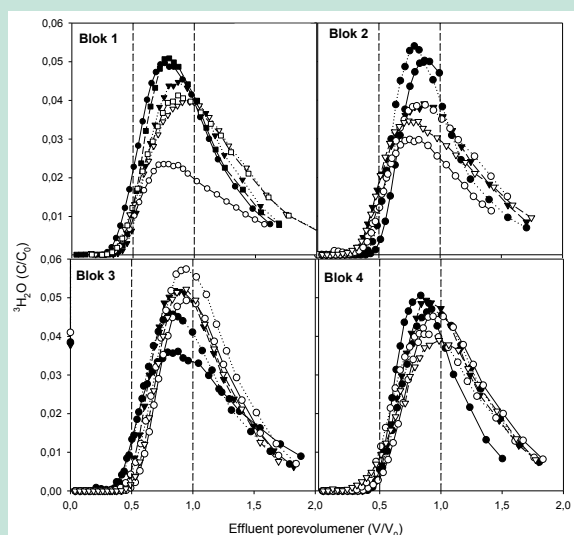
Blok	Tillage	Volumenvægt (ρ_b) kg m $^{-3}$	Porøsitet (θ_{tot}) m 3 m $^{-3}$	Makroporøsitet (θ_{-100}) m 3 m $^{-3}$	Luftpermeabilitet (K_{a-100}) μm^2
1	PL	1297	0.503	0.263	276
	DS	1357	0.480	0.202	155
2	PL	1260	0.517	0.266	575
	DS	1371	0.475	0.201	165
3	PL	1369	0.476	0.235	285
	DS	1273	0.512	0.224	300
4	PL	1233	0.528	0.250	446
	DS	1353	0.482	0.208	360
Tillage		**	**	**	**
Pesticid				**	
Blok					*
Tillage $\times$ Pesticid				**	
Tillage $\times$ Blok		**	**		*

Den atypiske fordeling af jordfysiske egenskaber i blok 3 er årsag til de signifikante Tillage $\times$ Blok vekselvirkninger i Tabel 18. Denne vekselvirkning blev dog for makroporøsitet afløst af en Pesticidbehandling $\times$ Blok vekselvirkning. En effekt af pesticidbehandlingen kunne udvikle sig, fordi måling af makroporøsitet fandt sted under forsøget, før nedbørshændelsen, og dermed enten 1 eller 4 uger efter behandlingen med pesticider.



FIGUR 27
LUFTPERMEABILITET ($K_{A-100\text{ cm}}$) SOM FUNKTION AF (A) TOTAL PORØSITET, OG (B) MAKROPORØSITET.

Kolonneforsøget blev gennemført under umættede (nær-mættede) forhold med en tension på -5 cm ved nedre rand, svarende til en afdræning af porefraktionen $>600\text{ }\mu\text{m}$, og en vandmætningsgrad varierende fra 0.68 til 0.78. Tritium gennembrudskurverne ($^3\text{H}_2\text{O}$ -BTC) som funktion af antal udvaskede porevolumener viste generelt samme tendens, hvor $^3\text{H}_2\text{O}$ -BTC havde maksimum for C/C_0 ("toppunkt") umiddelbart før 1 porevolumen (PV) og en svagt asymmetrisk BTC kurve (Figur 28). Denne kurveform antyder, at transporten af den ikke-reaktive tracer i denne jord generelt havde en svag ikke-ligevægtsstrømning (svag præferentiel strømning), og en samtidig diffusiv udveksling af traceren mellem det aktive (mobile) og inaktive (immobiler) strømningsdomæne, som for nogle prøver tenderede til ligevægts- eller matricestrømning. Den ringe grad af ikke-ligevægtsstrømning i prøver fra såvel DS som PL kan forklares ved, at tracer-transporten var tvunget til at foregå i porefraktionen $<600\text{ }\mu\text{m}$, hvor afdrænedede porer $>600\text{ }\mu\text{m}$ endvidere kan bryde kontinuiteten af det vandfyldte (aktive) strømningsvolumen, og dermed bidrage til en længere transportvej og en mere homogen strømning.



FIGUR 28
TRITIUM ($^3\text{H}_2\text{O}$) GENNEMBRUDSKURVER MED C/C_0 SOM FUNKTION AF EFFLUENT POREVOLUMEN (V/V_0) FOR PLØJET (SORT SYMBOL) OG DIREKTE SÅNING (HVIDT SYMBOL) FORDELT PÅ BLOK 1-4.

Generelt sås en tendens til lavere C/C_0 -max for DS-kolonner end for PL-kolonner i blok 1, 2 og 4 (Figur 28 og Tabel 19). Samtidig indikerede generelt lavere værdier for V/V_0 ved $M/M_0 \sim 5\%$ en hurtigere initial udvaskning af (en del af) den tilsatte tracer fra DS-jord, mens en højere V/V_0 ved $M/M_0 \sim 75\%$ indikerede at der på den anden side også var en større retention af restfraktionen af tracer i DS-kolonner, dog igen med blok 3 som en undtagelse. Tendenserne stemmer overens med det mindre volumen af makroporer i DS-kolonner, som kunne bidrage med hurtig transport af (en del af) den tilsatte tracer, mens det større mikroporevolumen kunne bidrage til en større diffusiv udveksling af tracer mellem makro- og mikroporer, og som følge deraf en højere retention af tracer og eventuelt pesticider. Årsagen til de afvigende tendenser for blok 3, som resulterede i signifikante Tillage $\times$ Blok vekselvirkninger, er ukendt (Tabel 19).

Som det fremgår af Tabel 19, var kun få af de omtalte tendenser signifikante, men der var altså en marginalt større grad af ikke-ligevægtsstrømning i DS (blok 1, 2 og 4), hvor en fraktion af den tilførte tracer $^3\text{H}_2\text{O}$ blev transporteret hurtigere gennem jorden via det aktive strømningsvolumen. Samtidig var der tegn på en diffusiv udveksling mellem mobile og immobile domæner, der forsinkede stoftransporten og bidrog til en mindre $^3\text{H}_2\text{O}$ udvaskning fra DS-jord end fra PL-jord, for det samme antal porevolumener i afstrømmende vand. Den afvigende tendens for blok 3 på såvel jordfysiske som tracer-parametre kan ikke umiddelbart forklares med afvigelser i tekstur eller dyrkningshistorie (data ikke vist).

TABEL 19

GENNEMSIT AF UDVALGTE EGENSKABER AFLEDT FRA $^3\text{H}_2\text{O}$ -GENNEMBRUDSKURVER (GENNEMSIT, $N=3$). I TABELLENS NEDERSTE DEL VISES RESULTATER AF EN MIXED MODEL REGRESSIONSANALYSE. *TILLAGE* = JORDBEARBEJDNING; PL = PLØJET; DS = DIREKTE SÅET.

Blok	Behandling	$M/M_0 \sim 5\% ^a$	$M/M_0 \sim 75\%$	$C/C_{0\text{max}}$
		V/V_0	V/V_0	
1	PL	0,58	1,26	0,0484
	DS	0,55	1,48	0,0348
2	PL	0,61	1,36	0,0478
	DS	0,55	1,42	0,0345
3	PL	0,56	1,44	0,0447
	DS	0,68	1,33	0,0530
4	PL	0,65	1,35	0,0490
	DS	0,62	1,50	0,0416
Tillage				
Pesticid				
Blok				
Tillage $\times$ Pesticid				
Tillage $\times$ Blok		*		*

^a 5% og 75% M/M_0 er udtryk for det antal porevolumener (V/V_0), der kræves for genfindelse af hhv. 5 og 75% $^3\text{H}_2\text{O}$. $C/C_{0\text{max}}$ angiver den maksimale relative $^3\text{H}_2\text{O}$ -aktivitet i effluenten.

3.7.2 Udvasnkning af pesticider

Det var ikke muligt at detektere α -cypermethrin i prøverne fra kolonneforsøget.

Fungicidet mancozeb omdannes i naturlige miljøer hurtigt til stoffet etylen thiourea (ETU). Tabel 20 viser målte koncentrationer af ETU i fraktion 1, 2 og 3, hver svarende til 1-1,5 porevolumener. Der blev som ventet ikke fundet ETU i kontrolprøverne. Der blev heller ikke fundet ETU i fraktion 1 i nogen af prøverne med pesticidtilførsel. Derimod blev der i prøver behandlet med fungicid målt ETU i afstrømmende vand efter 1 uge for både DS og PL, mens der kun i et enkelt tilfælde blev fundet spor af ETU efter 4 uger. ETU har en høj vandopløselighed (afsnit 2.2), og derfor skyldes forskellen mellem forekomst af ETU efter 1 og 4 uger sandsynligvis nedbrydning af stoffet i den mellemliggende periode, men også diffusion af ETU til inaktive dele af det vandfyldte porevolumen.

Den samlede afstrømning af ETU i fraktion 2+3 var størst i DS. Dette stemmer overens med tracer-forsøget, der jo generelt viste en hurtigere transport af de første 5% af den tilførte tracer i DS sammenholdt med PL, på trods af at et større udvaskningsvolumen var påkrævet i DS for 75% genfindelse, formentlig som følge af en større grad af diffusiv udveksling (jfr. Figur 28).

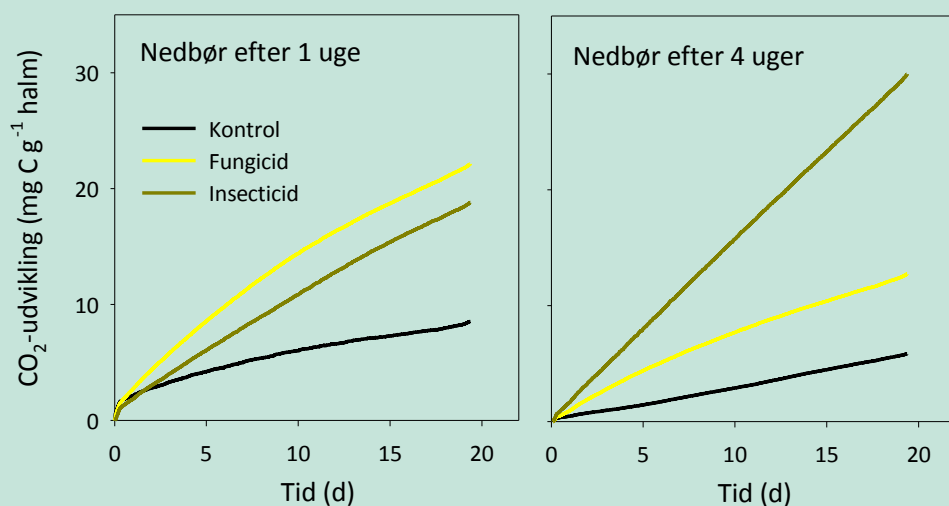
TABEL 20
KONCENTRATIONER AF ETYLEN THIOUREA (ETU), ET NEDBRYDNINGSPRODUKT AF MANCOZEB, I FRAKTION 2 OG 3 OPSAMLET UNDER DEN SIMULERED E NEDBØR (SE TEKST). DER BLEV IKKE FUNDET ETU I FRAKTION 1. RESULTATER REPRÆSENTERER MIDDEL OG STANDARDFEJL (N = 2). *TILLAGE* = JORDBEARBEJDNING; PL = PLØJET; DS = DIREKTE SÅET.

Tillage	Pesticid-behandling	Nedbør, uge	Fraktion 2	Fraktion 3
			ng mL ⁻¹	
DS	Kontrol	1	ND	ND
		4	<1	<1
	Fungicid	1	2,4 (0,2)	4,3 (0,6)
		4	<1	0,6 (0,6)
PL	Kontrol	1	<1	<1
		4	<1	<1
	Fungicid	1	2,1 (0,2)	3,3 (0,6)
		4	<1	<1

3.7.3 Nedbrydning af halm

Ved afslutningen af kolonneforsøget blev halm indsamlet fra overfladen af DS-kolonner og overført til respirometer ved samme temperatur som inkubationsforsøget. Her blev udviklingen af CO₂ målt i 20 d for at vurdere, om pesticidbehandlingen påvirkede nedbrydningen af halm. Resultaterne er vist i Figur 29.

Sammenlignet med den ubehandlede kontrol var der en stimulation af CO₂-udviklingen med begge pesticider. Effekten af fungicid og insekticid på respirationen var på samme niveau i prøver, hvor simuleringen af nedbør fandt sted efter 1 uge, mens der var en lavere CO₂-udvikling fra halmen indsamlet fra kolonner med fungicid, hvor den simulerede nedbør først fandt sted efter 4 uger. Denne tendens blev støttet af en 2-vejs ANOVA, som indikerede en vekselvirkning mellem tidspunkt for nedbør og pesticidbehandling ($0.05 < P < 0.1$).



FIGUR 29

UDVIKLING AF CO₂ UNDER INKUBATION AF HALM INDSAMLET FRA OVERFLADEN AF DS-KOLONNER EKSPONERET FOR NEDBØR EFTER HHV. 1 OG 4 UGER (N = 2).

3.7.4 Mikroled dyr

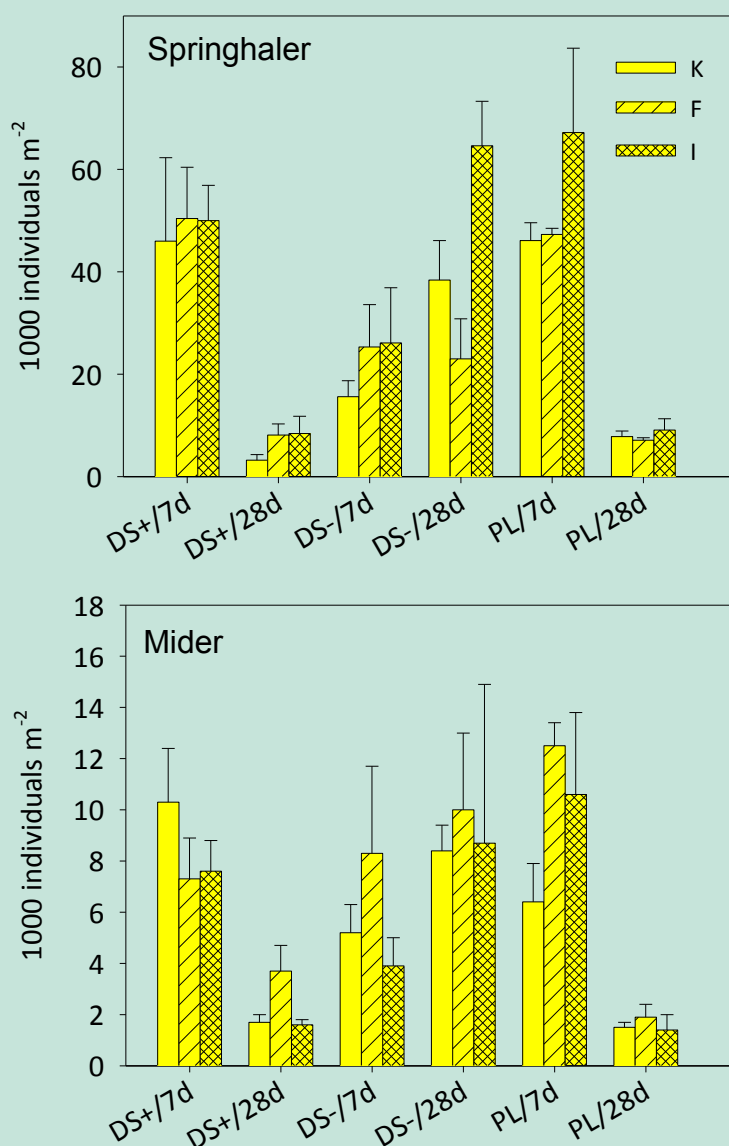
Tabel 21 viser effekter på mikroled dyr målt i kolonneforsøget efter fire uger, mens Figur 30 viser antal individer i hver behandling med, hhv. uden halm på jordoverfladen. Der kunne observeres signifikante effekter af alle dyrkningsfaktorer, herunder jordbearbejdningsmetode, tilstedeværelsen af halm samt tidspunkt for nedbør. Faktisk var pesticidanvendelsen den variabel, der havde mindst påvirkning på systemet. Pesticidet alene påvirkede således til en vis grad mider, ligesom springhalegruppen Tullberginae var stærkt påvirket i kolonneforsøget. Samme gruppe var derimod ikke påvirket i feltforsøget (Tabel 9 og 10).

TABEL 21

EFFEKTER PÅ MIKROLED DYR I KOLONNEFORSØGET. T, TIDSPUNKT FOR SIMULERET NEDBØR; P, PESTICID; LUFT PERM, LUFT PERMEABILITET; M, MIDER; S, SPRINGHALER.

Effekt	Mikroled dyr	Springhaler	Mider	<i>P. notabilis</i>	<i>Mesophorura</i> sp.	Actinedida	Gamasida	Oribatida	<i>Stenaphorura quadrispina</i>	<i>Folsomia finetaria</i>	<i>Pygmephoridae</i>	<i>I. minor</i>	<i>M. minimus</i>
Gruppe:	S+M	S	M	S	S	M	M	M		S	M	S	S
T	*	*			**	*	*		*			*	
P			*		***								
T*P					**		*	*					
halm	**	**		***			**				*		
Nedbør	**	*	***		***	***					*		
T*Nedbør							**						
P*Nedbør	*	*			***								
Luft perm					**		*			*			
Luft perm*T							*						
Luft perm*P			**		***	*							
Luft perm*Nedbør	*		***		***	***					*		

*, P<5%; **, P<1%; ***, P<0.1%.



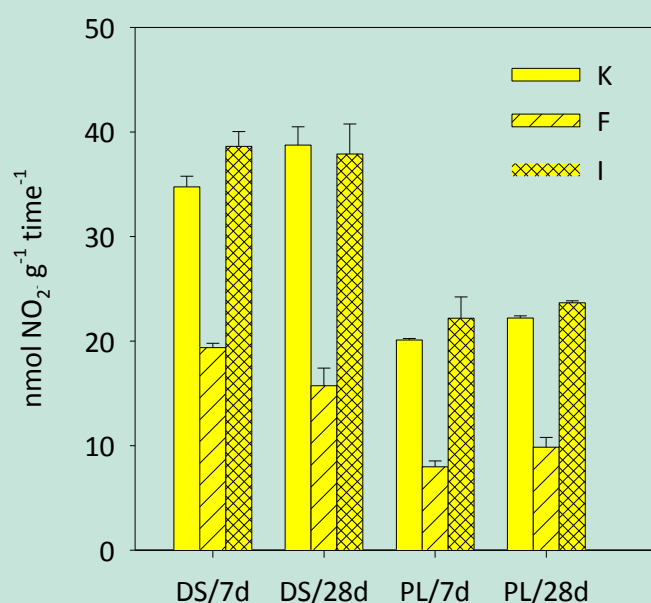
FIGUR 30

ANTALLET AF SPRINGHALER (TV) OG MIDER (TH) (1000 INDV. M⁻²) I LABORATORIEFORSØGET MED INTAKTE KOLONNER. KOLONNER FRA BEHANDLINGER MED DIREKTE SÅNING (DS) OG PLØJNING (PL) BEHANDLINGER BLEV UDSAT FOR SIMULERET NEDBØRSHÆNDELSE 1 OG 4 UGER EFTER TILFØRSEL AF PESTICIDER. K, KONTROL; F, FUNGICID; I, INSEKTICID). DELFIGURERNE VISER GENNEMSIT OG STANDARDFEJL (N=2).

3.7.5 Potentiel nitrifikation

I kolonneforsøget viste potentiel nitrifikation en rate på omkring 40 nmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹ i DS-jorden uden pesticidbehandling (K), mens niveauet var lavere i PL-kontroljorden, ca. 20 nmol NO₂⁻ g⁻¹ h⁻¹ (Figur 31). Dette var i god overensstemmelse med resultaterne fra markforsøget, hvor DS også typisk viste højere rater end PL. Der var ikke signifikant effekt af tidspunktet for nedbørshændelsen, 1 eller 4 uger (Tabel 21). Derimod viste forsøget tydelige effekter af pesticidbehandling: fungicidet hæmmede den potentielle nitrifikation med 52-58%, mens der for insekticidet blev fundet en beskedne stigning på 4-8%.

Målingerne af ETU i afstrømmende vand (Tabel 20) indikerede en nedbrydning af fungicidet i forsøgsperioden, men da nedbørstidspunktet ikke havde nogen indflydelse på hæmningen af potentiel nitrifikation, indikerer det at hæmningen indtraf umiddelbart efter pesticidbehandlingen. Desuden indikerer den ensartede hæmning af potentiel nitrifikation efter 1 og 4 uger, at fungicidets effekt var af permanent karakter, i hvert fald var der ikke tydelige tegn på recovery inden for forsøgsperioden. Der var ifølge den statistiske analyse (Tabel 22) en vekselvirkning mellem jordbearbejdningsmetode og pesticidbehandling, som dog ikke er tydelig i Figur 31.

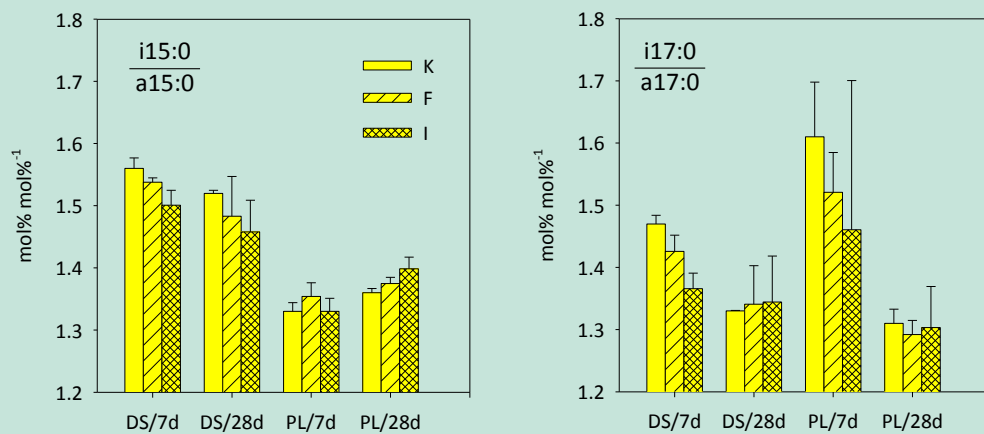


FIGUR 31
POTENTIEL NITRIFIKATION (PN) I JORD FRA KONTROL (K) OG KOLONNER BEHANDLET MED FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). DER BLEV ANVENDT INTAKTE KOLONNER FRA PARCELLER MED DIREKTE SÅNING (DS) ELLER PLØJET JORD (PL), OG NEDBØR BLEV SIMULERET EFTER 7 ELLER 28 DAGE SOM ANGIVET. POTENTIEL NITRIFIKATION I TOP JORD (0-5 CM) BLEV MÅLT EFTER 4 UGER I ALLE PRØVER. RESULTATERNE REPRÆSENTERER GENNEMSIT OG STANDARDFEJL (N=2).

3.7.6 Mikrobiel biomasse, membranlipider

Koncentrationen af mikrobiel biomasse var 63-100% større i DS-jord end i pløjet jord, en tendens der var i overensstemmelse med markforsøget. Der var også signifikant effekt af jordbearbejdning på sammensætningen af forgrenede fedtsyrer repræsenteret ved forholdene (ratioerne) i15:0/a15:0 og i17:0/a17:0 (Figur 32).

Forskellene mellem DS og PL, og mellem 1 og 4 uger, kunne fortolkes som en tilpasning til nye betingelser i jorden justeret til -100 cm H₂O, som blev forstærket i begge pesticidbehandlinger. Eftersom tilpasninger også fandt sted i kontroljorden, var drivkraften formentlig knyttet til generelle levevilkår som temperatur og fugtighed, men pesticideffekterne er konsistente med en accelereret turnover af mikrobiel biomasse i disse behandlinger. Hvorvidt det er tilfældet, og om det skyldes stress i forb. m. toksiske effekter, kan dog ikke afklares med de foreliggende resultater.



FIGUR 32
FORHOLDET MELLEM *ISO*- OG *ANTEISO*-KONFIGURATION AF 15:0 (TIL VENSTRE) OG 17:0 (TIL HØJRE) I CELLEMEMBRANER I LABORATORIEFORSØGET MED INTAKTE KOLONNER. KOLONNER FRA BEHANDLINGER MED DIREKTE SÅNING (DS) OG PLØJNING (PL) BEHANDLINGER BLEV UDSAT FOR SIMULERET NEDBØRSHÆNDELSE 1 OG 4 UGER EFTER TILFØRSEL AF PESTICIDER. K, KONTROL; F, FUNGICID; I, INSEKTICID). DELFIGURERNE VISER GENNEMSIT OG STANDARDFEJL (N=2).

TABEL 22
EFFEKTER PÅ MIKROBIELLE PARAMETRE I KOLONNEFORSØGET. NEDBØR: TIDSPUNKT FOR SIMULERET NEDBØR, 1 ELLER 4 UGER; P: PESTICID; T: JORDBEHANDLING; LUFT PERM: LUFT PERMEABILITET. *: P<5%; ***: P<1%; ****: P<0.1%.

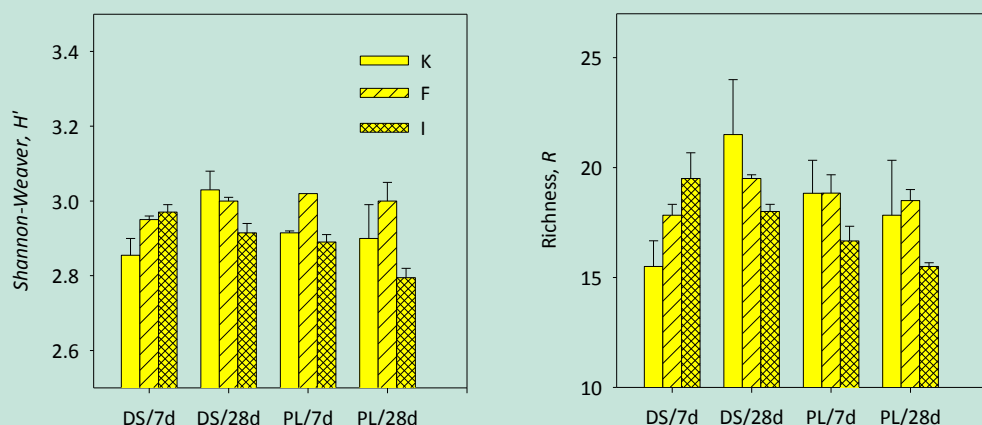
Effekt	Sum, PLFA	Fung/BactPLFA	Gnec/Gpos	16:1n7/c	cy17:0/16:1n7c	cy19:0/18:1n7c	i15:0/a15:0	i17:0/a17:0	Pot. nitrifikation	Div_H	Div_R
T	**						**		***		
Nedbør				***		*		*			
T*Nedbør				**		***		*			
P									***		
T*P									**		
Nedbør*P										*	
Luft perm										*	*
Luft perm*T				*							
Luft perm*Nedbør				**	*	*					
Luft perm*P											

3.7.7 Mikrobiel diversitet, substratudnyttelse

Den heterotrofe fysiologiske diversitet, målt som evnen til at udnytte 31 forskellige kulstofkilder, var på samme niveau i jord under direkte såning (DS) og pløjning (PL) (Figur 33). Effekter af pesticidbehandling var generelt små og ikke-signifikante (Tabel 22). Dog viste den statistiske analyse for begge diversitetsmål en signifikant effekt af luftpermeabilitet, et mål for hydraulisk ledningsevne, og for richness (*R*) var der en signifikant vekselvirkning mellem tidspunktet for nedbør, 1 eller 4 uger, og pesticidbehandlingen.

Gennembrudskurverne (Figur 28) indikerede en større grad af kontakt mellem jord og gennemstrømmende vand i DS-jord, mens analyserne af ETU, nedbrydningsproduktet fra mancozeb, indikerede nedbrydning af pesticider i løbet af de fire ugers inkubation (Tabel 20). I det lys er det sandsynligt, at risikoen for pesticideffekter på mikroorganismer i jorden var størst i DS-jord med simuleret nedbør efter 1 uge. På dette tidspunkt var der for begge pesticider, og for begge diversitetsmål, en højere værdi end i kontroljorden (Figur 33), som indikerer at pesticiderne påvirkede jordens økosystem. støtter hypotesen om en acceleret turnover af mikrobiel biomasse, som blev foreslået på baggrund af dynamikken i sammensætning af membranlipider beskrevet i afsnit 3.7.6.

Sammenligner man nedbør efter 1 og 4 uger forekom den største ændring dog i kontroljorden. Beskrivelse af diversiteten med molekylære metoder kunne formentlig give et mere nuanceret billede af den observerede mikrobielle dynamik.



FIGUR 33

FYSIOLOGISKE DIVERSITETSMÅL, TIL VENSTRE "H" (SHANNON-WIENER DIVERSITETSINDEX) OG TIL HØJRE "R" (RICHNESS), I KOLONNER UDEN PESTICIDBEHANDLING (K) OG KOLONNER BEHANDLET MED FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). GRØNNE SØJLER ANGIVER DIREKTE SÅNING (DS) OG GULE SØJLER ANGIVER PLØJET JORD (PL). DEN MIKROBIOLOGISKE DIVERSITET MHT. SUBSTRATUDNYTTELSE I 0-5 CM DYBDE BLEV MÅLT EFTER 4 UGER; "7D" OG "28D" ANGIVER TIDSPUNKTET FOR DEN SIMULEREDE NEDBØRSHÆNDELSE. DELFIGURERNE VISER GENNEMSNIT OG STANDARDFEJL (N=2).

4. Diskussion

Adskillige studier og metaanalyser har vist, at landbrugets dyrkningsmetoder har stor indflydelse på forekomst og aktivitet af jordlevende organismer, og for jordens frugtbarhed. Ryan (1999) konkluderede i en oversigtsartikel, at tilførslen af organisk materiale er den vigtigste faktor i dannelsen af biologiske samfund i jorden, mens tilførslen af næringsstoffer og brug af pesticider har mindre betydning, selvom der kan påvises effekter på enkelte arter eller grupper. Bengtsson et al. (2005) viste i en større metaanalyse, der sammenlignede økologiske og konventionelle jordbrug, at økologisk produktion uden brug af handelsgødning og pesticider i gennemsnit øgede artsrigdommen med 30% sammenlignet med konventionel drift. Men resultaterne var meget variable, og i enkelte tilfælde var artsrigdommen lavere med økologisk drift. Jordbundsorganismer og planter reagerede ofte positivt, og insekter negativt, på økologisk drift.

Meget tyder altså på, at landbrugspraksis har betydning for artsdiversiteten i jorden, men at det ikke er entydigt, hvilke dyrkningsfaktorer der vægter mest for en given organismegruppe eller dyrkningssituation. For alle dyrkningsfaktorer, som blev undersøgt i dette projekt – jordbearbejdning, kvælstofkilde og pesticidbehandling – var der i mange tilfælde signifikante effekter på jordlevende organismer, ofte i form af vekselvirkninger imellem faktorerne, eller mellem dyrkningsfaktorer og prøvetagningstidspunkt.

4.1 Effekter af mancozeb og α -cypermethrin

Insekticidet α -cypermethrin tilhører gruppen af syntetiske pyrethroider, der anvendes til skadedyrsbekæmpelse i en lang række afgrøder. Xie et al. (2007) fandt halveringstider i en lerblandet sandjord på 10-15 dage afhængigt af gødningspraksis. På trods af den lave vandopløselighed er stoffet stærkt toksisk overfor vandlevende insekter og krebsdyr (Solomon et al., 2001). Den relativt høje log K_{ow} påvirker nedbrydning og transport i jorden, såvel som giftigheden af α -cypermethrin overfor jordlevende organismer. Således viste Styriehave et al. (2010), at giftigheden aftager med det organiske indhold i jorden og med opholdstiden på grund af en proces, der kaldes ældning – i begge tilfælde skyldtes det reduceret biotilgængelighed af stoffet, der sorberer stærkt til organisk stof (Bondarenko et al., 2006). Flere studier i laboratoriet har vist effekter på f.eks. springhaler og regnorme i relativt lave koncentrationer (f.eks. Hartnik et al., 2008; Styriehave et al., 2010; Sechi et al. 2014a).

Som tidligere nævnt har fungicidet mancozeb en halveringstid på under 2 dage i vand og veliltet jord. Også for nedbrydningsproduktet ETU (Figur 4) er der rapporteret en kort halveringstid på 1-7 dage i jord. Der er fundet en relativt lav giftighed af mancozeb overfor regnorme i laboratorieforsøg (Vermeulen et al., 2000; de Silva et al., 2010; Garcia-Santos et al., 2011). Petz og Foissner (1989) var ligeledes ude af stand til at se effekter af mancozeb på en lang række jordlevende organismer i et feltstudie, selv ved en dosis 10× over anbefalet markdosering.

Insekticidet α -cypermethrin tilhører gruppen af syntetiske pyrethroider, der anvendes til skadedyrsbekæmpelse i en lang række afgrøder. Stoffet er stærkt vandskyende, med en log K_{ow} på 6,6 og en vandopløselighed på ca. 4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Xie et al. (2007) fandt halveringstider i en lerblandet sandjord på 10-15 dage afhængigt af gødningspraksis. På trods af den lave vandopløselighed er stoffet stærkt toksisk overfor vandlevende insekter og krebsdyr (Solomon et al., 2001). Den relativt høje log K_{ow} påvirker nedbrydning og transport i jorden, såvel som giftigheden af α -cypermethrin overfor jordlevende organismer. Således viste Styriehave et al. (2010), at giftigheden aftager med det organiske indhold i jorden og med opholdstiden på grund af en proces, der kaldes ældning – i begge tilfælde skyldtes det reduceret biotilgængelighed af stoffet, der sorberer stærkt til organisk stof

(Bondarenko et al., 2006). Flere studier i laboratoriet har vist effekter på f.eks. springhaler og regnorme i relativt lave koncentrationer (f.eks. Hartnik et al., 2008; Styrihave et al., 2010; Sechi et al. 2014a).

Som tidligere nævnt har fungicidet mancozeb en halveringstid på under 2 dage i vand og veliltet jord. Også for ETU er der rapporteret en kort halveringstid på 1-7 dage i jord. Der er fundet en relativt lav giftighed af mancozeb overfor regnorme i laboratorieforsøg (Vermeulen et al., 2000; de Silva et al., 2010; Garcia-Santos et al., 2011). Petz og Foissner (1989) var ligeledes ude af stand til at se effekter af mancozeb på en lang række jordlevende organismer i et feltstudie, selv ved en dosis 10× over anbefalet markdosering.

Overordnet set var hovedeffekterne af pesticidbehandlingerne, at insekticidet, især i de høje doser, påvirkede gruppen af mider stærkt negativt, mens nogle, men ikke alle, springhalearter reagerede positivt på de høje doser af insekticidet. Disse tendenser kunne ses i analysen af individuelle responsvariable (afsnit 3.4.2), og blev bekræftet af den multivariate redundansanalyse (3.5.1). Fungicidet alene havde ingen effekt på springhalerne, og kun en lille effekt på miderne ved høje doser. Det er ikke ukendt, at pesticider påvirker de forskellige jordbundsorganismer forskelligt, og at nogle arter kan drage fordel af ændrede levevilkår. Frampton et al. (2007) viste således en meget varieret respons på tre forskellige insekticider, idet chlopyrifos havde en stærkt negativ effekt på gruppen af overfladelevende springhaler, primicarb viste ingen effekter, og cypermethrin havde overordnet en positiv effekt på springhaler, om end den ikke var signifikant, da den dominerende gruppe af springhaler, *Isotomurus* sp., var upåvirket. Og mens at stort set alle springhalearter steg i antal på marker behandlet med cypermethrin, så faldt det samlede antal af otte forskellige makroarthropodgrupper markant. En sammenligning af forholdet mellem springhaler og de makroarthropod-arter, som vides at spise springhaler, viste et klart skift ved cypermethrin-behandlingen, hvorfor det er nærliggende at henhøre de positive effekter af cypermethrin på springhaler til en indirekte effekt af (delvis) eliminering af deres rovdyr. Dette studie fokuserede på overfladelevende, ikke jordbundslevende dyr, men formodentlig gør samme principper sig gældende i jordmiljøet. Et tilsvarende studie viste kun små effekter af to fungicider på overfladelevende springhaler (Frampton og Wratten, 2000). At springhaler ikke altid udviser positiv respons på insekticidbehandling viste Endlweber et al. (2006). De identificerede 16 grupperinger af springhaler i marker, der efterfølgende blev overfladebehandlet med chlorpyrifos i to omgange. To behandlinger med et års mellemrum eliminerede springhalegrupperne *Pseudosinella*, *Ceratophysella* og *Sminthuridae*, mens at grupperne *Lepidocyrtus*, *Isotoma*, *Entomobrya*, *Friezea* og *Folsomia* blev signifikant reduceret.

Der var kun få signifikante hovedeffekter af pesticidbehandling på mikrobielle indikatorer, og i mange tilfælde heller ingen signifikante vekselvirkninger, som involverede pesticidbehandling. Pesticideffekter blev derimod observeret for flere PLFA-stressindikatorer (Tabel 12), bl.a. i form af vekselvirkninger med jordbearbejdning og prøvetagningstidspunkt. Der er i litteraturen beskrevet flere former for membrantilpasning, som mikroorganismer benytter for at imødegå miljømæssig stress, herunder forholdet mellem *cis*- og *trans*-konfiguration, introduktion af cyclopropan-fedtsyrer, og forholdet mellem forgrenede fedtsyrer. Membrantilpasninger skal altid fortolkes med forsigtighed, eftersom der er tale om meget basale mekanismer, der også anvendes ved tilpasning til naturlige stresspåvirkninger, såsom ekstreme temperaturer, pH eller tørke, ligesom ændringer i artssammensætningen ikke kan udelukkes (Petersen & Klug, 1994; Frostegård et al., 2011). Ændringer i forholdet mellem *trans*- og *cis*-konfiguration samt introduktion af cyclopropan-grupper ses især blandt Gram-negative bakterier, mens tilpasning af forholdet mellem *iso*- og *anteiso*-fedtsyrer primært optræder blandt Gram-positive bakterier (Guckert et al., 1986; Heipieper et al., 1992; Unell et al., 2006). Fælles for disse modifikationer af cellemembranen er, at tilpasningerne giver en mere kompakt, og dermed mindre permeabel cellemembran. Som beskrevet i afsnit 3.5.2, var pesticideffekter på PLFA-sammensætningen især knyttet til DS, hvilket kunne skyldes koncentrationen af organisk materiale, og dermed mikrobiel biomasse, nær jordoverfladen, hvor formentlig især insekticidet bidrog til en stress-respons (Tabel 11 og Tabel 12).

Der blev ikke fundet pesticideffekter på potentiel nitrifikation i markforsøget, selvom et dosis-responsforsøg (Tabel 3) havde indikeret, at det ville være tilfældet for fungicidet mancozeb ved den valgte dosering. Det var derimod tilfældet i laboratorieforsøget med intakte kolonner, som viste den forventede effekt af fungicidet (Figur 31). I dosis-responsforsøget blev pesticiderne opblandet i jord svarende til 0-5 cm, mens pesticider i forsøget med kolonner blev tilført i ca. 2 mL vand. Under markforhold blev pesticider tilført i en mindre

væskemængde (estimeret til 15-30% af den mængde, som blev anvendt i laboratoriforsøget), og jordens overflade i marken var mere tør end i laboratorieforsøget, hvor kolonnernes vandpotentiale var blevet justeret for tilførslen. Den begrænsede effekt på nitrifikation i markforsøget kunne derfor skyldes en mindre spredning af aktivstoffet i jorden.

4.2 Pesticiders vekselvirkning med andre dyrkningsfaktorer

4.2.1 Jordbearbejdning

Ved reduceret jordbearbejdning, og især ved direkte såning, efterlades afgrøderester nær jordoverfladen. Steinkellner & Langer (2004) fandt en negativ sammenhæng mellem indarbejdningsdybde og forekomsten af svampen *Fusarium spp.*, som dermed kan øge behovet for brug af fungicider ved reduceret jordbearbejdning. Yi et al. (2002) undersøgte effekter af behandling med et triazol-fungicid, tebuconazol, på nedbrydningen af afgrøderester fra hvede og majs og fandt, at fungicidbehandlingen forsinkede nedbrydningen væsentligt. En tilsvarende hæmning af nedbrydningsforløbet blev observeret af Beare et al. (1993) med fungicidet Captan (ethyl mercaptan). Disse resultater var grundlag for projektets hypotese om, at i systemer med direkte såning vil afgrøderester på jordoverfladen reducere pesticideffekter på jordlevende organismer.

Jordbearbejdning havde en begrænset effekt på antallet af regnorme, idet kun *L. terrestris* var svagt påvirket af jordbearbejdningsmetoden. Dette stemmer ikke helt overens med viden fra tidligere studier, f.eks. Barnes & Ellis (1979), House & Parmalee (1985) og Kladvko (2001). Chan (2001) påpegede således i et review, at pløjning kan reducere antallet af regnorme 2-9 gange, og at artsammensætningen ligeledes kan påvirkes. At det også i indeværende studie var en anecisk (dybdegravende) art, *L. terrestris* (Stor regnorm), der var mest påvirket af pløjning er ikke overraskende og i overensstemmelse med andre studier, hvorimod epigeiske (tværgravende) arter som f.eks. *A. rosea* (Rosa orm) ikke forventes at blive påvirket i samme grad. *A. longa* (Lang orm) er dog også dybdegravende, uden at der kunne ses effekter af pløjning i indeværende studie. Det bør fremhæves, at seneste jordbearbejdning fandt sted >6 måneder før første prøvetagning i juni, hvor effekter af jordbearbejdning kan være overvundet. Der var enkelte tegn på, at aneciske orme ved høj pesticidbelastning ændrede adfærd og søgte føde i større dybder ved direkte såning (se 3.6.3).

Et større review dækkende 74 artikler med tyske data konkluderede på et overordnet niveau, at mens at antallet og diversiteten af regnorme steg ved reduceret jordbearbejdning, så faldt antal og diversitet for springhaler (Capelle et al., 2012), men at effekten var afhængig af jordtypen. I den aktuelle undersøgelse var gruppen af mikroleddyr, især mider, negativt påvirket af pløjning, idet der ofte blev observeret markant flere dyr i parceller, hvor der ikke havde været pløjet. Samme negative effekt observerede Dubie et al. (2011) i et feltforsøg med vinterhvede, omend gruppen af fedtmider (Prostigmata) var positivt påvirket af pløjning.

Ifølge en af projektets hypoteser forventedes afgrøderester på jordoverfladen at beskytte jordlevende organismer mod effekter af pesticider. Der var dog ikke for grundbehandlingerne nogen vekselvirkning mellem jordbearbejdning og pesticider, som kunne indikere en sådan beskyttelse under direkte såning. Tværtimod var der signifikante vekselvirkninger mellem pesticidbehandling og jordbearbejdning for sammensætningen af membranlipider, herunder en positiv sammenhæng mellem direkte såning og to potentielle PLFA-stressindikatorer 16:1 ω 7t/c samt cy17:0/16:1 ω 7c (jfr. Figur 22). Disse observationer kunne tyde på en større eksponering for pesticider under direkte såning, i modsætning til hypotesen. Årsagen kan være den høje koncentration af organismer nær jordoverfladen. Der blev i markforsøget fundet en positiv sammenhæng mellem reduceret jordbearbejdning (DS) og koncentrationen af membranlipider (PLFA), som er et mål for størrelsen af den mikrobielle biomasse (Tabel 11). Det samme var tilfældet for potentiel nitrifikation, som er et mål for antallet af ammoniak-oxiderende mikroorganismer i jorden (Belser & Mays, 1980), og for antallet af mider (afsnit 3.5.5). Der vil være en høj koncentration af organisk materiale nær jordoverfladen under DS (Doran, 1980; Petersen et al., 2008), og da analyser af mikrobiologiske indikatorer og mikroleddyr skete med jord udtaget i 0-5 cm dybde, kan de større populationer af mikroorganismer og fauna helt eller delvist skyldes den større koncentration af organisk materiale nær overfladen under DS (Abdollahi & Munkholm, 2014).

4.2.2 Gødskning

En anden hypotese lød, at husdyrgødning vil reducere pesticideffekter på jordlevende organismer sammenlignet med handelsgødning. Baggrunden for hypotesen er, at husdyrgødningens energiindhold (substrattilgængelighed) forventes at have betydning for jordlevende organismers evne til at imødegå miljømæssig stress. Mange jordlevende bakterier kan oplagre energirige polymerer i form af poly- β -hydroxyalkanoater (PHA). Det gjaldt f.eks. 67% af Gram-negative bakterier i en screening af 73 jordbakterier (Wang & Bakken, 1998), ligesom mange filamentøse svampe kan nedbryde PHA (Matavulj & Molitoris, 1992). En række undersøgelser har vist, at mobilisering af PHA kan mindske effekter af meget forskellige former for stress, herunder varme, tørke, UV-stråler, osmotisk stress, etanol og brintoverilte (Kadouri et al., 2005), og det er derfor sandsynligt at i hvert fald nogle pesticiders effekt også kan mindskes, hvis mikroorganismen har adgang til energirige forbindelser.

Det bør dog nævnes, at mange jordlevende mikroorganismer også kan reagere på sult (*starvation*) med mekanismer, som giver krydstolerance overfor andre former for miljømæssig stress (Moat et al., 2002), hvilket komplicerer billedet af forventede effekter.

Husdyrgødning indeholder også organisk stof, som kan bidrage til sorption og dermed inaktivering af pesticider (Song & Guo, 2014). Kvæggylle indeholder dog også meget vand og opløst organisk stof, som kan øge mobiliteten af pesticider (Sukul et al., 2008), og derfor er det uklart hvordan gyllens organiske stof påvirker biotilgængeligheden.

Afsnit 1.1.2 beskrev, hvordan negative effekter af et pesticid på regnorme, og af detergenten LAS fra vaskemidler på en række mikrobielle populationer, blev mindsket ved samtidig tilførsel af hhv. husdyrgødning og slam. Mancozeb øger, ligesom LAS, permeabiliteten af cellemembraner, og det kan øge cellernes stofskifte (Guven et al., 2005); på den baggrund var det plausibelt, at adgang til energi kunne dæmpe toksiske effekter af pesticider.

En række undersøgelser har vist øget vækst og reproduktion i dyrkningsjord ved tilførsel af både fast gødning og gylle (Edwards & Lofty, 1977; Lofs-Holmin, 1983). I en dansk undersøgelse (Andersen, 1980) forøgede fast gødning populationerne af *L. terrestris*, *A. longa*, og *A. caliginosa*, men ikke *A. rosea* og *A. chlorotica*. Arterne *L. terrestris* og *A. longa* dominerede også regneormebestanden i markforsøget i dette projekt, og det var disse to arter som viste en signifikant hovedvirkning af gødningstype (Tabel 7). Endvidere viste den multivariate analyse en positiv sammenhæng mellem tilførslen af gylle og det samlede antal regnorme ved alle fire prøvetagninger (afsnit 3.4.1), i overensstemmelse med de citerede undersøgelser.

Tilførsel af kvæggylle stimulerede potentiel nitrifikation mere end tilførsel af handelsgødning (afsnit 3.4.3 og afsnit 3.5.2). Årsagen kan være at den pelleterede faste gødning, med gradvis frigivelse af kvælstoffet, var i kontakt med en mindre del af jorden i pløjelaget end den flydende gylle. Der er dog også forskel på, hvordan gødningstyper påvirker nitrificerende mikroorganismer i jorden. Fan et al. (2011) undersøgte langtidseffekter af gødningstyper og fandt, at husdyrgødning, men ikke handelsgødning, stimulerede potentiel nitrifikation. De undersøgte desuden effekten på ammoniumoxiderende archaea (AOA) og ammoniak-oxiderende bakterier (AOB) og fandt, at AOA generelt blev hæmmet af kvælstoftilførsel, mens AOB blev stimuleret. Der blev også observeret forandringer i populationsstrukturen blandt AOB, som kunne relateres til bl.a. pH (Fan et al., 2011). Trods den overordnede stimulation af potentialet for nitrifikation kan det derfor ikke udelukkes, at pesticideffekter i det aktuelle forsøg medførte ændringer i sammensætningen af AOB.

Der var enkelte tre-vejs vekselvirkninger mellem jordbearbejdning, kvælstofkilde og pesticidbehandling for regnorme (Tabel 7) og antallet af mider. Med Model 2, som inkluderede de stærkt forhøjede pesticiddoseringer (10× og 50× anbefalet dosis) i analysen, var der også signifikante effekter på andre springhalearter (Tabel 10). Fungicid påført alene påvirkede kun gruppen af mider kaldet Actinedida, og kun hvis påført i 10 × normal markdosis (Tabel 10). Effekterne af fungicid var af både positiv og negativ karakter (Figur 15). Effekterne af insekticid var mere markante. I langt de fleste tilfælde var der dog tale om positive effekter, idet der blev fundet flere individer af de forskellige springhalearter i insekticidbehandlede underparceller end i de tilsvarende kontrol-underparceller, dog med stor variation imellem arter og år (Figur 43 til Figur 48).

Overordnet set blev der ikke fundet markante negative effekter af insekticidbehandling på det samlede antal springhaler, hverken i underparceller gødet med handelsgødning eller med gylle (Figur 11), omend der var en ikke-signifikant tendens til, at insekticid reducerede antallet af springhaler i gyllehandlet jord. I de fungicidbehandlede underparceller blev der ved en enkelt ud af fire indsamlinger fundet signifikant færre springhaler sammenlignet med den tilsvarende kontrol. Tilsvarende var der ingen effekter af kvælstofkilde på mikrobielle indikatorer. Det er derfor ikke på baggrund af observationerne fra dette projekt muligt at bekræfte hypotesen om, at organisk gødning dæmper effekter af pesticider på jordlevende organismer. Hypotesen kan dog heller ikke afvises, idet effekter af kvæggylle på pesticiders toxicitet kunne være blevet overskygget af en generel stimulation af biologisk aktivitet. Mere kontrollerede forsøg er formentlig nødvendige for at besvare spørgsmålet.

4.3 Økosystemfunktioner

4.3.1 Nedbrydning af afgrøderester

Nedbrydningen af halm fra kolonner udtaget i parceller under direkte såning (DS) blev undersøgt i laboratoriet (Figur 29), idet udviklingen af CO₂ blev anvendt som et mål for nedbryderaktiviteten. Udviklingen af CO₂ viste ikke et fald, men derimod en stigning med begge pesticider, og dermed var der ikke støtte til hypotesen vedrørende hæmning af afgrøderesters nedbrydning (afsnit 4.2.1). Det skal dog nævnes, at CO₂-udviklingen fra halm indsamlet fra kolonner med nedbør 4 uger efter behandlingen med fungicid var lavere, end hvor nedbør fandt sted efter 1 uge. Det er muligt, at den længere eksponeringstid faktisk førte til en effekt af fungicidet på svampe, der levede på afgrøderesterne.

På tidspunktet for pesticidbehandling var der gået mere end 6 mdr. siden høst, og letomsættelige dele af halmen var formentlig udvasket eller nedbrudt i denne periode (Christensen, 1986). Det er muligt, at nedbrydningsaktiviteten på dette tidspunkt foregår i dele af halmen uden kontakt til de tilførte pesticider. Eventuelle effekter på nedbrydningen af halm kunne også være blevet overskygget af stressinduceret metabolisme (Heilmann et al., 1995). Elsgaard et al. (2001) bestemte dosis-responskurver for en lang række mikrobielle indikatorer i jord behandlet med lineær alkylbenzen sulfonat (LAS) og fandt signifikante hæmninger for alle indikatorer med undtagelse af CO₂-udvikling, der i stedet voksede med stigende LAS-koncentration. Et mere direkte mål for nedbrydningen af afgrøderester baseret på kemiske analyser vil muligvis være nødvendigt for at påvise effekter af pesticidbehandling.

4.3.2 Aggregat-stabilitet

En hypotese i projektet var, at pesticider kan svække jordens struktur ved at hæmme biologiske mekanismer til stabilisering af aggregater, og at en effekt vil være mindre under direkte såning, hvor afgrøderester reducerer jordens eksponering for pesticider. Aggregat-stabilitet blev undersøgt på jord indsamlet i markforsøgets grundbehandlinger (tilført handelsgødning).

Der var en signifikant vekselvirkning mellem jordbearbejdning og pesticidbehandling for lerdispergering, som skyldtes en signifikant højere lerdispergering for PL-I sammenlignet med DS-F, DS-I og PL-K (Figur 6). Høj lerdispergering angiver lav strukturstabilitet. Årsagen til den negative effekt af insekticidbehandlingen i PL-jord kunne være biologiske effekter på svampe eller bakterier, som spiller en rolle for stabilisering af jordstruktur. Laatikainen & Heinonen-Tanski (2002) fandt, at 10 ppm α -cypermethrin hæmmede en fjerdedel af 64 undersøgte ectomycorrhizasvampe. I det aktuelle projekt blev α -cypermethrin tilført efter fortynding af Fastac 50 til behandling af underparcellerne, og koncentrationen i den færdige blanding var 15-30 ppm cypermethrin (beregninger ikke vist). Eftersom der sker en stærk sorption af α -cypermethrin til organisk stof, og organisk stof vekselvirker med jordminerale i opbygningen af aggregater, kan det ikke udelukkes at fysisk binding af insekticidet til jordaggregater påvirkede svampe og bakterier i dette miljø. Insekticidet havde ingen effekt på lerdispergeringen for direkte sået jord (DS), måske på grund af binding til planterester på jordoverfladen. Der var ingen effekt af insekticidbehandling på jordens strukturstabilitet målt ved vådsigtning, i modsætning til lerdispergeringsresultaterne. Svampes og bakteriers bidrag til stabilisering af jordstrukturen er relativt svage og kan ikke nødvendigvis modstå den fysiske stress af vådsigtning (Tang et al., 2011).

Der blev ikke fundet signifikante effekter af fungicidet med aktivstoffet mancozeb. Her sker dog en langt hurtigere nedbrydning af aktivstoffet end for α -cypermethrin. Endvidere kan henvises til resultaterne med potentiel nitrifikation (se afsnit 3.4.3), som også indikerede en begrænset kontakt mellem fungicidet og jorden i 0-5 cm dybde.

4.3.3 Risiko for udvaskning af pesticider

Projektets fjerde hypotese vedrørte risikoen for udvaskning af pesticider under nærmættede forhold; denne risiko forventedes at være mindre i jord under direkte såning sammenlignet med pløjet jord på grund af en mindre hydraulisk ledningsevne. Udvasningsrisikoen blev undersøgt i laboratorieforsøget med intakte kolonner fra markforsøgets kontrolparceller, som i laboratoriet blev behandlet med pesticider og simuleret nedbør under kontrollerede forhold.

En analyse af jordfysiske egenskaber viste i flere tilfælde en signifikant blokeffekt, til dels som vekselvirkning med jordbearbejdning (Figur 6 og Tabel 19). Som tidligere beskrevet var det blok 3 i markforsøget, der viste en uforklaret afvigelse fra generelle tendenser. Med henblik på at korrigere for blokeffekten med mindst mulig tab af effekter af dyrkningsfaktorer, blev luftpermeabilitet anvendt som co-variabel, eftersom der for denne variabel var en signifikant hovedeffekt af blok (Tabel 18). Der er i sandede jorder en tæt sammenhæng mellem luftpermeabilitet og volumen af makroporer, dvs. porer $>30\ \mu\text{m}$ (Blackwell et al., 1990). Jordens porøsitet har betydning for forekomsten af mikroleddyr, hvis levesteder (*habitable pore space*) defineres af den eksisterende jordstruktur. Der er således fundet en tæt sammenhæng mellem volumen af porer $>120\ \mu\text{m}$ og antallet af euedafiske (jordlevende) springhaler (Larsen et al., 2004), og tilsvarende en direkte sammenhæng mellem antallet af mider og volumen af 60-300 μm porer (Nielsen et al., 2008). Det var derfor sandsynligt, at der ville være en sammenhæng mellem luftpermeabilitet og forekomsten af mikroleddyr. Derudover er der en sammenhæng mellem luftpermeabilitet og vandinfiltration (Iversen et al., 2001), og luftpermeabilitet kan derfor også relateres til jordlevende organismers risiko for kontakt med pesticider. På baggrund af disse overvejelser blev det fundet relevant at benytte luftpermeabilitet til (delvis) korrektion for blokeffekter i analysen af jordlevende organismer og økosystemfunktioner, og dermed få mulighed for at tolke forskellene mellem gentagelser i forsøget.

Kolonne-forsøget indikerede, at tidspunktet for simuleret nedbør, 1 eller 4 uger, vil påvirke risikoen for udvaskning, sandsynligvis på grund af timingen af nedbør i forhold til nedbrydningen af pesticider (Tabel 20). Dette resultat bekræfter modelleringstudier af risikoen for udvaskning (Nolan et al., 2008; Lewan et al., 2009). Eksempelvis fandt Lewan et al. (2009), at nedbør de første fem dage efter pesticidtilførsel samt jordens vandindhold var de to vigtigste *predictors* for den maksimale pesticidkoncentration i drænastrømningen i et studie med simulering af flere års nedbørsmønstre og 50 forskellige behandlingstidspunkter. Den højeste observerede tracer-koncentration var generelt lavere i jord under DS end i pløjet jord (Figur 28). Jord under DS har typisk en større andel af mikroporer (Balesdent et al., 2000), hvilket også var tilfældet i dette forsøg (Tabel 18). Det højere udvasningsvolumen før genfindelse af 75% af den tilsatte tracer (Tabel 19) kunne således skyldes en højere grad af udveksling med immobil vand i jordens mikroporevolumen.

Nedbrydningsproduktet af fungicidet mancozeb, ETU, blev næsten udelukkende fundet ved nedbør 1 uge efter pesticidbehandlingen. ETUs skæbne i jordmiljøet bestemmes af fotolyse, sorptionsprocesser, abiotisk nedbrydning samt biologisk nedbrydning, som er den vigtigste proces (Möller and Hansen, 2012). Jacobsen & Bossi (1997) genfandt 30-40% ETU i iltede opslemninger af underjord efter 4 uger, men modellering har vist, at nedbrydning i underjorden afhænger af mikrobiel vækst, mens nedbrydningen af ETU i pløjelaget er langt hurtigere (Fomsgaard, 1997). Det er derfor sandsynligt, at biologisk nedbrydning var årsag til fraværet af ETU i afstrømmende vand efter 4 uger.

Der var ingen detekterbar udvaskning af α -cypermethrin. Stoffet har en meget lav opløselighed i vand og forventes derfor at adsorbere til jordpartikler. Det er et åbent spørgsmål, om den observerede destabilisering af aggregater (Figur 6) kunne øge risikoen for kolloidbåren transport af α -cypermethrin i jorden.

4.4 Trofisk struktur, regnorme og springhaler

Isotopanalyserne blotlagde de trofiske nicher for regnorme og springhaler (collemboler). Således kunne vi eftervise de kendte trofiske nicher for regnorme, som kan opdeles i jordædende (endogæiske) og førnædende (aneciske) arter (Schmidt *et al.* 2004), med de observerede nuanceforskelle der nu engang vil være, f.eks. mellem unge (juvenile) og adulte Stor orm, *L. terrestris*, hvor unge mindre dyr er mere endogæiske i deres fødevalg. Grundlæggende var de trofiske strukturer altså, som de kendes fra agroøkosystemet. Spørgsmålet er så hvorvidt pesticideffekter influeres af jordbearbejdning og gødskning? For Lang orm, *A. longa*, der som det fremgik af isotopsignaturen ændrede sit fødevalg som følge af pesticider, synes det at være tilfældet, og samme tendens blev observeret for Stor grå orm, *A. tuberculata*. Det var den urealistisk høje I+I dosis, der var udslagsgivende, men antagelig vil også lavere doser i et vist omfang påvirke fødevalg hos aneciske regnorme. De observerede pesticideffekter på *A. longa*'s populationsstørrelser (afsnit 3.4.1) modsvarer ændringerne i fødegrundlaget, som afspejlet i isotopsignaturen, og viser at pesticiderne også i felten har virkninger på andet end populationsparametre som overlevelse og reproduktion.

Springhalerne, som ligeledes udfylder mindst to forskellige nicher i overensstemmelse med den traditionelle opfattelse af livsformerne, der kan opdeles i hemiedafiske (delvist under jordoverfladen) og epedafiske (ved jordoverfladen), var markant påvirkede af gødningstypen, endog i højere grad end regnormene. De må derfor anses for at konsumere mere direkte af gyllen end regnormene.

Tidligere undersøgelser har vist, at vertikaldimensionen har afgørende indflydelse på pesticiders toksicitet (Krogh 1991, Krogh 1995). Da jordbundens vertikalprofil er afgørende forskellig i DS og PL, jvf. hypotese 1, med mere organisk materiale på jordoverfladen og ingen opblanding af jord med DS sammenlignet med PL, havde vi også forventet at pesticidernes virkningsmekanismer ville afhænge af jordbearbejdningsstrategi. Pesticiderne havde særligt effekter på hemiedafiske og epedafiske collemboler, som netop befinder sig i jordoverfladen. Jordbearbejdningen var således af markant betydning for pesticideffekterne på de samme mikroledyr, mens tilførsel af kvæggylle fremfor handelsgødning var uden betydning for pesticideffekterne.

Resultaterne viste, at de fire dyrkningssystemer, der var defineret ved kombinationer mellem handels- eller husdyrgødning samt direkte såning eller pløjning, repræsenterede to unikke jordbundsøkologiske situationer bestemt af gødningstypen. Mens pløjning og fravær af pløjning havde betydning for tætheden af organismer i jorden, gav jordbearbejdningen ikke markant udslag i den trofiske struktur. Selvom de biologiske elementer i jordbundsøkosystemet responderede på jordbearbejdningsskemaet, som det kunne ses på populationstæthederne, ændrede det altså ikke generelt deres trofiske position i fødenettet.

4.5 Perspektivering

4.5.1 Metodevalg

Dette projekt udnyttede et langvarigt jordbearbejdningsforsøg med fire gentagelser til at undersøge den relative betydning af pesticidbehandling og andre dyrkningsfaktorer, og vekselvirkninger imellem disse behandlinger. De mange og komplekse effekter, som blev påvist i forsøget, dokumenterer, at det er nødvendigt at vurdere pesticideffekter på baggrund af en konkret kontekst. Dette gælder dyrkningspraksis, såvel som andre kilder til variation. For alle organismegrupper blev der observeret signifikante effekter af prøvetagningstidspunkt, ofte med forskelle mellem årstider, men også mellem år. Der var i en del tilfælde også vekselvirkninger mellem sæson og år, dvs. sæsoneffekter, som var forskellige i de to forsøgsår (se f.eks. Tabel 9). Effekterne illustrerer at det var rigtigt at gennemføre prøvetagningsprogrammet i to forsøgsår for at isolere denne kilde til variation.

Undersøgelsen dokumenterede også, at andre dyrkningsfaktorer, dvs. jordbearbejdning og gødningstilførsel, kan have flere og mere markante effekter på jordlevende organismer end pesticidbehandlingerne, selv ved pesticidtilførsel langt over anbefalet dosis. Det udelukker ikke, at pesticider kan have haft negative effekter på enkelte arter eller grupper, som blev skjult af variation knyttet til andre dyrkningsfaktorer. Vi har ovenfor diskuteret disse dyrkningsfaktorer, og potentialet for vekselvirkninger med pesticider, med hensyn til effekter på jordlevende organismer. Det er en vigtig konklusion fra dette projekt, at såvel jordbearbejdning (metode,

tidspunkt) som gødskningspraksis (type, mængde, sammensætning) bør dokumenteres og inddrages i fortolkningen af fremtidige undersøgelser. Det må dog også konkluderes, at der for at isolere pesticideffekter fra andre dyrkningsfaktorer kan være behov for mere kontrollerede forhold, hvor både naturlig og dyrkningsmæssig variation kan minimeres.

Kolonneforsøget blev gennemført for at belyse effekten af nedbør under kontrollerede forhold, og det indikerede da også, at nedbørsmønstret kan påvirke observerede pesticideffekter. Men også her blev der arbejdet med naturligt lejret jord, og en signifikant blokeffekt viste, at en del af variationen fra marken var repræsenteret.

4.5.2 Forskningsbehov

Der blev på forhånd opstillet fire hypoteser, som ikke kunne afkræftes, men som heller ikke blev tydeligt understøttet. Der var overordnet set ikke forskel på pesticideffekter i jord under direkte såning sammenlignet med pløjet jord, og der blev ikke fundet dokumentation for en langsommere nedbrydning af halm på jordoverfladen. Store variationer mht. koncentrationer af mikroorganismer og fauna kan have overskygget eventuelle pesticideffekter. Det er også uklart, om der indenfor det 0-5 cm dybdeinterval, som blev undersøgt, kunne være gradienter i pesticideksponering. Det vil være relevant at undersøge fordelingen af pesticider og eventuelle toksiske effekter med større rumlig opløselighed.

Det var forventet, at tilførsel af husdyrgødning (gylle) ville dæmpe pesticideffekter, men igen blev der ikke fundet klar dokumentation for forskelle i pesticideffekter. Det komplicerede forsøgsdesign gjorde det vanskeligt at isolere vekselvirkninger mellem kvælstofkilde og pesticider, som kunne være indeholdt i nogle af de mange signifikante sæsoneffekter. Det må derfor anbefales, at mere kontrollerede forsøg anvendes til at belyse denne problemstilling.

Pesticidbehandling forventedes at kunne destabilisere jordens struktur via negative effekter på svampe- og bakterievækst, men i mindre grad i DS-jord, hvor afgrøderester ved overfladen ville opsamle en del af de tilførte pesticider. Der blev fundet en signifikant større grad af lerdispergering i pløjet jord, mens andre mål for aggregatdannelse i jorden ikke viste effekter. Selvom andre dyrkningsfaktorer, såsom den fysiske forstyrrelse efter jordbearbejdning og tilførslen af organisk stof, sandsynligvis er vigtigere for jordstruktur end pesticidtilførsel, er det relevant at anbefale, at pesticideffekter på aggregatdannelse undersøges yderligere, herunder den vertikale fordeling af eventuelle effekter.

Endelig var det ventet, at risikoen for udvaskning af pesticider ville være mindre i DS-jord end i pløjet jord på grund af et mindre makroporevolumen og lavere hydraulisk ledningsevne, men entydig støtte til denne hypotese blev ikke opnået. Vandinfiltrationen blev dog her kun undersøgt med en enkelt jordtype og et vandpotentiale. Sammenhængene mellem jordens vandmætningsgrad, jordbearbejdning og jordtype bør belyses i et fremtidigt projekt.

4.5.3 Regulering af pesticidanvendelse

Tilladelser og grænseværdier for pesticidanvendelse er baseret på dosis-responsforsøg med udvalgte testorganismer under forhold, som er fjernt fra det miljø, hvor eksponeringen vil ske i praksis. Resultaterne fra dette projekt har vist, at pesticideffekter i marken, sammenlignet med de forstyrrelser, som skyldes mere traditionelle dyrkningsfaktorer, er små, men målbare (i hvert fald ved de doser, som blev anvendt i projektet). Der var ingen hovedeffekter af pesticidanvendelse, men mange effekter, hvor pesticidbehandling vekselvirkede med andre faktorer. Effekterne af dyrkningspraksis varierede i mange tilfælde fra art til art, formentlig afhængigt af levested, fødepræferencer mm., eller viste sig som ændringer i det mikrobielle samfunds karakteristika, hvadenten disse så skyldtes stress-respons eller en ændret artssammensætning. En konsekvens af pesticidanvendelse kan således være et tab af biodiversitet, uden at det nødvendigvis påvirker antallet af organismer.

Tab af biodiversitet eller funktionel diversitet påvirker økosystemets robusthed, og dette bør der være øget opmærksomhed omkring, ikke mindst i lyset af forventede klimaforandringer, som vil øge det samlede miljømæssige stressniveau. Vi konkluderer, at anvendelsen af testorganismer og testsystemer udenfor

dyrkningssystemet bør suppleres med standardiserede metoder, som kan beskrive kompleksiteten/diversiteten af dyrkningsjordens biologi. Sådanne undersøgelser kan ikke danne grundlag for regulering, men er et nødvendigt redskab til at karakterisere og monitorere effekter af pesticider under realistiske forhold.

Referencer

- Abdollahi, L. & Munkholm, L.J. (2014) "Tillage system and cover crop effects on soil quality: I. Chemical, mechanical, and biological properties" *Soil Science Society of America Journal* 78, 262-270.
- Bailey, V.L., Peacock, A.D., Smith, J.L. & Bolton Jr., H. (2002) "Relationships between soil microbial biomass determined by chloroform fumigation – extraction, substrate-induced respiration, and phospholipid fatty acid analysis" *Soil Biology & Biochemistry* 34, 1385-1389.
- Balesdent, J., Chenu, C. & Balabane, M. (2000) "Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage" *Soil & Tillage Research* 53, 215-230.
- Barnes, B.T. & Ellis, F.B. (1979) "Effects of different methods of cultivation and direct drilling, and disposal of straw residues, on populations of earthworms" *Journal of Soil Science* 30, 669-679.
- Beare, M.H., Pohl, B.R., Wright, D.H. & Coleman, D.C. (1993) Residue placement and fungicide effects on fungal communities in conventional and no-tillage soils" *Soil Science Society of America Journal* 57, 392-399.
- Belser, L.W. & Mays, E.L. (1980) "Specific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments" *Applied & Environmental Microbiology* 39, 505-510.
- Bengtsson, J., Ahnstrom, J. & Weibull, A.C. (2005) "The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis" *Journal of Applied Ecology* 42, 261-269.
- Bondarenko, S., Putt, a., Kavanaugh, S., Poletika N. & Gan J. (2006) "Time dependence of phase distribution of pyrethroid insecticides in sediments" *Environmental Toxicology & Chemistry* 25, 3148-3154.
- Capelle, C., Schrader, S. & Brunotte, J. (2012) "Tillage-induced changes in the functional diversity of soil biota: A review with a focus on German data" *European Journal of Soil Biology* 50, 165-181.
- Chan, K.Y. (2001) "An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity: implications for functioning in soils" *Soil & Tillage Research* 57, 179-191.
- Chenu, C. (1989) "Influence of a fungal polysaccharide, scleroglucan, on clay microstructures" *Soil Biology & Biochemistry* 21, 299-305.
- Christensen, B.T. (1986) "Barley straw decomposition under field conditions: Effects of placement and initial nitrogen content on weight loss and nitrogen dynamics" *Soil Biology & Biochemistry* 5, 523-529.
- de Jong, F.M.W., van Beelen, P., Smit, C.E. & Montforts, M.H.M.M. (2006) "A guidance document of the Dutch Platform for the Assessment of Higher Tier Studies. Guidance for summarising earthworm field studies" RIVM report number 601506006/2006, pp. 47.
- De Silva, P.M.C.S., Pathiratne, A. & van Gestel, C.A.M. (2010) "Toxicity of chlorpyrifos, carbofuran, mancozeb and their formulations to the tropical earthworm *Perionyx excavates*" *Applied Soil Ecology* 44, 56-60.
- Dexter, A. R. & Kroesbergen, B. (1985) "Methodology for determination of tensile strength of soil aggregates" *Journal of Agricultural Engineering Research* 31, 139-147.
- Dill-Macky, R. & Jones, R.K. (2000) "The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat" *Plant Disease* 84, 71-76.
- Domsch, K.H., Jagnow, G. & Anderson, T.H. (1983) "An ecological concept for the assessment of side-effects of agrochemicals on soil microorganisms" *Residue Review* 86, 65-105.
- Doran, J.W. (1980) "Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage" *Soil Science Society of America Journal* 44, 765-771.
- Dubie, T.R., Greenwood, C.M., Godsey, C., Payton & M.E. (2011) "Effects of tillage on soil microarthropods in winter wheat" *Southwestern Entomologist* 36, 11-20.
- Edwards, C.A. & Lofty, R. (1977) "The Biology of Earthworms", 2. Udg. Chapman and Hall, London.
- Elsgaard, L., Petersen, S.O. & Deboz, K. (2001a) "Effect and risk assessment of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in agricultural soil. 1. Short-term effects on soil microbiology" *Environmental Toxicology & Chemistry* 20, 1656-1663.

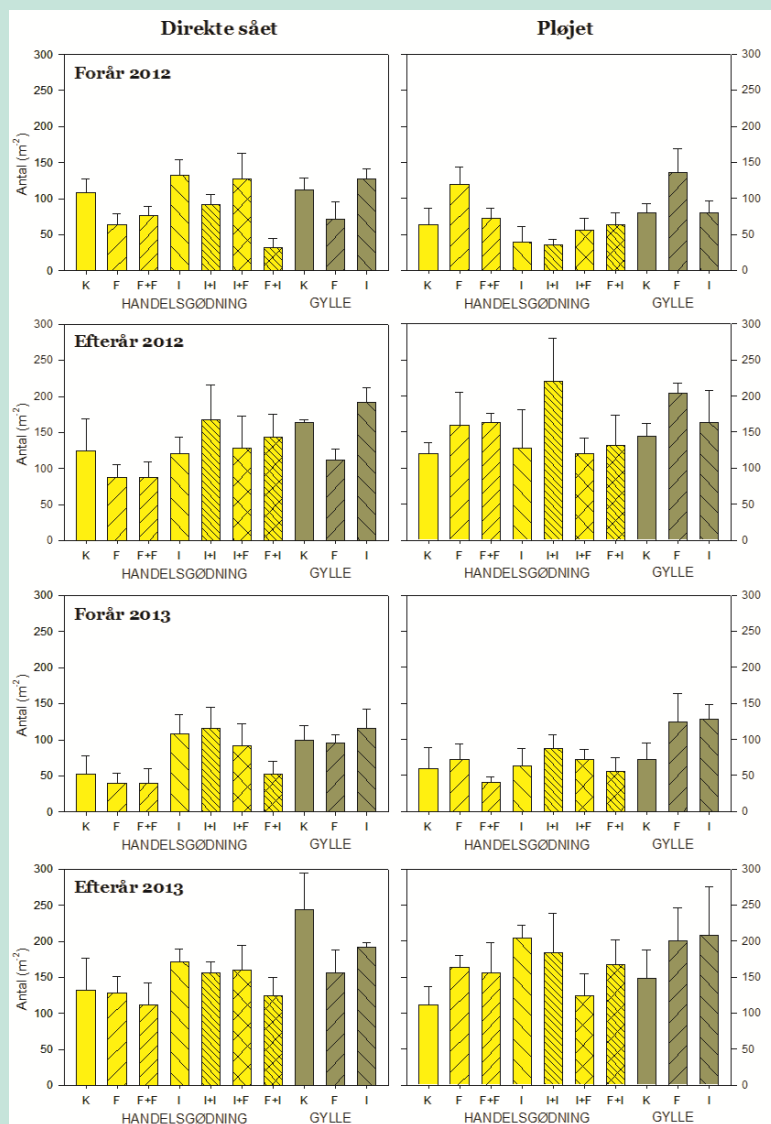
- Elsgaard, L., Petersen, S.O. & Deboz, K. (2001b) "Effect and risk assessment of linear alkylbenzenesulfonate (LAS) in agricultural soil. 2. Effects on soil microbiology as influenced by sewage sludge and incubation time" *Environmental Toxicology & Chemistry* 20, 1664-1672.
- Endlweber, K., Schädler, M. & Scheu, S. (2006) "Effects of foliar and soil insecticide applications on the collembolan community of an early set-aside arable field" *Applied Soil Ecology* 31, 136-146.
- Frampton, G.K. & van den Brink, P. (2007) "Collembola and macroarthropod community responses to carbamate, organophosphate and synthetic pyrethroid insecticides: Direct and indirect effects" *Environmental Pollution* 147, 14-25.
- Frampton, G.K. & Wratten, S.D. (2000) "Effects of benzimidazole and triazole fungicide use on epigeic species of collembola in wheat" *Ecotoxicology & Environmental Safety* 46, 64-72.
- Frostegård, Å. & Bååth, E. (1996) The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology & Fertility of Soils* 22, 59-65.
- Frostegård, Å., Tunlid, A. & Bååth, E. (2011) "Use and misuse of PLFA measurements in soils" *Soil Biology & Biochemistry* 43, 1621-1625.
- García-Santos, G. & Keller-Forrer, K. (2011) "Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia" *Chemosphere* 84, 651-656.
- Garland J.L. & Mills A.L. (1991) "Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization" *Applied and Environmental Microbiology* 57, 2351-2359.
- Garland J.L. & Mills A.L. (1994) "A community-level physiological approach for studying microbial communities" I: Ritz K., Dighton J. & Giller K.E. (red.): *Beyond the biomass*. Chichester, John Wiley & Sons, pp. 77-83.
- Giacomini, S.J., Machet, J.M., Boizard, H. & Recous, S. (2010) "Dynamics and recovery of fertilizer ¹⁵N in soil and winter wheat crop under minimum versus conventional tillage" *Soil & Tillage Research* 108, 51-58.
- Glæsner, N., Kjaergaard, C., Rubæk, G.H. & Magid, J. (2011) "Interactions of soil texture and placement of dairy slurry application: I. Flow characteristics and leaching of nonreactive components" *Journal of Environmental Quality* 40, 337-343.
- Guckert, J. B., Hood, M.A. & White, D.C. (1986) "Phospholipid ester-linked fatty acid profile changes during nutrient deprivation of *Vibrio cholerae*: increases in the trans:cis ratio and proportions of cyclopropyl fatty acids" *Applied & Environmental Microbiology* 52, 794-801.
- Guven, K., Yolcu, M., Gul-Guven, R., Erdogan, S. & De Pomerei, D. (2005) "The effects of organic pesticides on inner membrane permeability in *Escherichia coli* ML35" *Cell Biology & Toxicology* 21, 73-81.
- Haanstra, L., Doelman, P. & Oude Voshaar, J.H. (1985) "The use of sigmoidal dose-response curves in soil ecotoxicological research. *Plant & Soil* 84, 293-297.
- Hagedorn, F. & Bundt, M., (2002) "The age of preferential flow paths" *Geoderma* 108, 119-132.
- Hartnik, T., Sverdrup, L. E. & Jensen, J. (2008) "Toxicity of the pesticide alpha-cypermethrin to four soil nontarget invertebrates and implications for risk assessment" *Environmental Toxicology & Chemistry* 27, 1408-1415.
- Harwood, J.L. & Russell, N.J. (1984) "Lipids in Plants and Microbes" George Allen & Unwin, London.
- Heilmann, B., Lebuhn, M. & Beese, F. (1995) "Methods for the investigation of metabolic activities and shifts in the microbial community in a soil treated with a fungicide" *Biology & Fertility of Soils* 19, 186-192.
- Heipieper, H.J., Diefenbach, R. & Keweloh, H. (1992) "Conversion of cis unsaturated fatty acids to trans, a possible mechanism for the protection of phenol-degrading *Pseudomonas putida* P8 from substrate toxicity" *Applied & Environmental Microbiology* 58, 1847-1852.
- Heipieper, H.J., Meinhardt, F. & Segura, A. (2003) "The cis-trans isomerase of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas* and *Vibrio*: biochemistry, molecular biology and physiological function of a unique stress adaptive mechanism" *FEMS Microbiology Letters* 229, 1-7.
- House, G.J. & Parmalee, R.W. (1985) "Comparison of soil arthropods and earthworms from conventional and no-tillage agroecosystems" *Soil & Tillage Research* 5, 351-360.
- Iversen, B.V., Moldrup, P., Schjønning, P. & Loll, P. (2001) "Air and water permeability in differently textured soils at two measurement scales" *Soil Science* 166, 643-659.
- Jacobsen, O.S. & Bossi, R. (1997) "Degradation of ethylenethiourea (ETU) in oxic and anoxic sandy aquifers" *FEMS Microbiology Reviews* 20, 539-544.

- Kadouri, D., Jurkevitch, E., Okon, Y. & Castro-Sowinski, S. (2005) "Ecological and agricultural significance of bacterial polyhydroxyalkanoates" *Critical Reviews in Microbiology* 31, 55-67.
- Kadziene, G., Munkholm, L.J. & Mutegei, J.K. (2011) "Root growth conditions in the topsoil as affected by tillage intensity" *Geoderma* 166, 66-73.
- Kaneda, T. (1991) "Iso- and anteiso fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance" *Microbiological Reviews* 55, 288-302.
- Kay, B.D. & VandenBygaart, A.J. (2002) "Conservation tillage and depth stratification of porosity and soil organic matter" *Soil & Tillage Research* 66, 107-118.
- Kjaergaard, C., Poulsen, T.G., Moldrup, P., & de Jonge, L.W. (2004a) "Colloid mobilization and transport in undisturbed soil columns. I. Pore structure characterization and tritium transport" *Vadose Zone Journal* 3, 413-423.
- Kjaergaard, C., Moldrup, P., de Jonge, L.W. & Jacobsen, O.H. (2004b) "Colloid mobilization and transport in undisturbed soil columns. II. The role of colloid dispersibility and preferential flow" *Vadose Zone Journal* 3, 424-433.
- Kjaergaard, C., Rubæk, G.H. & Heckrath, G. (2010) "Autumn tillage increases phosphorus leaching from fine textured soils" *International Phosphorus Workshop* 6, September 2010, Sevilla, Spain.
- Kladivko, E.J. (2001) "Tillage system and soil ecology" *Soil & Tillage Research* 61, 61-76.
- Korobushkin, D.I., Gongalsky, K.B. & Tiunov, A.V. (2014). Isotopic niche ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ values) of soil macrofauna in temperate forests. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 28, 1303-1311.
- Laatikainen, T. & Heinonen-Tanski, H. (2002) "Mycorrhizal growth in pure cultures in the presence of pesticides" *Microbiological Research* 157, 127-137.
- Lavelle, P. (1998) "Burrowing activity of *Aporrectodea rosea*" *Pedobiologia* 42, 97-101.
- Legendre, P. & Legendre, L. (1998) "Numerical ecology". 2nd English edition. Elsevier Science BV, Amsterdam.
- Legendre, P., Oksanen, J. & ter Braak, C.J.F. (2011) "Testing the significance of canonical axes in redundancy analysis" *Methods in Ecology & Evolution* 2, 269-277.
- Lewan, E., Kreuger, J. & Jarvis N. (2009) "Implications of precipitation patterns and antecedent soil water content for leaching of pesticides from arable land" *Agricultural Water Management* 96, 1633-1640.
- Lichtenberg D. (1985) "Characterization of the solubilization of lipid bilayers by surfactants" *Biochimica et Biophysica Acta* 821, 470-478.
- Lichtenberg, D., Ahyayauch, H. & Goni, F.M. (2013) "The mechanism of detergent solubilization of lipid bilayers" *Biophysical Journal* 105, 289-299.
- Lofs-Holmin, A. (1983) "Reproduction and growth of common arable land and pasture species of earthworms (Lumbricidae) in laboratory cultures" *Swedish Journal of Agricultural Research* 13, 31-37.
- Matavulj, M. & Molitoris, H. P. (1992) "Fungal degradation of polyhydroxyalkanoates and a semiquantitative assay for screening their degradation by terrestrial fungi" *FEMS Microbiology Reviews* 103, 323-332.
- Miljøstyrelsen (2011) "Bekæmpelsesmiddelstatistik 2010" *Orientering fra Miljøstyrelsen* nr. 5/2011, 48 pp.
- Moat, A.G., Foster, J.W. & Spector, M.P. (2002) "Microbial stress responses" *Microbial Physiology*, Kap. 18. Wiley-Liss, Inc., pp. 582-611.
- Munkholm, L.J., Schjøning, P., Rasmussen, K.J. & Tanderup, K. (2003) "Spatial and temporal effects of direct drilling on soil structure in the seedling environment" *Soil & Tillage Research* 71, 163-173.
- Möller, A. & Hansen, A.M. (2012) Dynamics of xenobiotic transformation processes in soil systems: A zero-dimensional system model applied to ethylenethiourea" *Applied Geochemistry* 27, 1807-1813.
- Newsome, S.D., Martinez del Rio, C., Bearhop, S. & Phillips, D.L. (2007). A niche for isotopic ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5, 429-436.
- Nolan, B.T., Dubus, I.G., Surdyk, N., Fowler, H.J., Burton, A., Hollis, J.M., Reichenberger, S. & Jarvis, N.J. (2008) "Identification of key climatic factors regulating the transport of pesticides in leaching and to tile drains" *Pest Management Science* 64, 933-944.
- Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y., Hedde, M. & Vandenbulcke, F. (2014) "Pesticides and earthworms. A review" *Agronomy & Sustainable Development* 34, 199-228.
- Perkins, M.J., McDonald, R.A., van Veen, F.J.F., Kelly, S.D., Rees, G. & Bearhop, S. (2014) "Application of Nitrogen and Carbon Stable Isotopes ($\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$) to Quantify Food Chain Length and Trophic Structure" *PLoS ONE* 9, e93281.

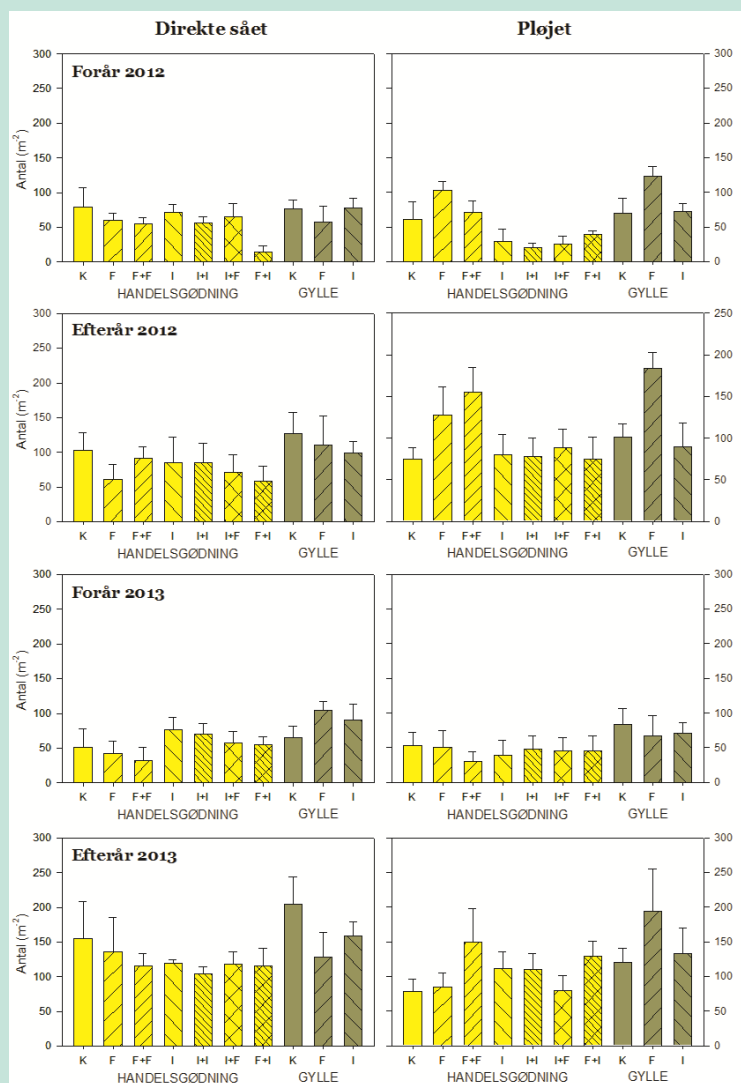
- Petersen, H. (2002) "Effects of non-inverting deep tillage vs. conventional ploughing on collembolan populations in an organic wheat field" *European Journal of Soil Biology* 38, 177-180.
- Petersen, S.O. & Klug, M.J. (1994) "Effects of sieving, storage, and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of a soil microbial community" *Applied & Environmental Microbiology* 60, 2421-2430.
- Petersen, S.O., Frohne, P.S. & Kennedy, A.C. (2002) "Dynamics of a soil microbial community under spring wheat" *Soil Science Society of America Journal* 66, 826-833.
- Petersen, S.O., Schjønning, P., Thomsen, I.K. & Christensen, B.T. (2008) Nitrous oxide evolution from structurally intact soil as influenced by tillage and soil water content. *Soil Biology & Biochemistry* 40, 967-977.
- Petz, W. & Foissner, W. (1989) "The effects of mancozeb and lindane on the soil microfauna of a spruce forest: A field study using a complete randomized block design" *Biology & Fertility of Soils* 7, 225-231.
- Pojasok, T. & Kay, B.D. (1990) "Assessment of a combination of wet sieving and turbidimetry to characterize the structural stability of moist aggregates" *Canadian Journal of Soil Science* 70, 33-42.
- Potapov, A.M., Semenina, E.E., Kurakov, A.V. & Tiunov, A.V. (2013) "Large $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ and small $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ isotope fractionation in an experimental detrital foodweb (litter-fungi-collembolans)" *Ecological Research* 28, 1069-1079.
- Ryan, M. (1999) "Is an enhanced soil biological community, relative to conventional neighbours, a consistent feature of alternative (organic and biodynamic) agricultural systems?" *Biological Agriculture & Horticulture* 17, 131-144.
- Sanchez, C. (2009) "Lignocellulosic residues: Biodegradation and bioconversion by fungi" *Biotechnology Advances* 27, 185-194.
- Schjønning, P. & Thomsen, I.K. (2013) "Shallow tillage effects on soil properties for temperate-region hard-setting soils" *Soil & Tillage Research* 132, 12-20.
- Sechi, V., D'Annibale, A., Maraldo, K., Johansen, A., Bossi, R., Jensen, J. & Krogh, P.H. (2014a) "Species composition of a soil invertebrate multi-species test system determines the level of ecotoxicity" *Environmental Pollution* 184, 586-596.
- Sechi, V., D'Annibale, A., Ambus, P., Sárosy, Z., Krogh, P.H., Eriksen, J. & Holmstrup, M., (2014b) "Collembola feeding habits and niche specialization in agricultural grasslands of different composition" *Soil Biology & Biochemistry* 74, 31-38.
- Soane, B.D., Ball, B.C., Arvidsson, J., Basch, G., Moreno, F. & Roger-Estrade, J. (2012) "No-till in northern, western and south-western Europe: A review of problems and opportunities for crop production and the environment" *Soil & Tillage Research* 118, 66-87.
- Solomon, K.R., Giddings, J.M. & Maund, S.J. (2001) "Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: I. Distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data" *Environmental Toxicology & Chemistry* 20, 652-659.
- Song, W. & Guo, M. (2014) "Residual veterinary farmaceuticals in animal manures and their environmental behaviours in soils" I: He, Z. & Zhang, H. (red.) "Applied Manure and Nutrient Chemistry for Sustainable Agriculture & Environment" Springer, Dordrecht, Holland.
- Steinkellner, S. & Langer, I. (2004) "Impact of tillage on the incidence of *Fusarium* spp. in soil" *Plant & Soil* 267, 13-22.
- Styrishave, B., Hartnik, T., Christensen, P., Andersen, O. & Jensen, J. (2010) "Influence of soil type and organic matter content on the bioavailability, accumulation, and toxicity of alpha-cypermethrin in the springtail *Folsomia candida*" *Environmental Toxicology & Chemistry* 29, 1084-1090.
- Sukul, P., Lamshöft, M., Zühlke, S. & Spiteller, M. (2008) " Sorption and desorption of sulfadiazine in soil and soil-manure systems" *Chemosphere* 73, 1344-1350.
- Tang, J., Mo, Y., Zhang, J. & Zhang, R. (2011) "Influence of biological aggregating agents associated with microbial population on soil aggregate stability" *Applied Soil Ecology* 47, 153-159.
- Tejada, M., Gomez, I., del Toro, M. 2011. Use of organic amendments as a bioremediation strategy to reduce the bioavailability of chlopyrifos insecticide in soils. Effects on soil biology. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74: 2075-2081.
- Traugott, M., Kamenova, S., Ruess, L., Seeber, J., Plantegenest, M. (2013) "Chapter Three - Empirically Characterising Trophic Networks: What Emerging DNA-Based Methods, Stable Isotope and Fatty Acid

- Analyses Can Offer" I: Guy, W., David, A.B. (red.), *Advances in Ecological Research*. Academic Press, pp. 177-224.
- Unell, M., Kabelitz, M., Jansson, J.K. & Heipieper, H.J. (2006) "Adaptation of the psychrotroph *Arthrobacter chlorophenolicus* A6 to growth temperature and the presence of phenols by changes in the anteiso/iso ratio of branched fatty acids" *FEMS Microbiology Letters* 266, 138-143.
- Van Beelen, P. & Doelman, P. (1997) "Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment" *Chemosphere* 34, 455-499.
- Vermeulen, L.A., Reinecke, A.J. & Reinecke, S.A. (2000) "Evaluation of the fungicide manganese-zinc ethylene bis(dithiocarbamate) (Mancozeb) for sublethal and acute toxicity to *Eisenia fetida* (Oligochaeta)" *Ecotoxicology and Environmental Safety* 48, 183-189.
- Vinther, F.P., Mortensen, G.K. & Elsgaard, L. (2003) "Effects of linear alkylbenzene sulfonates on functional diversity of microbial communities in soil" *Environmental Toxicology & Chemistry* 22, 35-39.
- Wang, J.G. & Bakken, L.R. (1998) "Screening of soil bacteria for poly- β -hydroxybutyric acid production and its role in the survival of starvation" *Microbial Ecology* 35, 94-101.
- Whalen, J.K. & Sampedro, L. (2010) "Soil Ecology and Management". CAB International, Oxforshire, UK.
- Yi, C.L., Kaul, H.P., Kubler, E. & Aufhammer, W. (2002) "Populations of *Fusarium graminearum* on crop residues as affected by incorporation depth, nitrogen and fungicide application" *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 109, 252-263.
- Xie, W., Zhou, J., Chen, X. & Wang, H. (2007) "Effect of long-term fertilization on the persistence of cypermethrin in soil" *Better Crops* 91, 10-11.
- Zak J.C., Willig M.R., Moorhead D.L. & Wildman H.G. (1994) "Functional diversity of microbial communities a quantitative approach" *Soil Biology & Biochemistry* 26, 1101-1108.

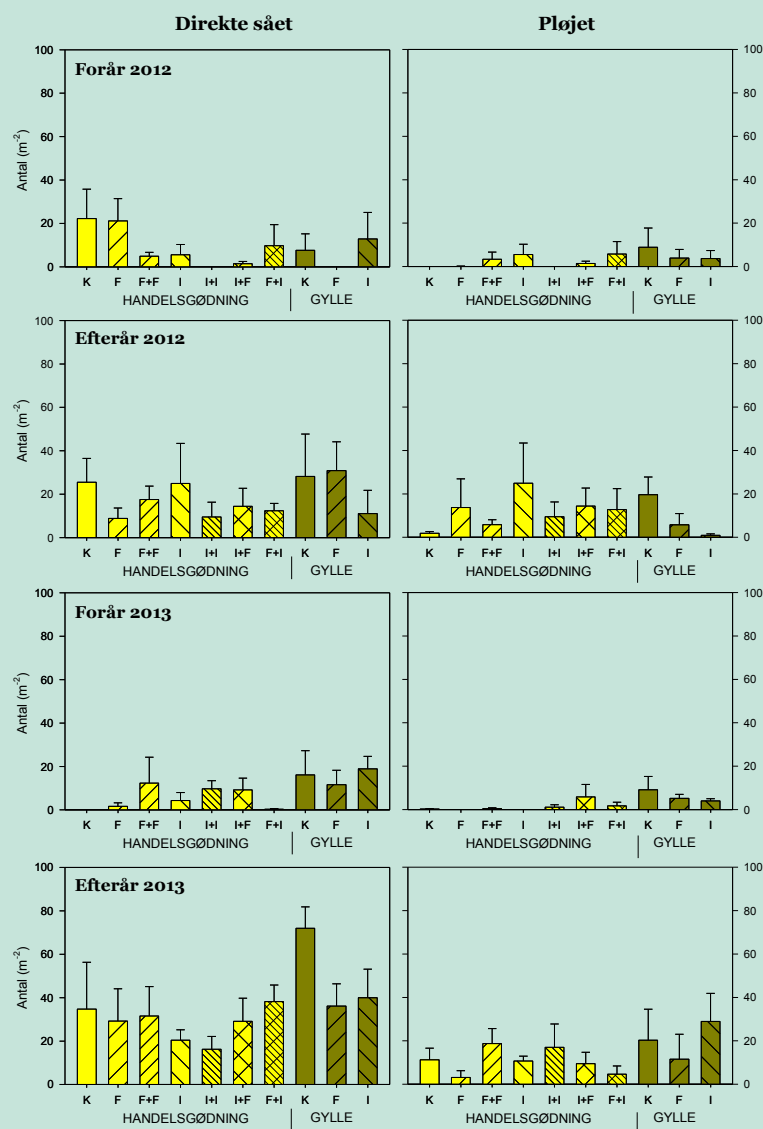
Bilag 1: Supplerende figurer



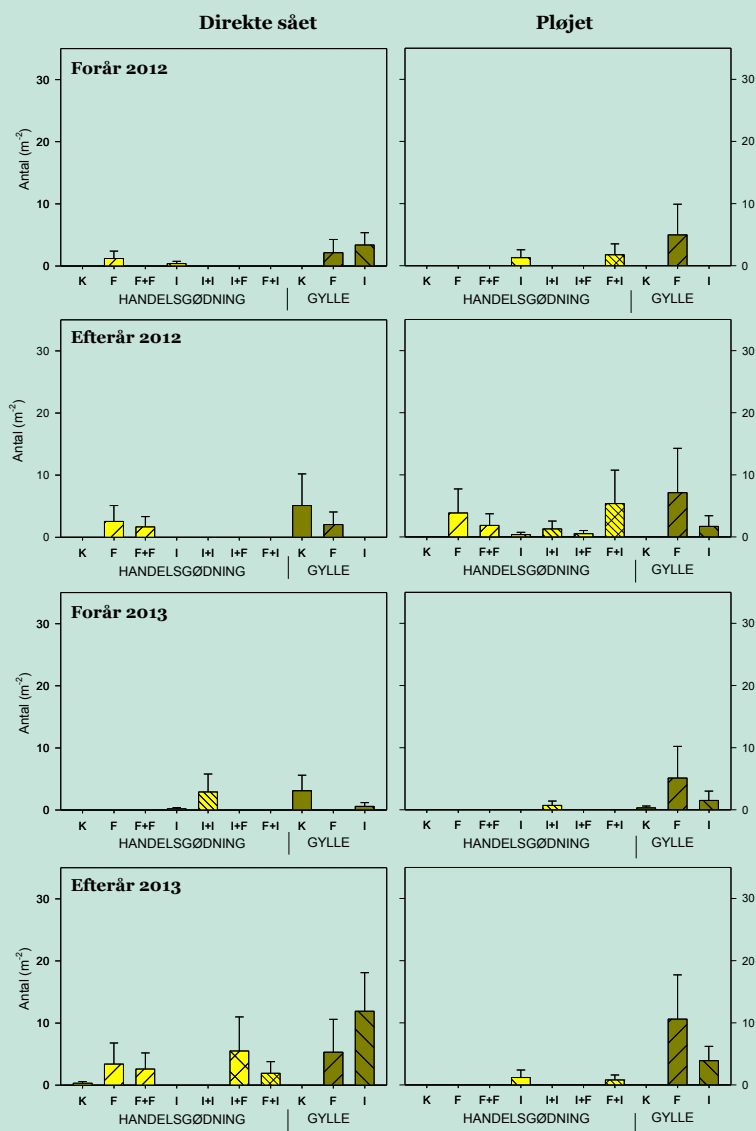
FIGUR 34
REGNORME (ANTAL M⁻²) IALT I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



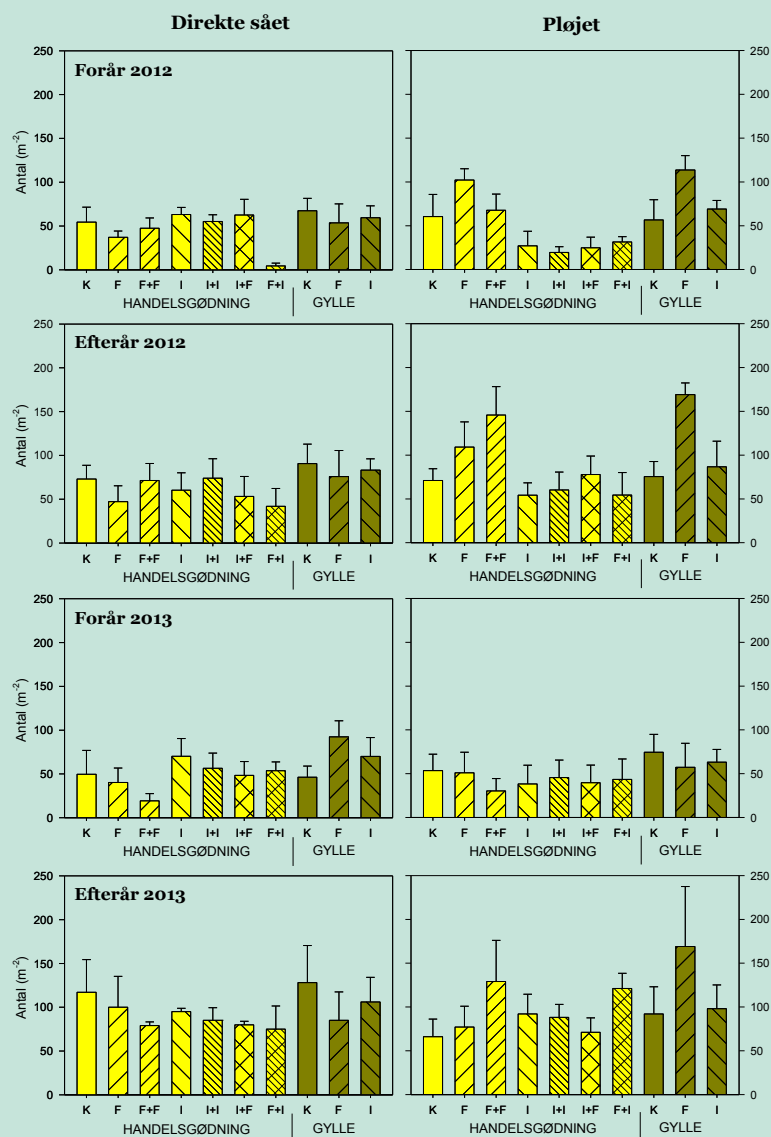
FIGUR 35
FRISKVÆGT (G M⁻²) AF TOTAL ANTAL REGNORME IALT I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



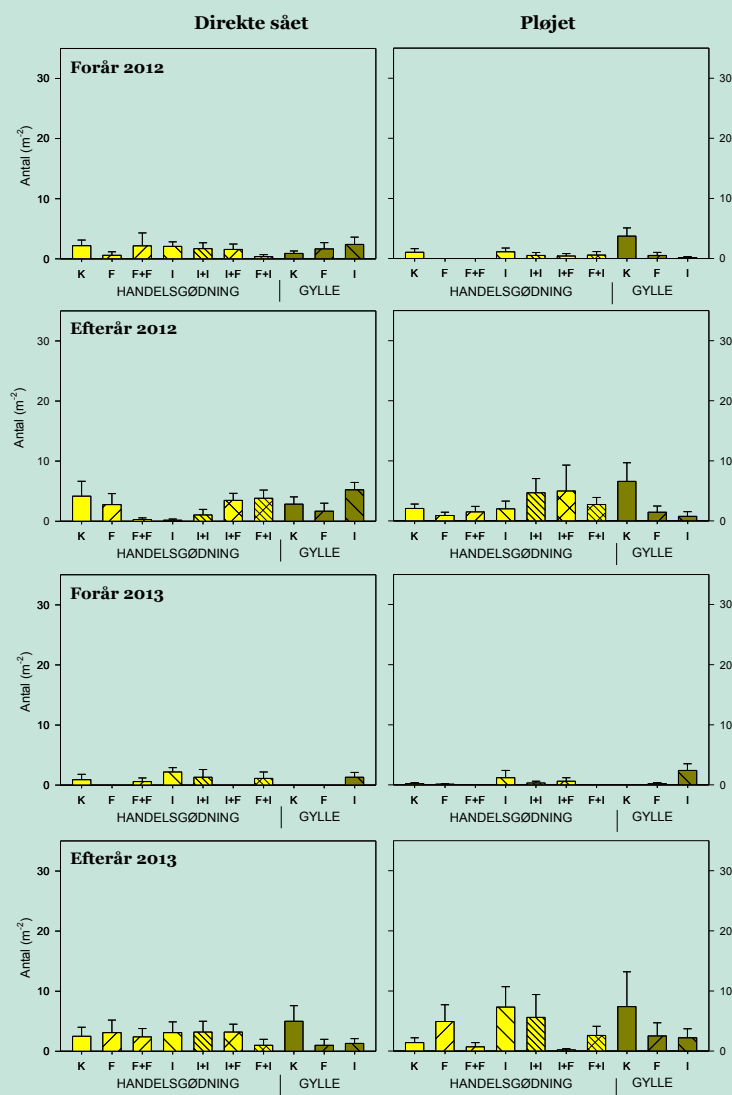
FIGUR 36
FRISKVÆGT (G M⁻²) AF *L. TERRESTRIS* I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. L BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



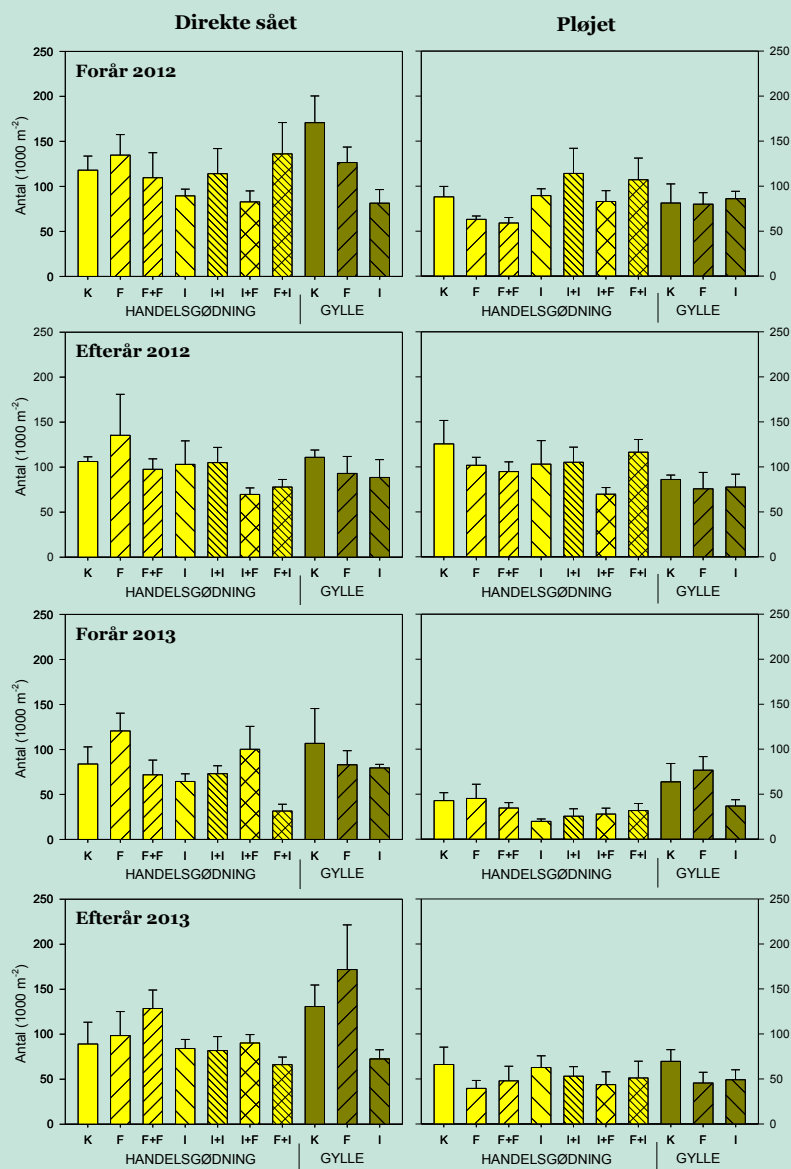
FIGUR 37
FRISKVÆGT ($G \cdot M^{-2}$) FOR A. TUBERCULATA I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN ($N = 4$).



FIGUR 38
FRISKVÆGT (G M⁻²) FOR *A. LONGA* I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

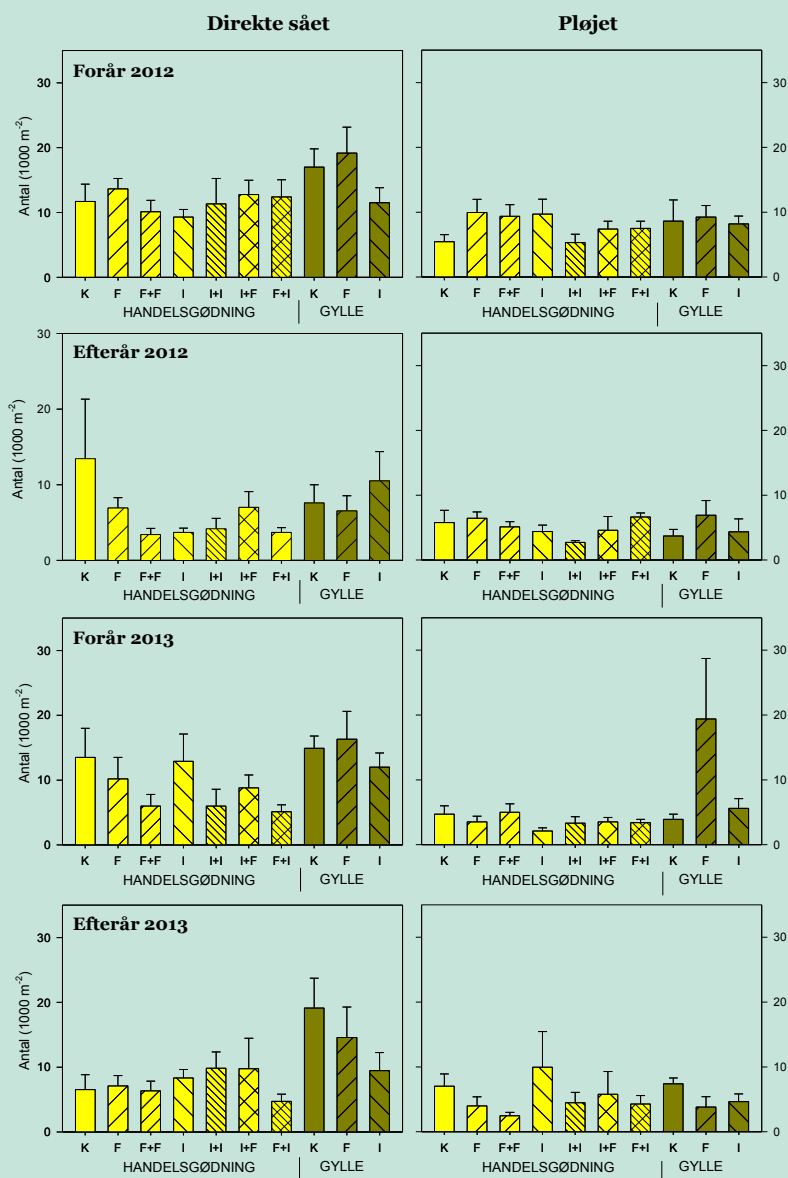


FIGUR 39
FRISKVÆGT (G M^{-2}) FOR A. ROSEA I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN ($N = 4$).

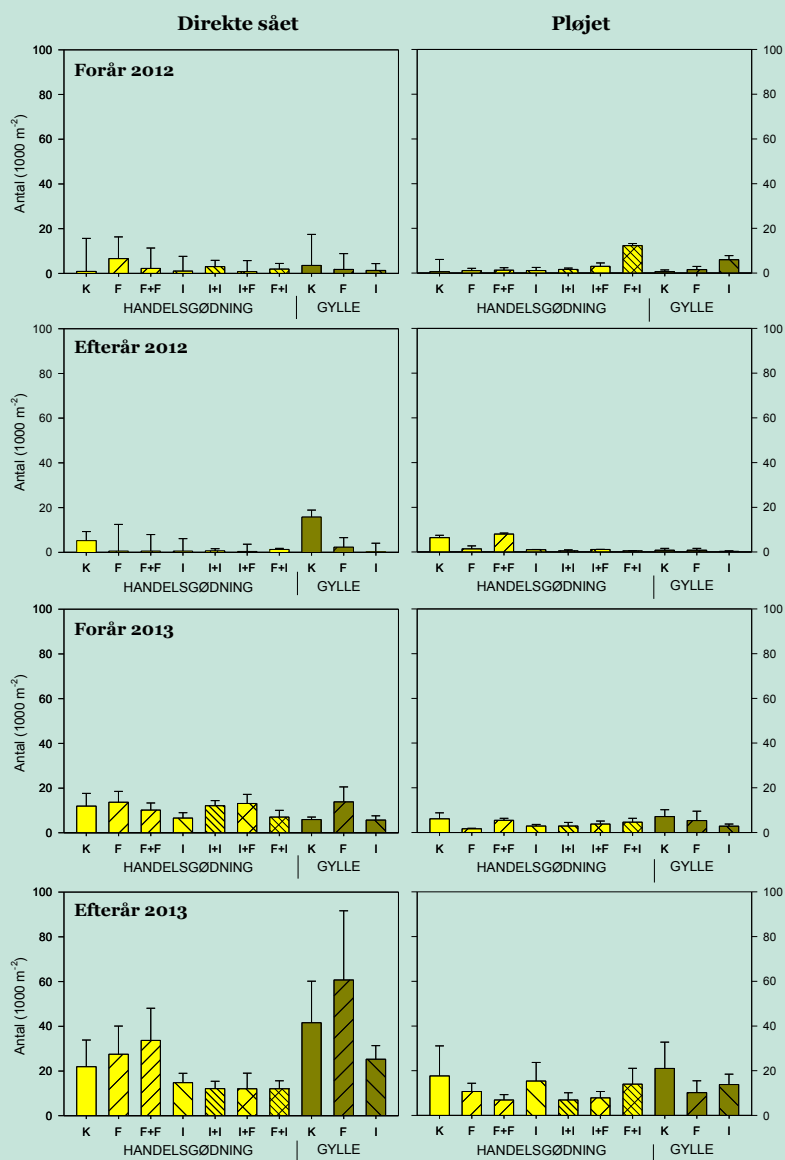


FIGUR 40

DET SAMLEDE ANTAL MIKROLEDDYR I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

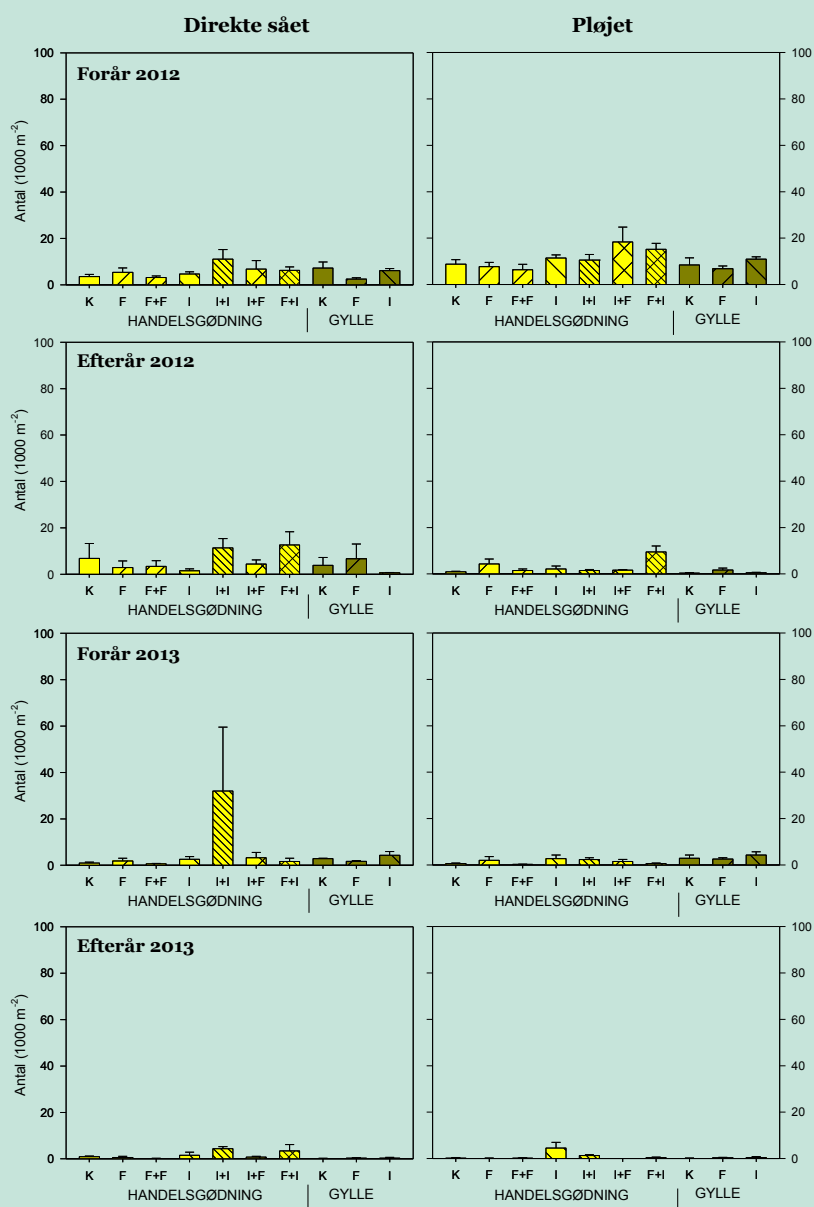


FIGUR 41
 ANTAL AF MIDE-ORDENEN GAMASIDA (1000 INDIVIDUER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



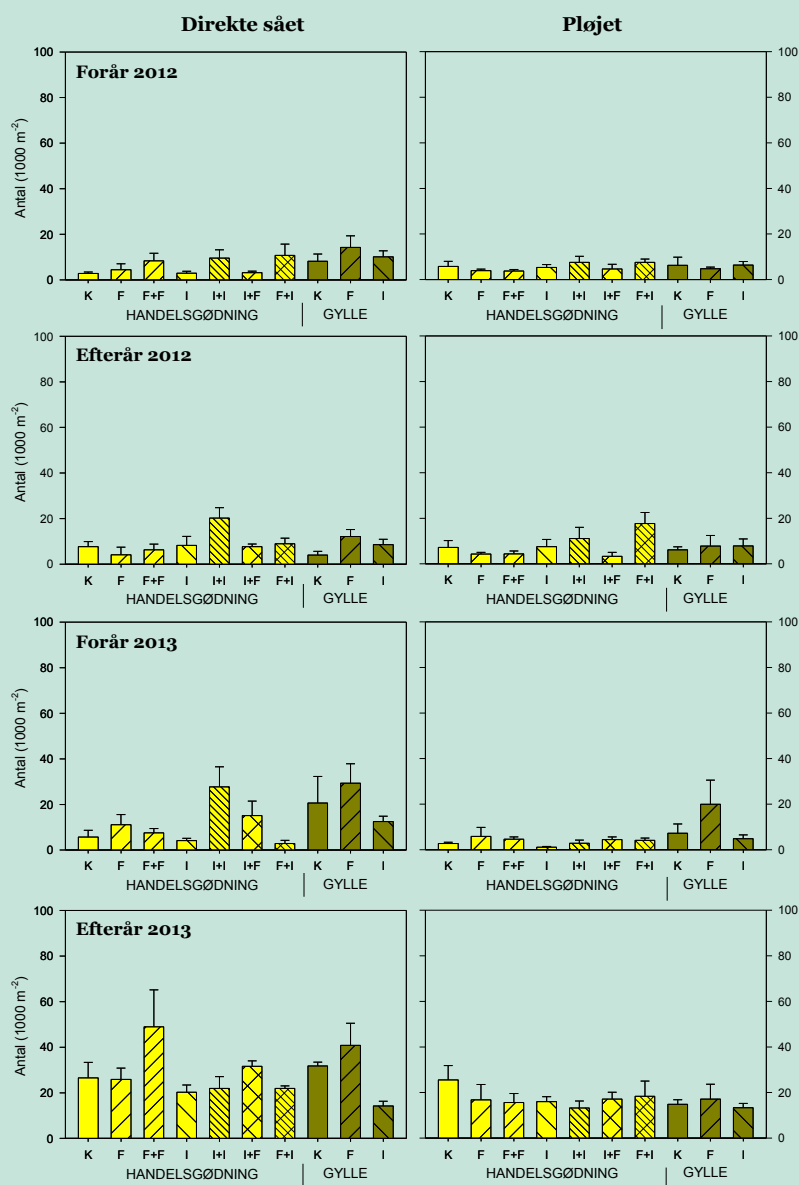
FIGUR 42

ANTAL AF MIDE-ORDENEN PYGMEPHORIDAE (PROSTIGMATA) (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



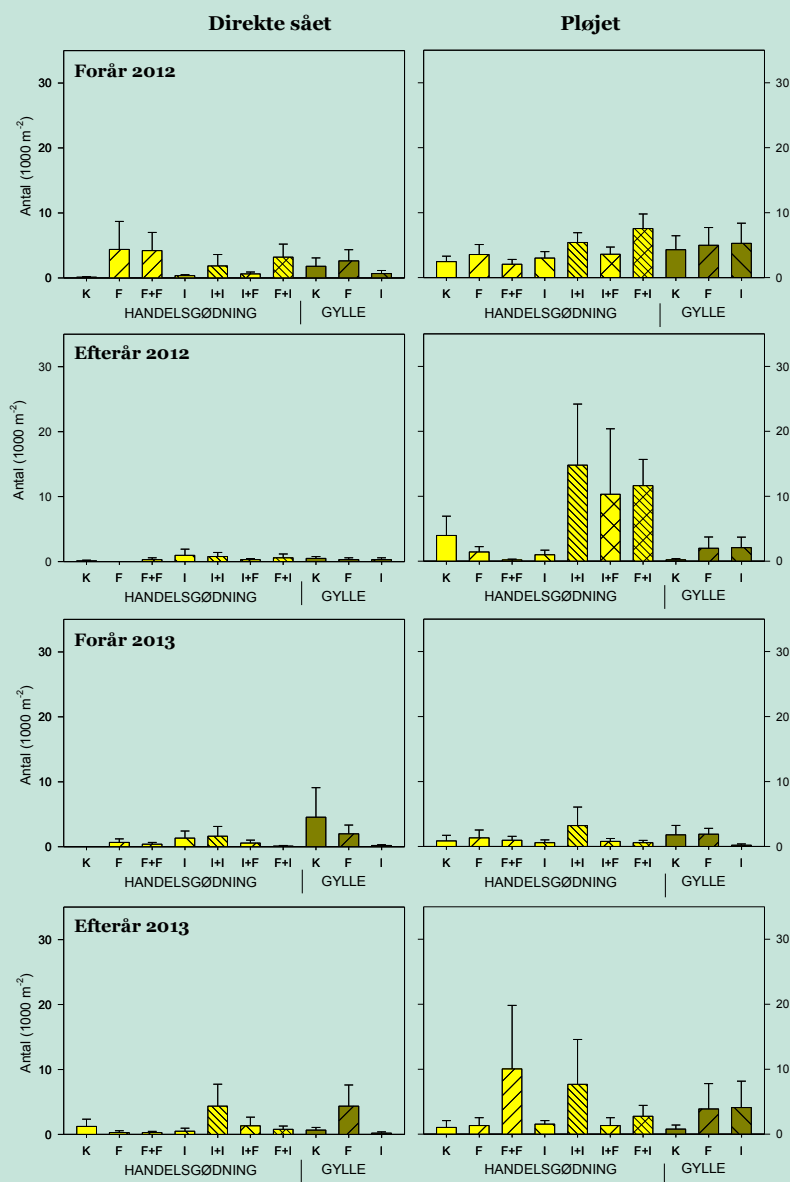
FIGUR 43

ANTAL AF SPRINGHALEN *ISOTOMA ANGLICANA* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

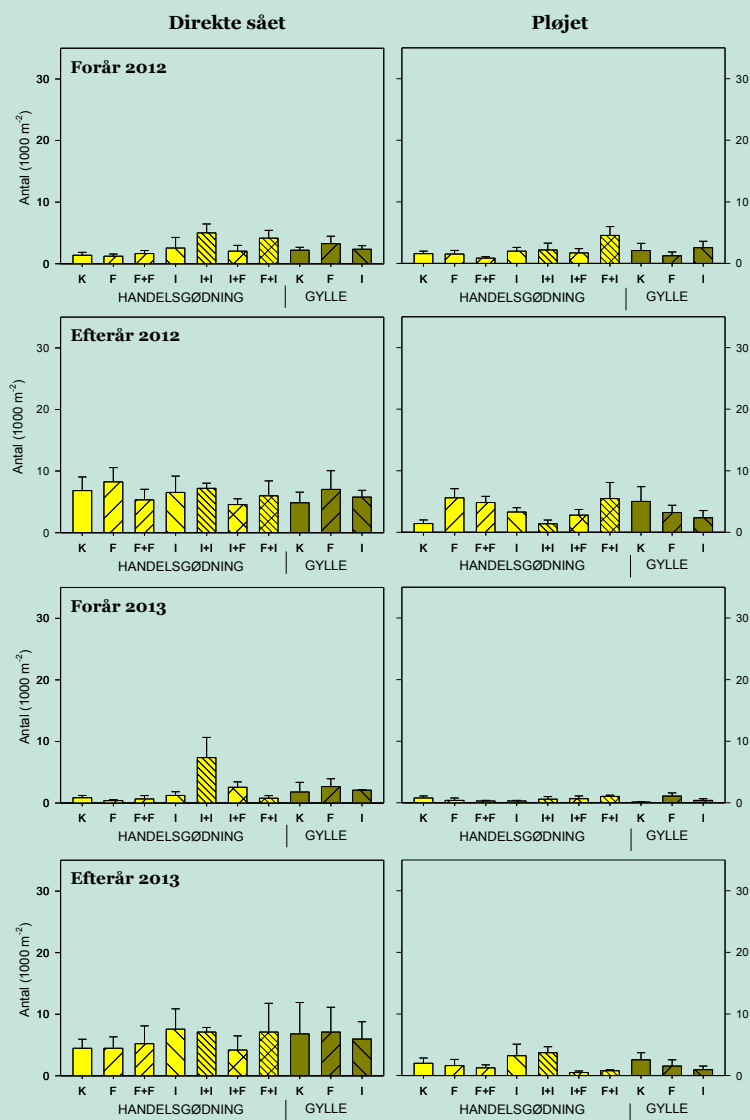


FIGUR 44

ANTAL AF SPRINGHALEN *PARISOTOMA NOTABILIS* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

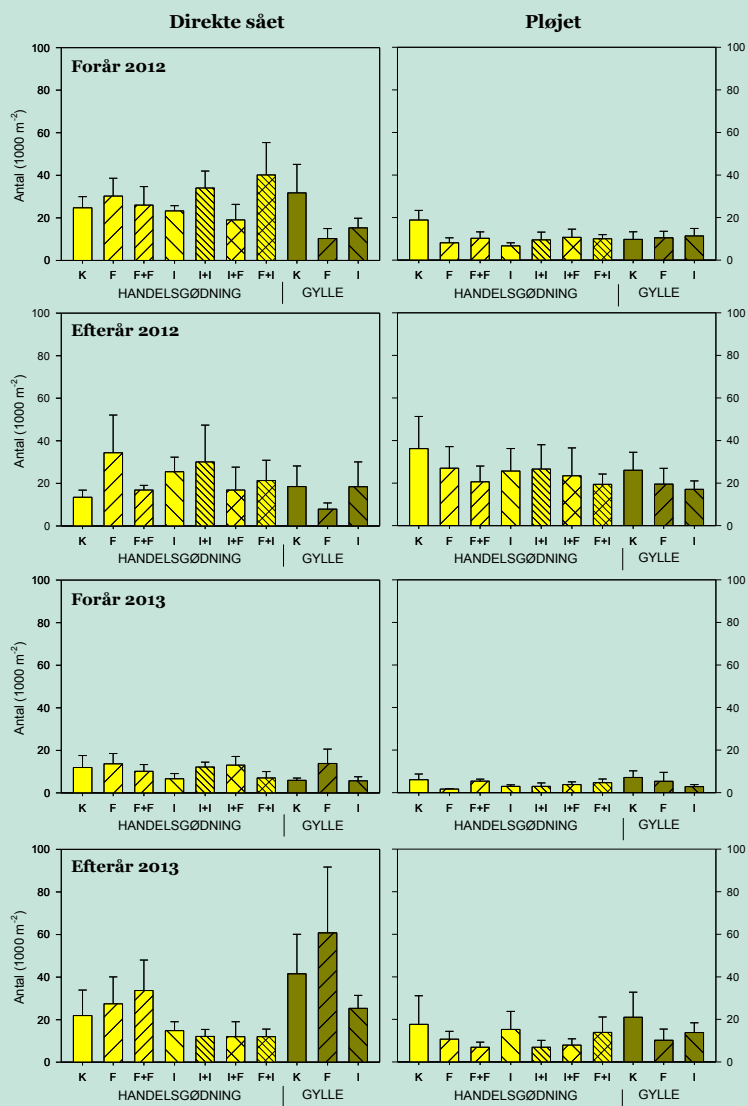


FIGUR 45
 ANTAL AF SPRINGHALEN *CRYPTOPYGUS THERMOPHILUS* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



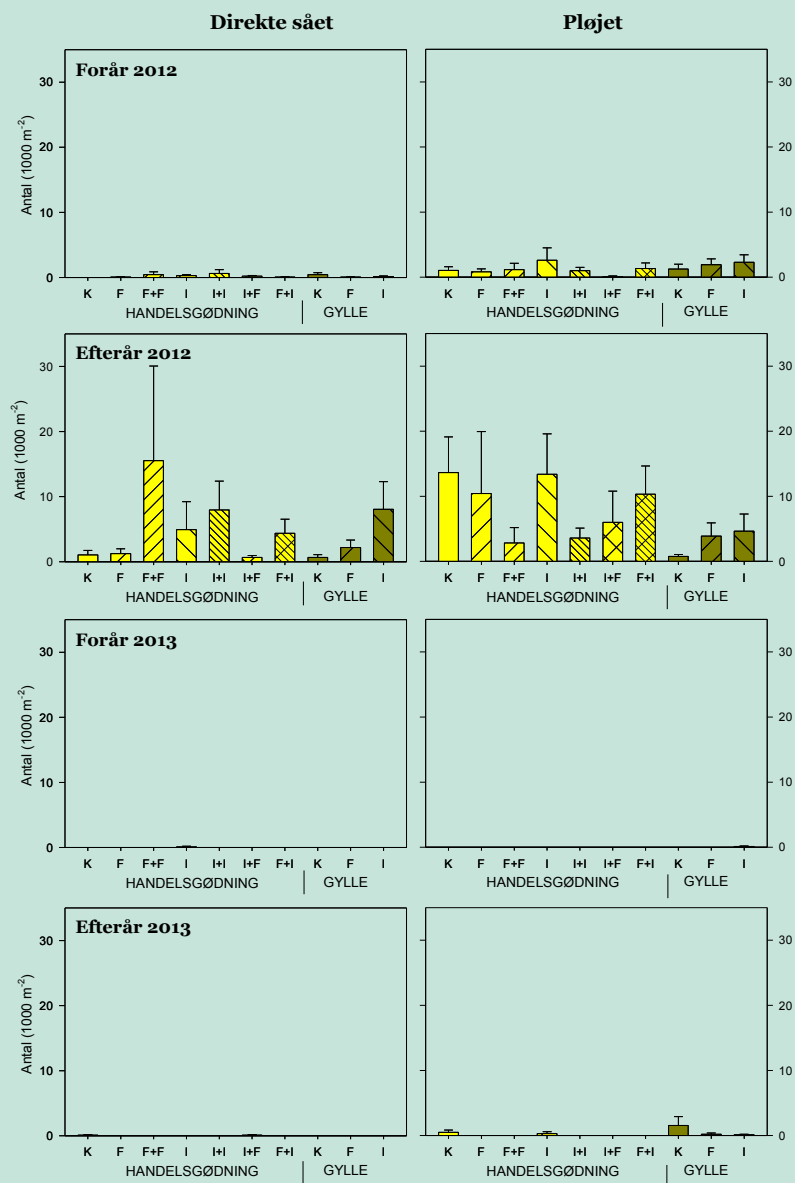
FIGUR 46

ANTAL AF SPRINGHALEN *LEPIDOCYRTUS CYANEUS* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



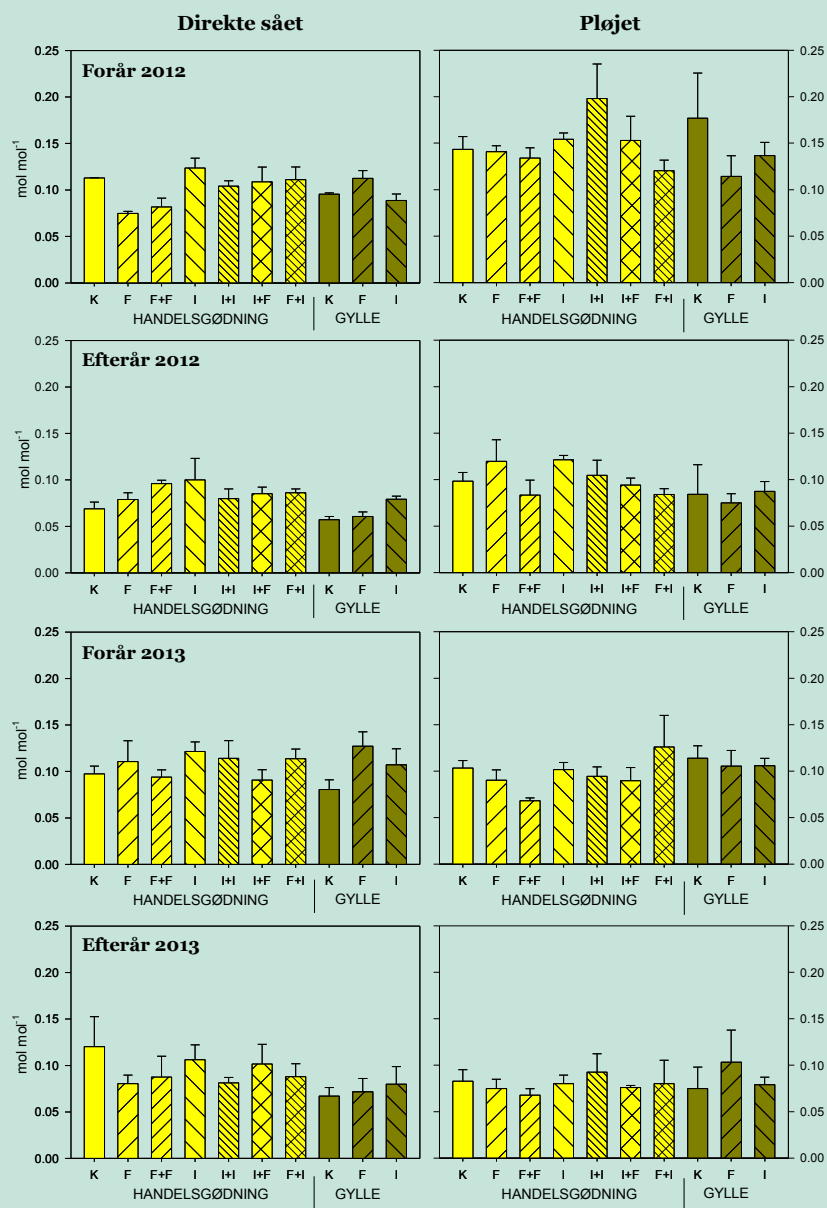
FIGUR 47
 ANTAL AF SPRINGHALEN *MESOPHORURA* SP. (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

).

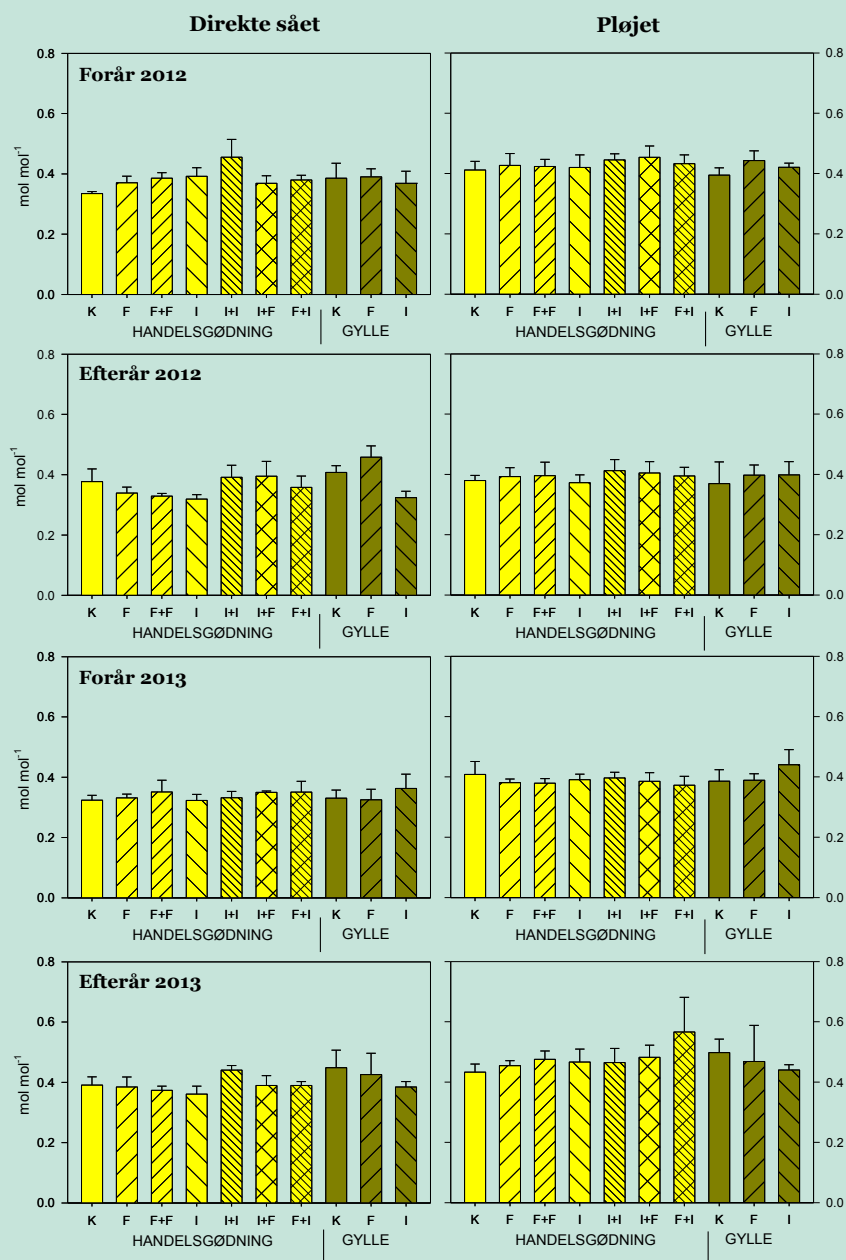


FIGUR 48

ANTAL AF SPRINGHALEN *ISOTOMURUS PALUSTRIS* (1000 INDIVIDER M⁻²) I DE TO FORSØGSÅR, HHV. FORÅR OG EFTERÅR. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

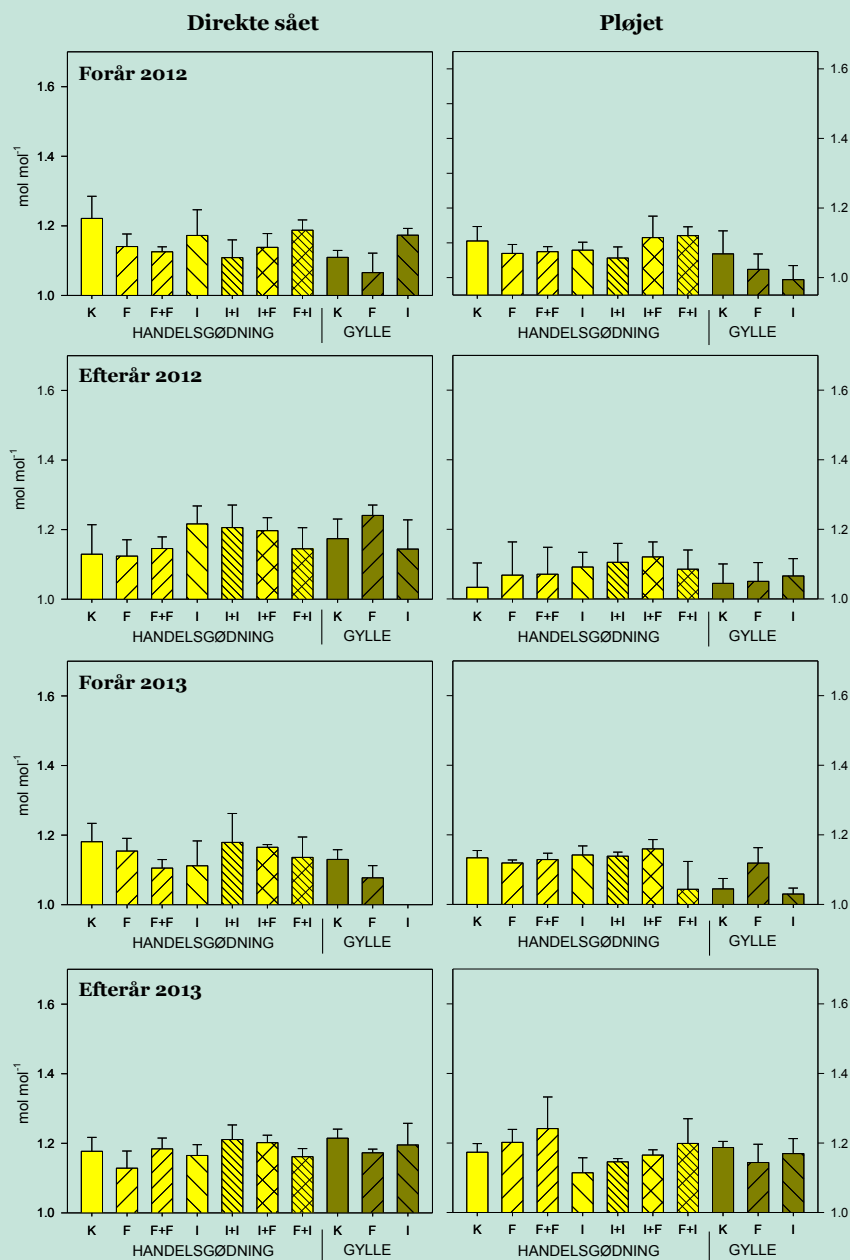


FIGUR 49
 FORHOLDET MELLEM INDIKATORFEDTSYRER FOR SVAMPE OG BAKTERIER. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



FIGUR 50

FORHOLDET MELLEM CY19:0 OG 18:1 ω 7. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).



FIGUR 51
 FORHOLDET MELLEM ISO- OG ANTEISO-KONFIGURATION AF 17:0. BEHANDLINGERNE VAR EN KONTROL UDEN PESTICIDER (K), FUNGICID (F) OG INSEKTICID (I). LODRETTE LINIER ANGIVER STANDARDFEJLEN (N = 4).

TABEL 23

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{15}\text{N}$ I HVEDE PLANTEDELE UNDER PÅVIRKNING AF FAKTORERNE GØDSKNING, G: GYLLE OG H: HANDELSGØDNING, OG JORDBEARBEJDNING, DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING.

Jordbe- arbejdning	Gødskning	Plantedel	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
DS	G	Blade	5,3 [4,2-6,4]	
DS	G	Rødder	3,7 [2,7-4,6]	
DS	G	Skud	4,7 [3,4-6,0]	
DS	G	Strå	4,2 [2,9-5,4]	
DS	G	Stub	3,3 [2-4,6]	
DS	H	Blade	0,9 [0-1,7]	
DS	H	Rødder	0,9 [0,2-1,6]	
DS	H	Skud	-0,5 [-1,6-0,7]	
DS	H	Strå	0,2 [-0,8-1,2]	
DS	H	Stub	1,3 [0,5-2,1]	
PL	G	Blade	6,0 [5-7,1]	
PL	G	Rødder	4,5 [3,5-5,4]	
PL	G	Skud	4,6 [3,3-6]	
PL	G	Strå	3,9 [2,7-5,1]	
PL	G	Stub	2,4 [1-3,7]	
PL	H	Blade	0,2 [-0,7-1,1]	
PL	H	Rødder	1,0 [0,4-1,7]	
PL	H	Skud	-1,0 [-2,2-0,1]	
PL	H	Strå	-0,8 [-1,8-0,2]	
PL	H	Stub	-0,1 [-0,9-0,7]	

TABEL 24

LEAST SQUARE MEANS AF $\delta^{15}\text{N}$ I HVEDE VED PRØVETAGNING I FØRSTE OG ANDET FORSØGSÅR OG JUNI OG SEPTEMBER INDENFOR DYRKNINGSSÆSONEN UNDER PÅVIRKNING AF FAKTORERNE GØDSKNING, G: GYLLE OG H: HANDELSGØDNING, OG JORDBEARBEJDNING, DS: DIREKTE SÅNING OG PL: PLØJNING.

År	Måned	Jordbe- arbejdning	Gødskning	Plantedel	$\delta^{15}\text{N}$	95% C.L.
2012	6	DS	G	Blade	6,3	[5,3-7,3]
2013	6			Blade	7,2	[6,2-8,1]
2012	6			Rødder	4,4	[3,5-5,4]
2012	9			Rødder	3,4	[1,5-5,4]
2013	6			Rødder	5,7	[4,8-6,7]
2013	6			Skud	6,0	[5,1-7]
2012	6			Strå	5,0	[3,1-7]
2013	6			Strå	5,7	[4,7-6,6]
2012	9			Stubbe	2,3	[0,4-4,3]
2013	9			Stubbe	0,7	[0,2-1,3]
2012	6	DS	H	Blade	2,0	[1-3]
2013	6			Blade	2,4	[1,4-3,4]
2012	6			Rødder	1,8	[0,8-2,8]
2012	9			Rødder	-0,5	[-1,7-0,6]
2013	6			Rødder	2,6	[1,6-3,6]
2013	6			Skud	1,0	[0-1,9]
2012	6			Strå	1,1	[-0,8-3,1]
2013	6			Strå	1,7	[0,8-2,7]
2012	9			Stubbe	-0,7	[-1,8-0,4]
2013	9			Stubbe	0,1	[-0,2-0,5]
2012	6	PL	G	Blade	8,1	[7,1-9]
2013	6			Blade	6,8	[5,9-7,8]
2012	6			Rødder	6,7	[5,7-7,7]
2012	9			Rødder	4,3	[2,4-6,3]
2013	6			Rødder	5,1	[4,1-6,1]
2013	6			Skud	6,0	[5-6,9]
2012	6			Strå	6,0	[4,1-8]
2013	6			Strå	5,1	[4,1-6]
2012	9			Stubbe	3,0	[1-4,9]
2013	9			Stubbe	-0,3	[-0,9-0,2]
2012	6	PL	H	Blade	1,7	[0,7-2,6]
2013	6			Blade	1,4	[0,5-2,4]
2012	6			Rødder	2,5	[1,5-3,4]
2012	9			Rødder	-0,5	[-1,6-0,6]
2013	6			Rødder	2,3	[1,4-3,3]
2013	6			Skud	0,4	[-0,6-1,4]
2012	6			Strå	0,9	[-1,1-2,8]
2013	6			Strå	0,5	[-0,4-1,5]
2012	9			Stubbe	-1,1	[-2,2-0,1]
2013	9			Stubbe	-1,4	[-1,7--1]

Pesticiders vekselvirkning med jordbearbejdning og gødskning

Dette projekt har undersøgt vekselvirkninger mellem to pesticider og hhv. jordbearbejdning (direkte sået eller pløjet jord) og gødskning (handels- eller husdyrgødning) med hensyn til effekter på regnorme, mikroled dyr og mikrobielle indikatorer, og på udvalgte økosystem-tjenester (funktioner).



**Miljø- og
Fødevareministeriet**
Miljøstyrelsen

Strandgade 29
1401 København K
Tlf.: (+45) 72 54 40 00

www.mst.dk