

Óbudai Egyetem

Rejtő Sándor Könnyűipari és Környezetmérnöki Kar

Környezetmérnöki Intézet



XXXI. OTDK Biológia Szekció

**Herbicidek hatása a talajban lévő mikrobiális biomasszára
és enzim aktivitására**

(The impact of herbicides on soil microbial biomass and enzyme
activity)

Készítette:

Bátor Hajnalka

Környezetmérnöki szak, II. évfolyam

Konzulens:

Prof. Dr. habil Bayoumi Hamuda Hosam

Egyetemi magántanár, egyetemi docens

Budapest

2011.

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS	1
1.1. Bevezetés	1
1.2. Célkitűzés	2
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	3
2.1. A peszticidek	3
2.2. A herbicidek hatása a talajra	3
2.3. A herbicidek hatása a talaj biológiai rendszerére	5
2.3.1. A herbicidek és a talajban lévő mikrobák kölcsönhatása	6
2.4. A herbicidek hatása a talaj cellulózbontó képességére	8
2.5. A herbicidek hatása a talajban lévő mikrobiális szén biomasszára	8
2.6. A herbicidek hatása a talajban lévő teljes szerves szénre	9
2.7. A herbicidek hatása a talaj légzésére	10
2.8. A herbicidek hatása a talaj enzimaktivitására	11
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	13
3.1. Anyag	13
3.1.1. Herbicidek	13
3.1.2. Talajminta bemutatása	14
3.2. Módszer	15
3.2.1. A talajok kezelése herbicidekkel	15
3.2.2. Mikrobiális szén biomassza meghatározása	15
3.2.3. A CO ₂ -kibocsátás (talajlégzés) meghatározása	16
3.2.4. Teljes szervesszén-tartalom (TOC) meghatározása a talajban	17
3.2.5. A talajban élő baktériumok és fonalas gombák előfordulása	17
3.2.6. A cellulózbontók vizsgálata	17

3.2.7. A talaj enzimaktivitása	18
3.3 Kísérleti statisztikai analízis	18
4. EREDMÉNYEK	19
4.1. Különböző szén-meghatározási módszerek a herbicidekkel kezelt talajokban	19
4.1.1. A mikrobiális szén biomassa vizsgálata	19
4.1.2. A teljes szerves széntartalom meghatározása	20
4.1.3. A talaj CO ₂ tartalmának vizsgálata	20
4.2. A herbicid hatása az FDA enzimaktivitásra	21
4.3. A herbicid hatása a különböző mikrobiális populációkra	22
4.3.1. Aerob heterotróf baktériumok csíraszámának vizsgálata	22
4.3.2. Fonalas gombák számának meghatározása	23
4.3.3. A cellulózbontó mikrobák számának meghatározása	24
5. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA	26
6. ÖSSZEFOGLALÁS	28
7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	30
8. IRODALOMJEGYZÉK	31

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

1.1. Bevezetés

A talajban élő mikroorganizmusok, és magasabb rendű növények kölcsönhatása a talaj termékenységtől, a növények növekedésétől és a talajban élő mikroorganizmusok tevékenységétől függ. A fő tényezők, amelyek befolyásolják a talajban lévő mikroorganizmusok eloszlását és tevékenységét: a talajtermékenység, a kulturális gyakorlatok, a talajnedvesség, a talajhőmérséklet, a talajlevegőztetés, a fény, a talaj pH-ja, és a talaj szerves anyag tartalma.

Mindezek a tényezők nem csak a szervezetek típusának és számának meghatározásában játszanak nagy szerepet, hanem a tevékenységükben is. Egy vagy több ilyen tényező változáshoz vezethet a szervezet tevékenységében, amely végső soron befolyásolja a talaj termékenységét. A melléktermékek - szerves anyagok - (pl. cellulóztartalmú anyag és hulladékok, stb.) mikrobiológiai lebontása, a lebontás irányított meggyorsítása a talajbiotechnológia egyik legsürgetőbb feladata, mely ökonómiai, mezőgazdasági és környezetvédelmi szempontból egyaránt fontos.

Jelentős környezetszennyezést figyelhetünk meg a mezőgazdaságban. A szennyezés műtrágyákkal, szerves trágyákkal, mezőgazdasági eredetű szennyvizekkel, iszapokkal, porral és növényvédő szerekkel – ezen belül gyomirtókkal – történik, melyek túladagolásakor vagy a gép elakadásakor helyenként felhalmozódhatnak, és a táplálékláncban akkumulálódhatnak.

Napjainkban, amikor a növekvő népesség és a művelésre fogható földterületek csökkenése miatt az emberiség élelmiszerrel való ellátása egyre nagyobb kihívást jelent, előtérbe kerülnek az intenzív mezőgazdasági módszerek, melyek egyik kulcsponja a különböző növényi kártevők elleni minél hatékonyabb védekezés. Ennek következményeképpen egyre inkább emelkedik a felhasznált gyomirtók mennyisége és száma.

A világ legfontosabb szennyező ágensei közé sorolták a növényvédő szereket, amelyek intenzíven szennyezik a levegőt, a felszíni és talajvizet, valamint a mezőgazdasági termőtalajokat. A növényvédő szerek veszélye az, hogy az ilyen élettereknek a szennyezése folytán veszélyeztetik a világ környezetvédelmi egyensúlyát, stabilitását. A mezőgazdaság kemizálása megváltoztathatja a talajok természetes összetételét, működését, kialakítván ezáltal a „mesterséges, technogén” agroökoszisztémákat.

A mezőgazdasági kemikáliák között a gyomirtó szerek (herbicidek) alkalmazása terjedt el a leginkább. A napjainkban bevezetett ún. „új generációs herbicidek” 10-szer, 100-szor töményebbek a korábban használt anyagokhoz viszonyítva, ami tovább növelheti a gyakorlati alkalmazás kockázatát.

A herbicidek nagy szerepet játszanak a gyomok, az állati kártevők és a parazita gombák elleni küzdelemben. Ezek a kemikáliák az elmúlt évtizedekben is hozzájárultak a növénytermesztés terméseredményeinek növeléséhez, és azok biztonságos, magas szinten tartásához. A világ mezőgazdasági termelésének mintegy harmadát károsítják a különböző paraziták, emiatt a hatékony növénytermesztés elképzelhetetlen a herbicidek alkalmazása nélkül.

A növényvédelmi eljárások során megvédhetjük a hasznos növényeinket, valamint azok termését a számukra konkurens élő szervezetektől. E szükséges és előnyös tevékenység azonban bizonyos nem kívánatos következményekhez vezethet.

A fenntartható mezőgazdaság és a környezetvédelem szempontjait is figyelembe véve szükséges tanulmányozni a különböző herbicidek hatását a talajban lévő mikrobiális biomasszára és enzim aktivitására valamint az agrokemikáliákhoz való adaptálódás és a működőképességük közötti összefüggéseket.

1.2. Célkitűzés

Célkitűzésként a következő alpontokat fogalmaztam meg:

A négy herbicid alkalmazása során (2,4-D, glifozát, acetoklór és trifluralin) a különböző herbicid dózisok hatását vizsgáltam a mikrobiális populációra (baktériumok, gombák és cellulózbontó mikrobák), a mikrobiális szén biomasszára (MCB), a talaj összes széntartalmára (TOC), a szén-dioxid kibocsátásra, valamint a talaj enzimaktivitására (FDA). Mindezt az azonos és elkülönülő érzékenységgű réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalaj mintázatokra tettem meg.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A peszticidek

A „peszticid” szó jelentése, kártevőirtó szer, olyan anyag, illetve készítmény, amely elpusztítja a nemkívánatos élőlényeket. Más megközelítésben „gazdasági célokra használatos készítmények”, növényi kártevők esetében növényvédő szerek, állatparaziták esetében irtó szerek, amelyek lehetnek.

A peszticidek felhasználásuk szerint a következő csoportba sorolhatóak:

- herbicidek: gyomirtók
- fungicidek: gombaölők
- inszekticidek: rovarirtók
- avicidek: madárirtók
- akaricidok vagy miticidek: atkaölők
- rodenticidek: rágcsáló irtók
- vespacidek: darázsirtók
- molluszkicidek: csigairtók
- baktericidek: baktériumok ellen használt vegyszerek
- viricidek: vírusölők
- nematicidek: fonalféreg ölő szerek

A nagyüzemi mezőgazdasági termeléssel párhuzamosan a peszticidek, közöttük a herbicidek használata is fokozódott. Ezekre általában jellemző a talajban történő gyors lebomlás (JUNNILA et al., 1996), ezért hatásuk nem terjed ki a teljes vegetációs időszakra. Ismert eljárás ezért, hogy az aktív hatóanyaghoz ún. extendereket is adagolnak, ami kiterjeszti a – többek között – gyomirtó képességet, de fokozhatja az ún. „nem célzott” (non-target) mikroorganizmusokra kifejtett káros hatásokat is (DELORENZO et al., 2000). A peszticid használata befolyásolhatja a mikrobiális közösségek struktúráját és működőképességét (INUI et al., 2001), de toxikusságukat és metabolizmusukat a kémiai szerkezetük, mennyiségük, és a mikroszervezetek faji, törzsi, élettani tulajdonságai is befolyásolják. A peszticidek leginkább a fotoszintetizáló mikroszervezetekre fejtik ki a legkárosabb hatást a fotoszintézises folyamatok károsítása révén.

2.2. A herbicidek hatása a talajra

A talajtermékenységi a talaj produktivitását, termőképességét jelenti. Ez nem más, mint az a képesség, hogy a talaj a rajta lévő növényeket a megfelelő időben és kellő mennyiségben

vízzel és tápanyagokkal képes ellátni. A talajtermékenység főbb tényezői a talaj ásványi anyag összetétele, az élővilága, szerves anyag tartalma, hő- és vízgazdálkodása, szerkezete, növényzete, stb. Művelt talaj esetén a befolyásoló tényezők a termesztett növények fajtái, sorrendje, tápanyag-utánpótlás, talajművelés, öntözés, stb. A talajtermékenység egyik (és a jövőben várhatóan a legfőbb) tényezője a talaj vízforgalmi tulajdonsága. Hazánk talajainak 24%-a igen jó, míg 60%-a kedvezőtlen vízforgalmi tulajdonságokkal rendelkezik. Ez utóbbi az eredményes növénytermesztést akadályozza.

A talajba egyre nagyobb mennyiségben kerülnek be egyéb szerves szennyeződések is, melyek szintén veszélyeztetik környezetünket. Megkötődhetnek a szerves és ásványi eredetű kolloidok felületén, kémiai reakcióba léphetnek a különböző talajalkotó vegyületekkel, a mikroszervezetek, talajenzimek részben vagy teljesen lebonthatják őket, kimosódhatnak a mélyebb rétegekbe, elillanhatnak, elbomolhatnak, illetve beépülhetnek a növényekbe. A herbicidek hatása a gyomnövények elpusztítására, ill. visszaszorítására korlátozódik. HUNYADI et al. (2000) kutatásai alapján a ma alkalmazott herbicidek jelentős részénél csupán néhány fontosabb élettani, ill. biokémiai folyamatot ismerünk, melyek olyan láncreakciókat indítanak el, hogy azok a gyomnövények pusztulásához vezetnek:

A herbicidek csoportosítása:

- *Hatás szerint:* totális vagy szelektív
- *Alkalmazás helye szerint:*
 - talaj herbicidek
 - levél herbicidek
- *Gyomirtási spektrum alapján:*
 - széles hatásspektrumú herbicid-hatóanyagok: egy- és kétszikűirtó
 - szűk hatásspektrumú herbicid-hatóanyagok: egyszikűirtó vagy kétszikűirtó

Hatásmechanizmus szerint:

- fotoszintézis gátlók (PS-I, PS-II rendszer)
- növekedési zavarokat okozók (mitózist gátló, sejtmeagnyúlást gátló, és auxin típusú herbicidek)
- bioszintézis gátlók (aminosav-, pigment-, és zsírsav-bioszintézis gátlók)
- egyéb módon hatók (hormonális rendszert gátló, különböző enzimeket gátló).

A herbicidek kétharmad részét közvetlenül a talaj felszínére permetezik ki. A talajherbicidek hatáskifejtését három alapvető mechanizmus befolyásolja:

- *Fizikai folyamatok:*

- o Szél- és eső által okozott talajerózió
- o Kimosódás: a herbicidek kimosódását befolyásolja a talajpórusok közötti vízben mért koncentrációjuk és a pórusokon keresztül áramló víz mennyisége.
- o Párolgási veszteségek: a talaj nedvességtartalmától, és a hőmérsékletétől függ.
- *Kémiai folyamatok:*
 - o Adszorpció: minden talajra kijuttatott herbicid bizonyos mértékben kötődik a talajkolloidokhoz és a gyomnövények számára felvehetetlenné válik. A talajban elsősorban az agyagásványok jelentik a legnagyobb kötőerőt.
 - o Ionkicserélés
 - o Fotokémiai lebontás: számos herbicid esetében a napfény hatására molekuláris átalakulás történik, ami hatásvesztést idéz elő. Ezt elsősorban a napfény 40 és 400nm közötti hullámhossz tartománya okozza. Szántóföldi viszonyok között ezért a fényérzékeny herbicideket kijuttatás után azonnal be kell dolgozni a talajba.
 - o Kémiai kapcsolatba lépés a talaj szerkezeti elemeivel: a talajban a fő mechanizmus a kémiai és a mikrobiális lebontás.
 - o Növények és mikroorganizmusok általi felvétel
- *Mikrobiális veszteségek:*
 - o A talajban található mikroorganizmusok herbicid-lebontó képessége.
 - o A talajok legfontosabb tulajdonsága, ami a herbicidabszorbeáló kapacitásukat meghatározza, a talaj szervesanyag-tartalma.

2.3. A herbicidek hatása a talaj biológiai rendszerére

A herbicidek és maradványaik, mint a talaj és talajvízrendszer szennyező anyagai, különböző fizikai, kémiai és biológiai hatásnak vannak kitéve. Megkötődhetnek a talaj szerves vagy szervesetlen komponensein, így erózióval vagy deflációval elmozdulhatnak, vagy lemosódhatnak, átalakulhatnak a bonyolult mátrixban. A talaj tulajdonságai (hőmérséklet, nedvességtartalom, pH, kationcserélő kapacitás) nagymértékben befolyásolják a peszticidek bomlását, mozgását, szelektivitását (CHOWDHURY et al., 2008). Különböző folyamatok hatására az eloszlásuk megváltozik a talajban, jó esetben detoxikálódnak. Ezek a folyamatok helyileg és időben egyszerre zajlanak, egymásra kölcsönösen hatnak:

- diffúzió a talaj légterében, távozása az atmoszférába
- diffúzió a talajoldatban
- adszorpció a talaj szilárd részén ↔ deszorpció
- bemosódás a szivárgó vízzel ↔ kapilláris áramlás
- oldódás a talajvízben ↔ kiválás
- kémiai és fotokémiai bomlás (ez utóbbi a talaj felszínén)
- mikrobiológiai folyamatok során bekövetkező bomlás
- felszívódás élőlényekbe, dúsulás a táplálékláncon keresztül.

Ha huzamosabb ideig használunk herbicideket a talajban, akkor az zavarja a talaj mikroorganizmusainak tevékenységét, így a herbicid maradék a talajban magasabb lesz, akkumulálódik. Ennek a közvetlen hatása a csökkent növénynövekedés.

Gyakran használt herbicidek a 2,4-diklórfenoxiecetsav (2,4-D) és a 2,4,5-triklórfenoxiecetsav (2,4,5,-T). Ezek szennyezésként dioxint tartalmaznak, mely erősen karcinogén vegyület és rendkívül rezisztens a lebontással szemben. A 2,4-D-t könnyebben bontják a mikrobák, mint a 2,4,5-T-t. Ezen herbicidek bontásában az *Achromobacter* baktérium génusz tagjainak van nagy jelentősége. A mikroba dehalogenázokat termel, melyekkel el tudja távolítani a szerves alapvegyületről a halogénatomokat. A mikrobák a herbicidekből néha még veszélyesebb vegyületeket hozhatnak létre. Így pl. a nitro csoportokat tartalmazó herbicidek transzformációjának redukciós köztitermékei a nitrózaminok erősen karcinogén sajátságú vegyületek (RATH et al., 1998). A herbicidek hatásmechanizmusa a növényekben zajló alapvető biokémiai folyamatok gátlásán alapszik. A 2,4-D és a 2,4,5-T a kétszikűeket irtja ki, mivel növényi hormonként viselkednek (szintetikus auxinok) és növekedési zavarokat okoznak. A szerves foszforvegyületek, pl. a glifozát, egy olyan enzimet blokkolnak, mely az aromás aminosavak (triptofán, fenilalanin és tirozin) szintéziséért felelős. Ezeket olyan haszonnövények védelmére alkalmazzák, melyeket speciálisan úgy nemesítettek, hogy ellenálljanak a herbicideknek.

2.3.1. Herbicidek és a talajban lévő mikrobák kölcsönhatása

A herbicidek alkalmazása az intenzív növénytermesztés során a mezőgazdasági kultúrák termésátlagának jelentős növekedéséhez vezetett. Ezzel együtt a herbicidek alkalmazásának negatív hatása is van, hiszen ezeknek a vegyületeknek a talajba kerülése a talaj toxikus anyagokkal való elszennyeződéséhez vezethet. Ezért a mezőgazdaság kemizálásának egyik aktuális feladata olyan vegyszerek alkalmazása, amelyek kevésbé

mérgezőek a talajban élő mikroorganizmusokra, az adott ökoszisztémára, az emberre és az állatokra (MANNHEIM, 2011). A talaj, egy komplex és dinamikus multifázisú rendszer. A különböző szennyező anyagok megzavarhatják az agroökoszisztéma hormonháztartását. A szennyeződésekre különböző érzékenységgel reagáló indikátorokat (pl.: biomassa, talajlégzés, valamint talajban lévő enzimek és mikroorganizmusok, stb.) fontos folyamatosan vizsgálni. A szerek élettelen környezetre kifejtett hatásait részben a molekulák fizikai tulajdonságai, részben pedig a kémiai tulajdonságai határozzák meg (SEBIOMO et al., 2011). A herbicidek talajban történő lebomlásának tanulmányozása során kiderült, hogy a talajlakó mikroszervezetek ezen folyamatokban központi szerepet játszanak. A herbicidek transzformációja fiziko-kémiai tényezők hatására, de legtöbbször biológiai aktivitásra vezethető vissza. A vegyületek fizikai és/vagy kémiai hatásoknak vannak kitéve: adszorbeálódhatnak a talaj kolloidokon, kimosódhatnak, és/vagy volatilizálódhatnak is (PARTOAZAR et al., 2011). Számtalan adat igazolja, hogy a talajban olyan átalakulások is végbemennek, amelyeket nem a mikroorganizmusok és nem az enzimek katalizálnak. A herbicideket intenzíven használják a mezőgazdaságban, és nagy erőfeszítéseket tesznek a környezetre gyakorolt káros hatásaik csökkentésére. SÁNDOR et al., (2007) említette, hogy, a fenntartható növénytermesztés elképzelhetetlen herbicidek alkalmazása nélkül. Ugyanakkor ezen kemikáliák hatást gyakorolnak a talaj mikrobiális életközösségére is. Olyan herbicidet célszerű használni, amelynek a gyomirtáson kívül minimális másodlagos hatása van a környezetre és a talajban tevékenykedő mikrobákra. A talaj mikroorganizmusainak a mennyiségében és arányaiban bekövetkezett változások mögött a faji biodiverzitás átalakulása húzódik meg. Így az érzékenyebb fajok egyedszáma minimálisra csökken, egyes fajok el is tűnhetnek, míg az adott herbiciddel szemben rezisztens fajok felszaporodnak. A herbicidek talajba kerülése után az arra érzékeny szervezetek elpusztulnak, és könnyen bontható maradványaikat a túlélők hasznosítják. Egyes organizmusok képesek közvetlenül hasznosítani ezeket a szereket növekedésükhöz. Ezen kívül azon szervezetek is mennyiségi növekedést mutatnak, amelyek a herbicid degradálók anyagcseretermékeit és a már lebontott szermaradványokat is fogyasztják. TAYLOR-LOVELL et al. (2002) kimutatta, hogy az Izoaflutol bomlását a talajban élő mikroorganizmusok meggyorsították. Az alkalmazott szerek számos mellékhatásával is számolnunk kell, amelyek a talaj termékenységének csökkenését, a termések leromlását eredményezik. MÜLLER (1991) szerint a herbicideket a talajéletre gyakorolt hatása alapján négy csoportba (serkentő hatásúak, semleges hatásúak, gátló hatásúak, nem egyértelmű hatásúak) sorolhatjuk.

HELMECZI et al. (1988) tizennégy herbicid, illetve két szerkombináció hatását vizsgálta három mikroszkopikus gombafajra. Nagyobb herbicid dózisok esetén gátlást tapasztaltak a tesztorganizmusok növekedésének vizsgálatakor. Mészlepedékes csernozjom talajon végzett vizsgálatok szerint az acetoklór a tenyésztidőszak alatt jelentős változást okoz a talajban élő mikroorganizmusok mennyiségében és enzimaktivitásában. Normál és többszörös dózisban is növelte a foszfatáz, a szacharáz és a kataláz enzimek aktivitását. Az ureáz enzim aktivitására a kontrollhoz képest az acetoklór minden dózisban inhibitorként hatott. KÁTAI & VERES (2003) vizsgálatai szerint az acetoklór Atrazin tartalmú herbicid kombináció általában növelte a baktériumszámot, a mikroszkopikus gombák számát, az enzimek aktivitását és a CO₂ kibocsátást. SZILI-KOVÁCS & TÓTH (2006) megállapították, hogy a talajban lévő MCB kiváló indikátor herbicid-szennyezések felismerésére. ZSUPOSNÉ (2005) szerint a mechanikai konzervációs rendszer megzavarja a talaj mikrobiológiai rendszerét. Egy vagy több herbiciddel való kezelés hatása nem volt negatív a talajban lévő mikroorganizmusokra valamint a herbicidek mellékhatása tanulmányozható a talajban lévő mikrobiális populációra rövid és hosszú távon. SEBIOMO et al. (2011) vizsgálatai szerint rövidtávú kísérletekkel jobban mérhető a herbicidek hatása a talajban lévő mikroorganizmusokra.

2.4. A herbicidek hatása a talaj cellulózbontó képességére

Rövid idejű kísérletben hat ajánlott dózisú herbicid alkalmazásával (atrazine, terbutylazine, rimsulfuron, primisulfuron-methyl, glyphosate és gluphosinate-ammonium) vizsgálták a herbicidek hatását a talaj mikrobiális aktivitására és a biomasszára, ahol negatív hatás nem volt tapasztalható, sőt előfordult serkentő hatás is (ACCINELLI et al., 2002). A cellulózbontó baktériumok populációira is negatív hatást fejtettek ki a herbicidek. A kísérlet azt az eredményt mutatja, hogy a cellulózbontó baktériumok száma kevésbé csökkent az alsóbb rétegekben, mint a felsőbb rétegben (SÁNDOR et al., 2007).

2.5. A herbicidek hatása a talajban lévő mikrobiális szén biomasszára

Több tanulmány is kimutatta, hogy milyen a herbicidek hatása a talaj mikrobiális aktivitására, és az MCB-ra (CHOWDHURY et al., 2008). ENGELEN et al. (1998) és JOHNSEN et al. (2001) kutatása a hagyományos módszerekkel megállapított herbicidek hatásának vizsgálata a talajban lévő mikroorganizmusokra összpontosított MCB-ra és működési paraméterekre (C és N ásványosítás) terjedt ki. Ha a herbicid nem gátolja a talajban lévő MCB-t, vagy a C és N anyagcserét, akkor a talaj biodiverzitása és mikrobiális populációja

igazolja a herbicid hatását. RATH et al. (1998) megállapította, hogy a 2,4-D és a 2,4,5-T 0,75 µg/g koncentrációjú talajkezelés során az MCB mennyisége magasabb volt, mint a kezeletlen talajban. LUPWAYI et al. (2004, 2007) megmérte a talajban lévő MCB-t, a bakteriális működés diverzitását, közösség felépítését és a dehidrogénáz aktivitását. A cellulózbontó baktériumok negatívan reagálnak a herbicid kezelésre. LUPWAYI et al. (2004) első kísérletében tanulmányozta, hogy a négy herbicidnek (metribuzin, imazamox/imazetapir, triaszulfuron és metszulfuron-metil) a mikrobiális szén mennyiségére való gátlása mindig magasabb volt, mint a glufozinát-ammónium és a szetoxidim ugyanarra való hatása. Második kísérletében megállapította, hogy a mikrobiális diverzitás alacsonyabb a következő herbicid-kezeléseknél (metribuzin, imazamox/imazetapir és glufozinát-ammónium), mint a glifozátnál. SÁNDOR et al. (2007) kimutatta, hogy a glifozát kezelés megemelte a szén mennyiségét az mikrobiális biomasszában. Das et al. (2007) *in vitro* kísérletei alapján a novaluron alkalmazása tízszeres szabadföldi alkalmazási arányban rövid idejű és átmeneti toxikus hatást fejt ki a talaj MCB-ra és FDA-ra. Az eddigi eredmények és a koncepciók alapján, megállapítható, hogy a talaj mikrobiális aktivitása és az MCB széleskörű módszerekkel való mérésének segítségével kimutatható a herbicidek hatása a talaj minőség

2.6. A herbicidek hatása a talajban lévő teljes szerves szénre

A talaj szerves anyagai magukba foglalják a talajban lévő élő szervezeteket, az elpusztult organizmusok maradványaival együtt, azok különböző bomlási fázisaiban. A talaj TOC-tartalma az egyszerű és összetett széntartalmú anyagok heterogén keverékéből áll össze. A szervesanyagok forrása a termények maradványai, az állati és a zöldtrágya, a komposzt és más szerves anyagok. A szervesanyagok csökkenését a lebomló organizmusok csökkent jelenléte, ill. a megnövekedett mértékű bomlás okozza, amely a természetes tényezőkben bekövetkezett változás és az emberi beavatkozás eredménye. A szervesanyagok az egészséges talaj létfontosságú összetevői; azok csökkenése leromlott talajhoz vezet. A talaj szerves anyagai táplálékforrásként szolgálnak a talaj állatvilága számára, és hozzájárulnak a talaj biológiai sokféleségéhez annak révén, hogy olyan tápanyagokat raktároznak, mint a N, a P, a S, stb. Ezek járulnak hozzá leginkább a talaj termékenységéhez. A TOC döntően befolyásolja a talaj szerkezetét, javítja a fizikai közeget, amelyen a gyökök áthatolnak. A szerves anyagok felszívják a vizet, jelenlétük ezért elengedhetetlen a növényzet számára a természetesen száraz és homokos talajokban (BAYOUMI HAMUDA et al., 2009). A szerves anyagokat tartalmazó talajnak jobb a szerkezete, ami elősegíti a víz beszívargását, valamint csökkenti a talajtömörödéssre, erózióra, elszivatagosodásra és csuszamlásra való hajlamát.

Globális szinten a talajok a légkörben található szénmennyiségének mintegy kétszeresét, a növényzetben találhatóak a háromszorosát tartalmazzák. Amikor a talaj szerves anyagai lebomlanak, szén-dioxid (CO_2) kerül a légkörbe, ezzel szemben a keletkezésükkor CO_2 -t vonnak ki onnan. RADIVOJEVIĆ et al. (2008) szerint 21 napos kezelés után a 40 és 80 mg/kg talajba bejuttatott Atrazin gátolja a talajban lévő MCB-t. WARDLE & PARKINSON (1992) megállapította, hogy a legnagyobb dramatikus gátlása az MCB-nak van pillanatnyi peszticid kezelés után. Több szerző (JOERGENSEN et al., 1990; WARDLE et al., 1999; ENTRY et al., 1995) szerint az MCB megnövekedett a peszticidekkel kezelt talajban a rezisztens élő szervezetek alapján. ENTRY et al. (1995) kutatásai alapján megállapította, hogy az Atrazin degradációnak a sebessége és az MCB mennyisége a régi erdőtalajban gyorsabb, mint a fiatal talajban. Dehidrogénáz, ureáz, foszfatáz és a szerves széntartalmú talajon negatív a kölcsönhatás a triflurotox 250 EC-vel szemben.

2.7. A herbicidek hatása a talaj légzésére

Földünk többszörösen összetett, bonyolult rendszerként működik, így az óceán lassú átkeveredése miatt lassan reagál a légkör változó CO_2 tartalmára, mivel az, az utóbbi 200 évben 80 ppm-mel növekedett, azonban az óceánban ez az érték csak 8 ppm-es növekedés volt. A környezeti feltételek változására a talaj-bioszféra rendszer nagyon érzékeny, így állandónak a CO_2 felvétele sem tekinthető. Amíg a fotoszintézis során beépített szénmennyiség a légköri CO_2 koncentrációjának logaritmusával arányos, addig a légzés a légkörbe juttatott szénmennyiség a hőmérséklet exponenciális függvénye. A talajlégzés a CO_2 légkörbe való áramlása, amely a növényi gyökök légcseréjének, és a talajban zajló lebontó folyamatoknak a következménye. Ez a földi anyagforgalom egyik legfontosabb összetevője (KE et al., 2005). Ezekhez képest a talaj makro- és mezofaunájának CO_2 kibocsátása néhány százaléknyi (KUZYAKOV, 2006).

A talaj C-körfolyamatának megfigyelése különösen fontos, mert:

- a talaj kétszer annyi szenet tartalmaz, mint a levegő (ADAMS et al., 1990),
- hozzájárulhat a bioszféra és az atmoszféra közötti folyamatok lejátszódásához, fontos azon modellek elkészítéséhez, amelyek segítségével előre tudják jelezni a globális klímaváltozás lehetséges hatásait, valamint intenzitási alapját képezi a talajok CO_2 kibocsátásának, amely során hozzájárul a talajszennyezések következményeinek becsléséhez, stb. (KRÖEL-DULAY et al., 2008).

A talajban zajló felépítő és lebontó folyamatok során az aerob és anaerob szervezetek CO_2 -ot termelnek, melynek mennyisége a talaj pórusterében elérheti a 6%-ot. Az évente a

Földön képződött CO₂ mennyiségének 90%-a a talajból származik. Ennek a 90%-nak a 2/3-ad része mikrobiális eredetű (LUNDEGARDTH, 1927), mely jó része a talaj 0,5-5% cellulóz tartalmának (IMSENYECKIJ, 1950) lebomlása során keletkezik. A CO₂ termelés és a cellulózbontás kapcsolatát jellemzi, hogy a szerves anyaggá alakult CO₂ a cellulózbontás során lép be a szén körforgalmába. Valószínűleg ennek köszönhető, hogy a talaj biológiai aktivitásának mérésére több kutató alkalmazta a talajban termelődött CO₂ mennyiségének (NOWAK, 1983), vagy éppen a cellulózbontó aktivitásnak a mérését (JAKAB, 1991). Számos tanulmány arról számolt be, hogy az alkalmazott glifozát és a 2,4-D dózisok hatása a mikrobiális légzésre elhanyagolható (BUSSE et al., 2001; ZABALOY & GÓMEZ, 2008). PARTOAZAR et al. (2011) szerint 50 mM glifozát mennyiségnél a mikrobiális légzés nőtt, így megállapítható, hogy a mikrobiális populáció száma növekedett, viszont 500 mM glifozát alkalmazása gátló hatással volt a légzésre és a mikrobiális populációra.

2.8. A herbicidek hatása a talaj enzimaktivitására

A herbicidek bontásánál előforduló enzimatis reakciótípusok: oxidációs és redukciós folyamatok, hidrolízisek, dehalogenizációk. Egy-egy herbicid bontását vegyes mikroba populációk végzik a természetben. Kevés az olyan mikroba, amely önmaga képes lenne egy adott herbicid teljes bontására. Ezért is fontos, hogy az élőhelyeken minél nagyobb legyen a faji diverzitás.

Fluorescein-diacetát (FDA): A talaj enzimaktivitásának mérése nem mindig tükrözi az általános mikrobiális tevékenységet a talajban, mert az enzimek szubsztrát-specifikusak. Az FDA hidrolízis terméke a fluorescein, melynek mennyiségét spektrofotometriával mérhetjük. A fluorescein mennyisége arányos a megfelelő szubsztráttal rendelkező elsődleges lebontó élőlények, a baktériumok és a gombák számával. Az FDA mennyiségének meghatározása egy széles körben elfogadott egyszerű módszer, a talajban lévő teljes mikrobiális aktivitás precíziós mérésére (LUNDGREN, 1981). Az FDA egyik szubsztrátjával meghatározhatjuk a mikrobiális populáció összes biológiai tevékenységét. Az enzimre a teljes mikrobiális tevékenység, a jó általános intézkedés, a szervesanyagok forgalma jellemző a természeti környezetben, mivel általában az energia több mint 90%-a áthalad a mikrobiális lebontókon. Nem-specifikus észterázokat, proteázokat és lipázokat az FDA hidrolizációjával lehet kimutatni, hogy részt vesznek-e a szövetek bontásában. Jó korrelációt találtunk az FDA hidrolizáló, légző, és a lebontó tevékenysége között, a különböző környezeti feltételeknek megfelelően, ami valószínűleg tükrözi a szervesanyag mennyiségét a talajban. A herbicidek fontos szerepet játszanak a környezetben a talaj

enzim aktivitásának megváltoztatásában (FURCZAK & GOSTKOWSKA 1982; NOWAK, 1983). A talajnak magasabb dehidrogénáz aktivitása magasabb szervesanyag-ásványosodással jár (BENITEZ et al., 2004). RADIVOJEVIĆ et al. (2008) bemutatta, hogy az atrazinnal való talajkezelés gátolta dehidrogénáz aktivitását. SÁNDOR et al. (2007) kimutatta, hogy a triflurotox 250 EC-vel kezelt talaj stimulálja az ureáz aktivitását, valamint ugyanezt a herbicidet 1,5 to 12 mm³/kg talajba alkalmazva kimutatta, hogy gátolta a dehidrogénáz és foszfatáz aktivitását (WYSZKOWSKA & KUCHARSKI, 2004). A következő herbicidek (afalon, aretit, atrazine, gramoxone, igran, tenoran és tribunil) gátolják a dehydrogenases aktivitását (PIETR & JABŁOŃSKA, 1987).

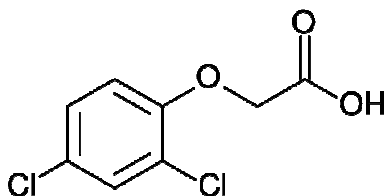
Célkitűzésként a következő alpontokat fogalmaztam meg: A négy herbicid alkalmazása során (2,4-D, glifozát, acetoklór és trifluralin) a különböző herbicid dózisok hatását vizsgáltam a mikrobiális populációra (baktériumok, gombák és cellulózbontó mikrobák), a MCB-ra, a talaj TOC tartalmára, a CO₂ kibocsátásra, valamint a talaj FDA enzim aktivitására. Mindezt az azonos és elkülönülő érzékenységű réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalaj mintázatokra tettem meg.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Anyag

3.1.1. Herbicidek

Dikamin D 40%

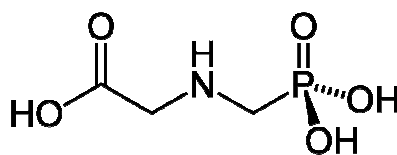


2,4-D: 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav

Hatóanyag kémiai csoportosítása: Fenoxisav-származékok

Szántóföldi alkalmazási mennyiség: 2,6-5,2 l/ha

Gliaka 20%

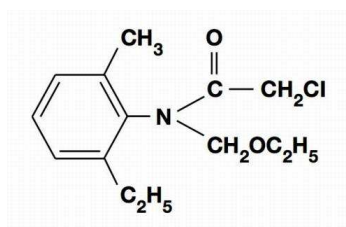


Glifozát: *N*-foszfonometil-glicin

Hatóanyag kémiai csoportosítása: *Glicin*

Szántóföldi alkalmazási mennyiség: 8-12 l/ha

Acenit 50 EC

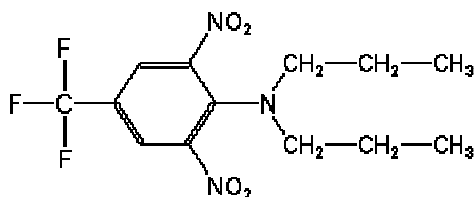


Acetoklór: *N*-(etoxi-metil)-2-etil-6-metil-klór-acetanilid

Hatóanyag kémiai csoportosítása: *Kloroacetamid*

Szántóföldi alkalmazási mennyiség: 3-5 l/ha

Treflan EC 26%



Trifluralin: α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro- *N,N*-dipropil-*p*-tolidin

Hatóanyag kémiai csoportosítása: *Dinitro-anilinek*

Szántóföldi alkalmazási mennyiség: 2,2-5,5 kg/ha

3.1.2. Talajminta bemutatása

Az I. táblázatban a vizsgálatokban felhasznált, eltérő humusztartalmú talajok – a Szegedi Gabonakutató Intézet üzemi területéről származó réti csernozjom talaj (RCST) és a Debreceni Egyetem Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma Nyíregyházi Kutató Intézetének üzemi területéről származó kovárványos barna erdőtalaj (KBET) 0–250 mm felső rétegéből gyűjtött mintáimat, gondosan kiszárítottam, átszitáltam egy 4 mm-es hálón és 4°C-on tároltam. Használat előtt a talajokat légszáraz környezetben szoba-hőmérsékleten 24 órán keresztül állni hagytam.

I. táblázat: Vizsgálatokban használt talajok néhány kémiai jellemzője

Paraméterek	Talajminták	
	Kovárványos barna erdőtalaj	Régi csernozjom talaj
$pH_{[KCl]}$	5,78	6,02
Humusztartalom [%]	2,54	3,55
NO_3-N [mg/kg]	2,30	3,90
NH_4-N [mg/kg]	5,60	4,50
Ca [mg/kg]	893	1136
Mg [mg/kg]	214	257
Na [mg/kg]	64	53
P_2O_5 [mg/kg]	318	378
K_2O [mg/kg]	412	428
Zn [mg/kg]	1,70	1,10
Cu [mg/kg]	1,40	2,4
Mn [mg/kg]	55	61
Fe [mg/kg]	945	1094
Cd [mg/kg]	1,70	1,02
Pb [mg/kg]	1,30	0,96

Minden herbicid koncentrációt külön az 1 kg talaj felületére pipettáztam, majd homogenizáltam a forgó keverőben 30 percen keresztül. Miután ez megtörtént, a különböző koncentrációjú herbiciddel kezelt talajmintákat egy cserépbe adagoltam. A kezeletlen talaj kontrollként szolgált. Az edényeket egy szabályozott környezetben, kamrában, $28\pm 2^\circ\text{C}$ -on tartottam. A talajnedvesség 45%-a maradt. A mintákat a herbicid kezelés után egy héttel elemzés céljából összegyűjtöttem.

3.2. Módszer

3.2.1. A talajok kezelése herbicidekkel

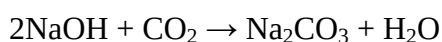
A vizsgálatot 4 herbiciddel (2,4-D, acetoklór, glifozát és trifluralin), négy különböző koncentrációban használva (0,1, 1, 10 és 100 mg/kg talaj) végeztem el. A légszáraz talajt növényvédő szerrel permeteztem le. A kezelés után a talaj nedvességtartalma 45% volt. A folyamatot a jobb eredmények érdekében 3-szor ismételt meg, tehát minden koncentrációt külön, 3-3 1 kg talajtartalmú műanyag cserépbe töltöttem bele.

3.2.2. Mikrobiális szén biomassa meghatározása

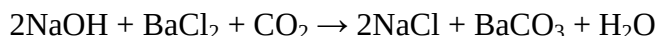
A mikrobiális biomasszában a kötött szén mikrobiális felszabadításán alapuló fumigációs, inkubációs (CFI) módszerek (BROOKES et al., 1985 és VANCE et al., 1987), extrakciós eljárások, a kloroform fumigációját követően a mikrobiális eredetű szén lehet kinyerni. BROOKES et al. (1985) vizsgálatai szerint a kloroformkezelés (nem alkohol-tartalmú CHCl_3) után nemcsak a CO_2 -képződés sebessége, hanem a talaj 0,5 mólos K_2SO_4 -tal extrahálható szervesanyag-tartalma is megnőtt. A CFI módszerhez hasonlóan itt is szükséges egy átszámítási tényező, amelyben a kapott eredményt (megkülönböztetésül) k_{EC} -vel szorozzuk. Az MCB számításánál a k_{EC} -érték 0,38 lett, a fumigációs inkubációs módszerrel történő regresszió számítás alapján. A mikrobiológiai szén-biomassa alapján a fumigált talaj és a nem fumigált talaj széntartalmának különbségét megszoroztuk 0,38-cal (VANCE et al., 1987). A kálium-szulfáttal extrahálható szerves C-tartalmat hagyományosan tömény kénsavas, foszforsavas, (2:1) kálium-bikromátos oxidációval, majd Mohr-sóoldattal $((\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2)$ történő redox visszatitrálással állapítottam meg. Bár a fumigációs extrakciós (CFE) módszerrel hamarabb kaptam eredményt, mint a CFI módszerrel, valójában jóval munkaigényesebb, különösen a savas roncsolás miatt. Az eredmények mg C/kg talajban kerülnek bemutatásra.

3.2.3. A CO₂-kibocsátás (talajlégzés) meghatározása

A CO₂-kibocsátás méréséhez herbiciddel kezelt, 0,5 kg mennyiségű talajt töltöttem 2 literes üvegedényekbe majd a talaj közepébe 50 cm³ 10 mol NaOH-oldatot tartalmazó 200 cm³-es főzőpoharat helyeztem a fejlődő CO₂ megkötésére, ezután az edényeket szorosan lezártam. A NaOH-oldatot 1 mol HCl-oldattal titráltam és kiszámítottam a talaj légzése során felszabadult CO₂ térfogatát (ANDERSON, 1982). A kísérleti idő 7 napig tartott. Az inkubációs idő után kivettem a főzőpoharat, majd a nátrium-hidroxid oldatot bárium-kloriddal megtitráltam, 8,3-as pH-ig, ahol a csapdába esett CO₂ felszívódik és reakcióba lépve a nátrium-hidroxiddal nátrium-karbonát keletkezik.:



Az 5 ml bárium-klorid kicsapódott bárium-karbonát formájában:



Végül kiszámítottam a talaj légzése során felszabadult CO₂ térfogatát.

Mivel a légzés vagy a CO₂ kibocsátás összefügg a sejtek katabolikus szénforgalmával, így ez egy anabolikus mutató, amely nem más, mint az a biomassa, ami megmutatja a talajmikrobák állapotát (ANDERSON, 1982).

A keletkezett CO₂-C kiszámítása, ahol a titrálás pH-ja 8,3 BaCl₂ jelenlétében.

$$\text{CO}_2\text{-C } (\mu\text{g g}^{-1} \text{ talaj}) = ((B - S) \times M \times E / \text{DW}) \times 1000$$

ahol:

- B: a sav mennyisége, ami a NaOH titrálásához szükséges a kontroll mintában (ml)
- S: a sav mennyisége, ami a NaOH titrálásához szükséges a növényvédő szer kezelt talajokban (ml)
- M: HCl molaritása
- DW: a száraz talaj tömege (g)
- E: (6 g/mol) a C egyenértékű súlya, melyet a titrálási reakcióban a OH⁻ ionok használtak.

A CO₂ és OH⁻ ionok, valamint a víz és egy C egyenlő a 2 OH⁻ ionnal. Ezért a semlegesítés egy hidroxidion és hidrogén proton egyenlő fél C mol tömegével, azaz 12/2 = 6.

3.2.4. Teljes szervesszén-tartalom (TOC) meghatározása a talajban

A talaj TOC-tartalmat dikromátos ($K_2Cr_2O_7$) oxidációval és titrálással vas-ammónium-szulfát hozzáadásával elemeztem (WALKLEY & BLACK, 1934). A mintában lévő szerves anyag kálium-bikromátos ($K_2Cr_2O_7$) oxidációkor elhasználódik.

Kimértem 1,00 g talajt egy 500 ml-es Erlenmeyer-lombikba. Hozzáadtam 10 ml kálium-dikromát (1 N) oldatot. Ehhez hozzáadtam még 20 ml kénsavat és óvatosan rotációs keverést alkalmaztam 1 percig, ügyelve arra, hogy a lombik oldalán ne maradjon felkapaszkodott talaj. 30 percig állni hagytam. Hozzáadtam 10 ml foszforsavat, 0,2 g ammónium-fluoridot, valamint 10 csepp difenil-amin indikátort. 0,5 N vas-ammónium-szulfát oldattal titráltam, amíg a színe tompa zöldből kék színre nem változott. Majd ezután elkészíttem a vaktitrálást azonos módon.

Számítás:

- % Szerves anyag = $10 [1(S \div B)] \times 0,67$
- S = mintatitrálás, B = vaktitrálás üres

3.2.5. A talajban élő baktériumok és a fonalas gombák előfordulása

Táplemezes módszerrel meghatároztam az aerob heterotróf baktériumok, fonalas gombák és cellulózbontók teljes csíraszámát a talajban. A talajból 10 g mennyiséget felaprítottam, majd 90 ml steril fiziológiás sóoldatba (0,85%-os NaCl) helyeztem. A szuszpenzióból steril csapvízzel hígítási sort készítettem. A talajban előforduló összes aerob heterotróf baktériumok, fonalas gombák és cellulózbontók számát szelektív táplemezek felhasználásával határoztam meg (SZEGLI, 1979). Ennek során a mintákból 1 ml-jével (10^{-4} -tól 10^{-7} -ig hígítási sorból) szélesztettem Nutrient + ciklohexidin (100 μ g/ml), maláta kivonat és PDA. A mikroorganizmusokat 28°C-on inkubáltam (a baktériumokat 48 órán keresztül, fonalas gombákat pedig 3–5 napig) a fent említett táptalajokon.

3.2.6. A cellulózbontók vizsgálata

A cellulózbontók meghatározására, HENDRICKS et al. (1995) módszerével cellulóz agarlemezeket oltottam kétféle táptalaj (PDA: gombák és Nutrient agar: baktériumok) felhasználásával, melyek tartalmazták a karboximetil-cellulóz kongó-vörös (CMC-Kongó-vörös) szubsztrátumot. Az enzimtermelés a sósav hatására megállt, így a telepeik körül ibolyakék gyűrűt produkáló törzsek a cellulózbontók (BAYOUMI HAMUDA et al., 2009).

3.2.7. A talaj enzimaktivitása

Az FDA (3',6'-diacetyl-fluoreszcein) aktivitás mérésére a ZELLES et al. (1991) által kidolgozott, SCHNÜRER & ROSSWALL (1982) által módosított módszert alkalmaztam. A fluoreszcein-koncentrációt (μg hidrolizáló fluoreszcein/g száraz talaj/h), spektrofotométer (490 nm) segítségével határoztam meg.

3.3. Kísérleti statisztikai analízis

A kísérletet véletlenszerű blokk elrendezésben, három párhuzamos vizsgálatban, három ismétléssel állítottam be. A kezelések közötti statisztikailag igazolható eltérések kiszámításához az átlag, szórás és egyszeres osztályozásra épülő szignifikáns eltérést ($P < 0,05$ szinten), korrelációt (R^2) használtam.

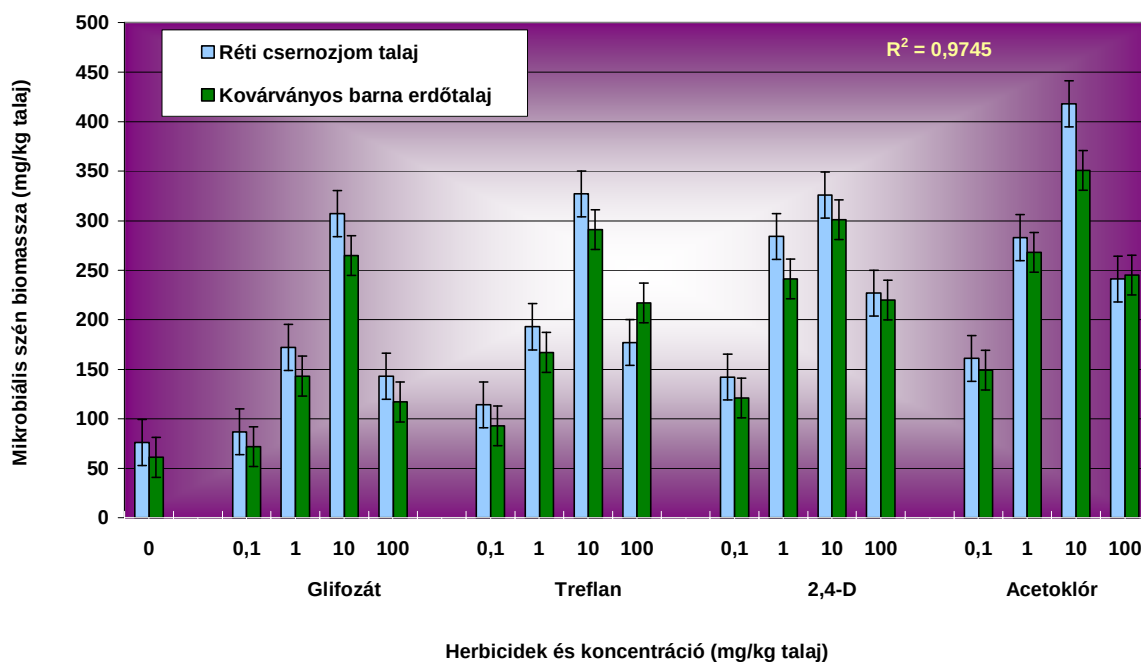
4. EREDMÉNYEK

4.1. Különböző szén-meghatározási módszerek a herbicidekkel kezelt talajokban

A talaj MCB mennyiségének ismerete a növényi tápelemek transzformációja, és a talajállapot minőségének jellemzése miatt fontos. Meghatározását leggyakrabban kloroform fumigációs módszerrel végzik. A kloroformkezelés hatására bekövetkező tömeges mikrobapusztulás arányos az összes biotomassza mennyiségével, amely a többlet CO₂-képződés, vagy a talajból kivonható megnövekedett szerves anyag alapján mérhető. A megnövekedett CO₂ lehet intenzív légzés eredménye is. Tárgyaljuk az inkubációs és extrakciós módszereket, összehasonlítva más eljárásokkal.

4.1.1. A mikrobiális szén biotomassza vizsgálata

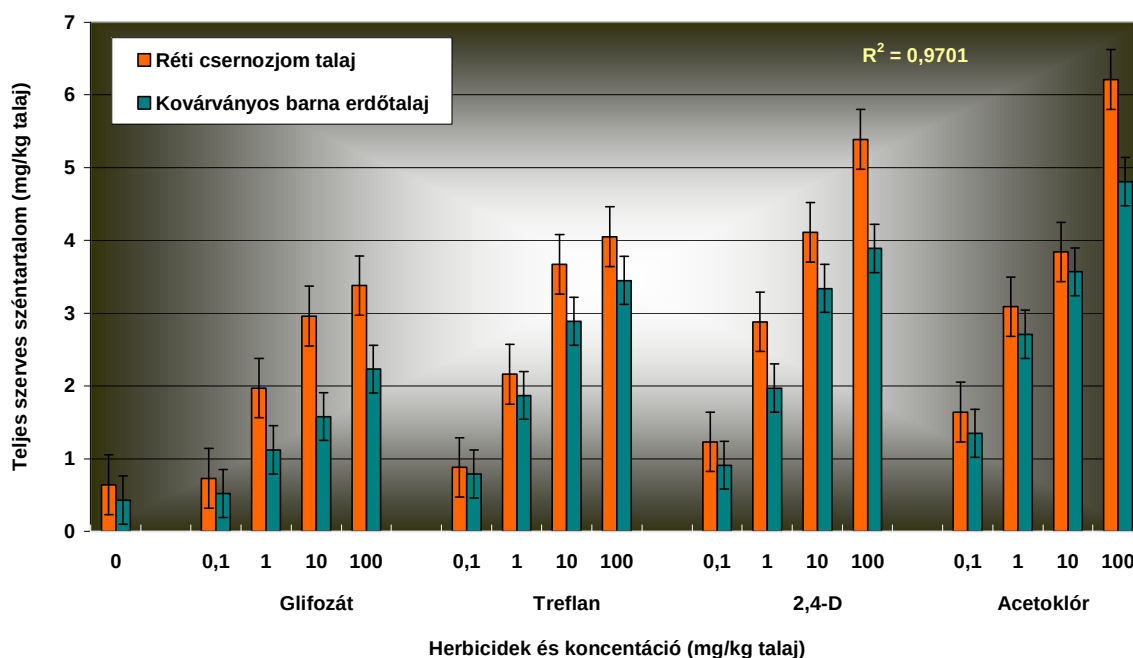
A kontrollon kívül négy herbicid dózis alkalmazásával megállapított eredmények azt mutatják, hogy a kezelt talajok mért MCB értéke mindig magasabb, mint a kontrollé (1. ábra). A legnagyobb MCB értéket a 10 mg/kg talajkezelésnél mértem. A RCST kezelése során a MCB minden esetben magasabb volt, mint a KBET-nél, kivéve a 100 mg/kg talaj koncentrációjú acetoklór kezelésnél. A mért eredmények alapján a herbicid gátlási sorrend a következő: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.



1. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalaj mikrobiális szén biotomassza tartalmára

4.1.2. A teljes szerves széntartalom meghatározása

Ezt a kísérletet (mint a többi is) 1 hétig tartó $28 \pm 2^\circ\text{C}$ -on történő inkubáció során négy herbicid dózis alkalmazásával végeztem el. A TOC magába foglalja a talajban lévő élő, elpusztult és az élettelen szerves anyagokat, továbbá a herbicideket, mint szénforrást egyaránt. A TOC vizsgálatát hasonlóképpen végeztem, mint az MCB-t. A herbicidek neve illetve azok mennyisége is megegyezik az előzőekkel. A herbicidekkel kezelt talaj TOC-tartalma minden alkalmazott koncentráció esetén nagyobb volt, mint a kontrollé (2. ábra). A RCST kezelése során a TOC minden esetben sokkal magasabb volt, mint a KBET TOC értéke. A legmagasabb TOC értéket 100 mg/kg talaj herbicid koncentrációnál mértem. A herbicid gátlási sorrend szintén: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.

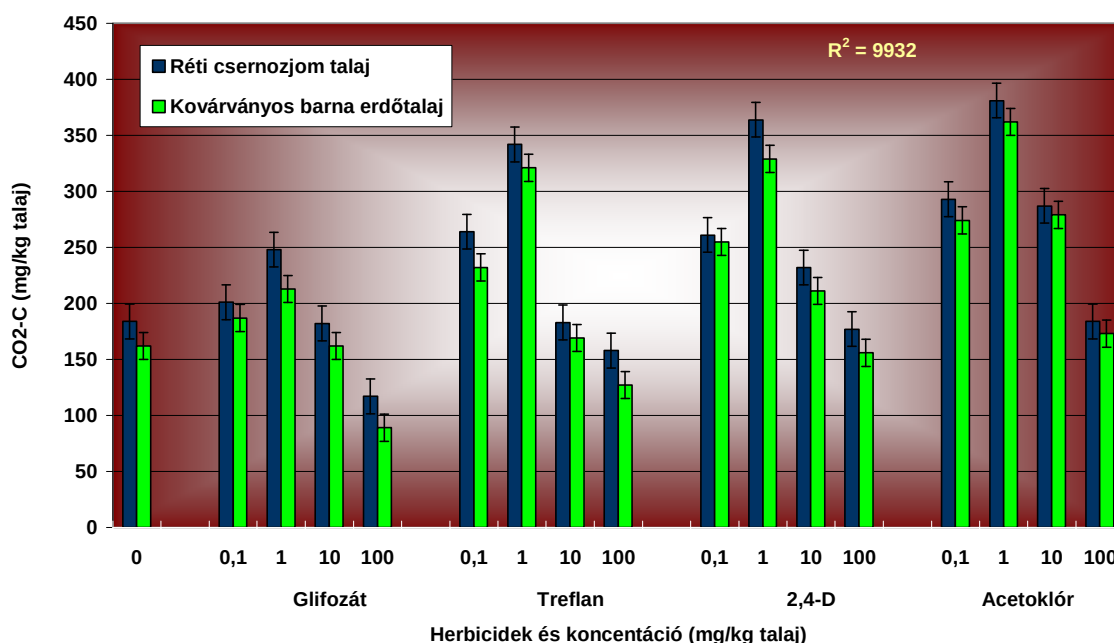


2. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalaj teljes szerves széntartalmára

4.1.3. A talaj CO₂ tartalmának vizsgálata

Az egy cserépedényben lévő 200 mm magasságú talajban ugyanazon herbicideket és ugyanazon dózisokat alkalmaztam. Az anaerob folyamatok hiánya miatt a CO₂ mennyiséget csak a herbicidekkel kezelt talajban lévő aerob élőlények légzése során keletkezett gázmennyiségből kaptam. Ebben a kísérletben már nem mindig voltak magasabbak a herbicidekkel kezelt talajok eredményei, mint a kontrollé (3. ábra). A diagramon az látható, hogy az 1 mg/kg talaj herbicid koncentrációnál mértem a legmagasabb CO₂ kibocsátást, mert a toleráns mikrobák ezen dózisú herbicideket még

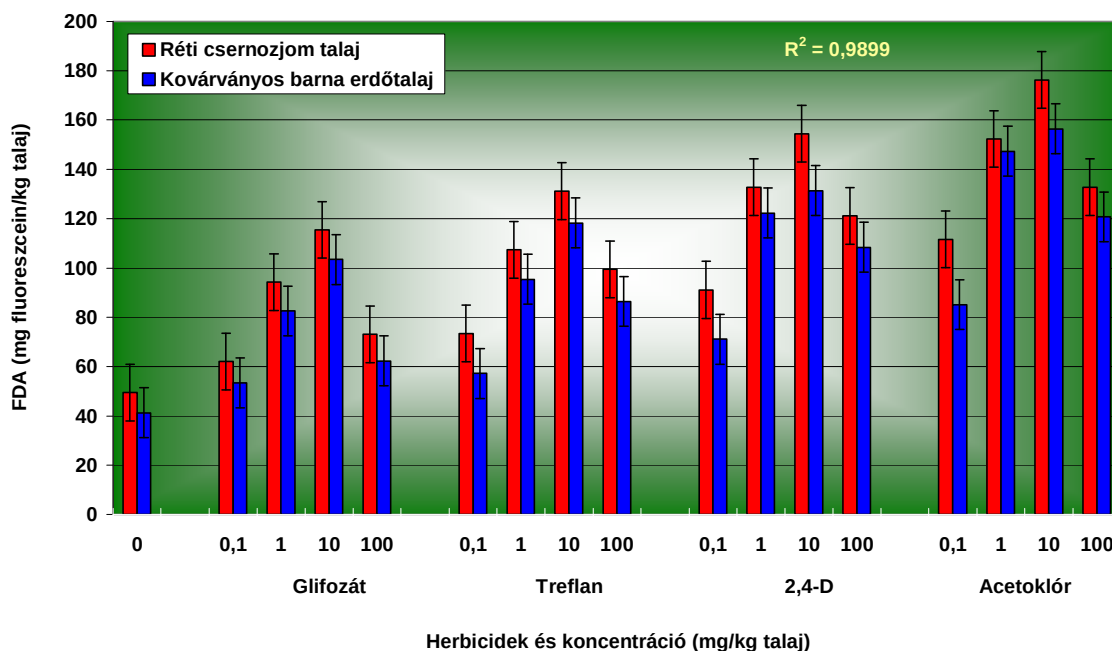
képesek voltak oxidálni, viszont a nagyobb dózisú herbicid által elpusztultak az élő aerob szervezetek, így kevesebb CO₂-ot termeltek. Ebben az esetben is RCST-ra nagyobb CO₂ kibocsátást mértünk, mint a KBET-ra. A herbicid gátlási sorrend változatlan maradt (glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór).



3. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajban élő mikrobák CO₂-kibocsátására

4.2. A herbicid hatása az FDA enzimaktivitásra

Az FDA hidrolízisével meghatározható a teljes mikrobiális aktivitás a talajban. Az FDA egy konjugált fluorescein, két acetát csoportot tartalmaz. Ez a színtelen vegyület egyaránt hidrolizálja az exoenzimeket és a membránhoz kötött endoenzimeket, aminek következtében egy színes végtermék, fluoreszcein keletkezik. Az FDA meghatározást ugyanazon két külön talajra végeztem el, az előzőekhez hasonlóan négy különböző koncentrációban (4. ábra). Az FDA mennyisége a herbicidekkel kezelt talajokban mindig magasabb volt, mint a kontrollban. A legmagasabb enzimaktivitást 10 mg/kg talajban tapasztalhatam. A RCST-ban minden esetben magasabb FDA koncentráció volt mérhető, mint a KBET-ban. Az eredmények alapján a herbicidek gátlási sorrendje: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.



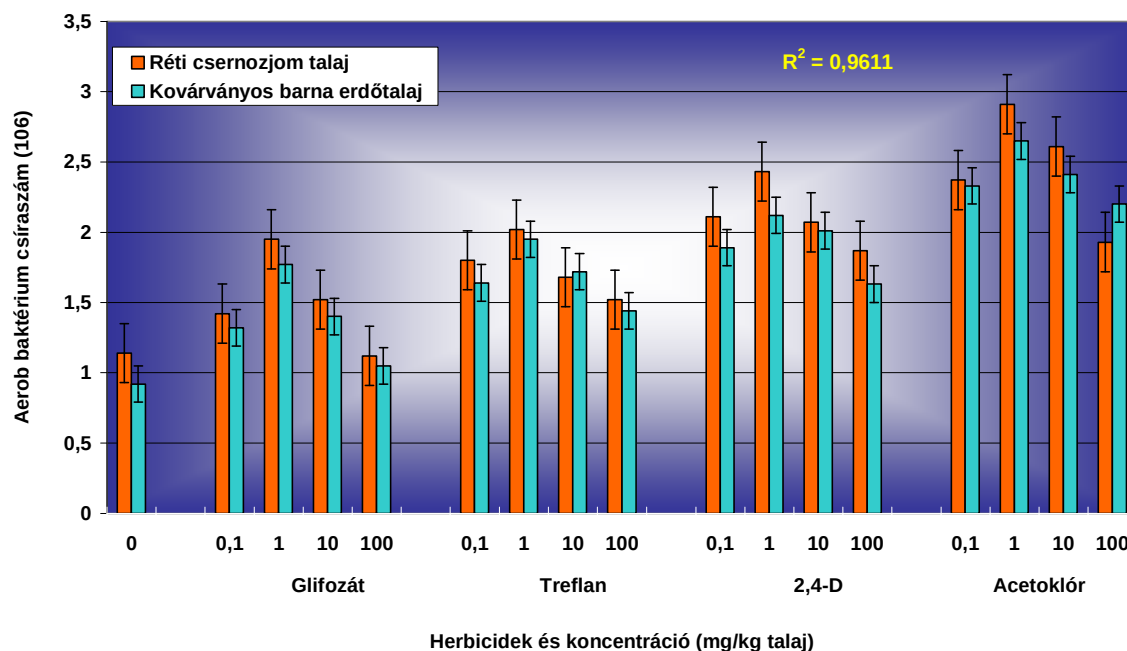
4. *ábra* Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajban lévő élőlények enzim aktivitására (FDA mg/kg talaj)

4.3. A herbicid hatása a különböző mikrobiális populációkra

Az egyes mikroorganizmusok érzékenysége jelentősen különbözhet a talajokban, ami által az eredeti mikrobiológiai összetétel megváltozásával hosszabb távon akár a talaj funkcionális elváltozásai is számolni kell. A herbicidek elsődleges hatásai attól függnék, hogy az élőlények életfolyamataiban részt vevő anyagokkal milyen kémiai reakciók következnek be.

4.3.1. Aerob heterotróf baktériumok csíraszámának vizsgálata

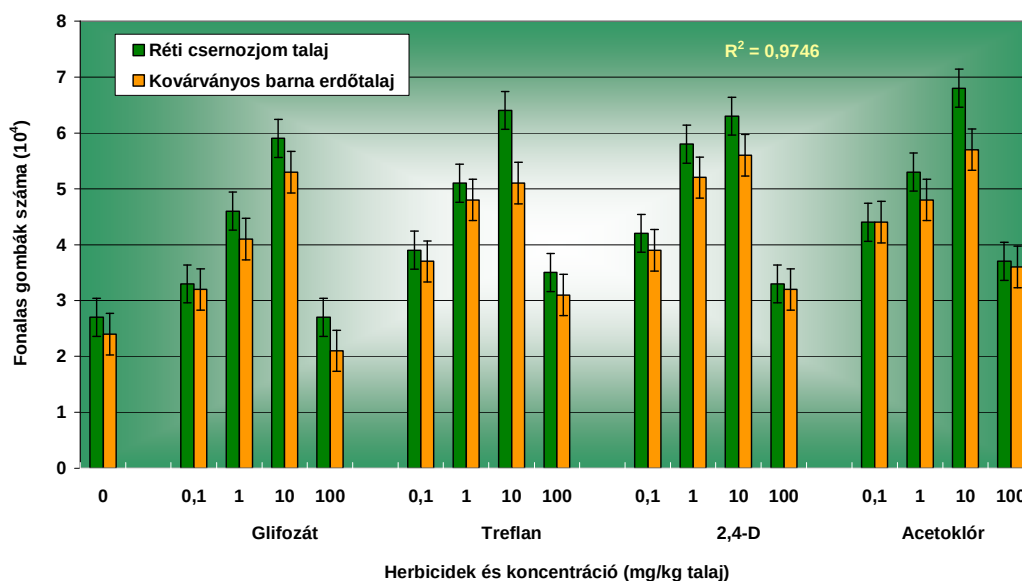
A vizsgálat során négy herbicidet négy különböző koncentrációban alkalmaztam. Megállapítottam, hogy az 1 mg herbicid/kg talaj koncentráció esetén volt mérhető a legnagyobb aerob csíraszám mindkét talajtípusnál, majd a magasabb dózisú herbicid alkalmazásánál elkezdett csökkenni az aerob élőlények száma, mivel fokozatos pusztulás következett be (5. *ábra*). A herbicidekkel kezelt mintában minden esetben nagyobb aerob baktériumok populációja, mint a kontrollban, kivéve a 100 mg glifozát/kg KBET koncentrációban. A mérési eredmények alapján kimutatható, hogy minden esetben a herbiciddel kezelt RCST aerob baktérium populációja nagyobb, mint a KBET-ban, kivéve a 100 mg acetoklór és a 10 mg trifluralin /kg talaj koncentrációnál. A herbicid gátlási sorrend: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.



5. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajban élő aerob heterotróf baktériumok csíraszámára

4.3.2. Fonalas gombák számának meghatározása

A fonalas gombák számát két különböző táptalajon négy koncentrációban határoztam meg (6. ábra). A herbiciddel történő talajkezelés után azt tapasztaltam, hogy a PDA táptalajon nagyobb volt a populáció, mint a malátakivonat agaron. Így a gombapopulációt a PDA táptalajra vonatkoztatva számoltam meg.

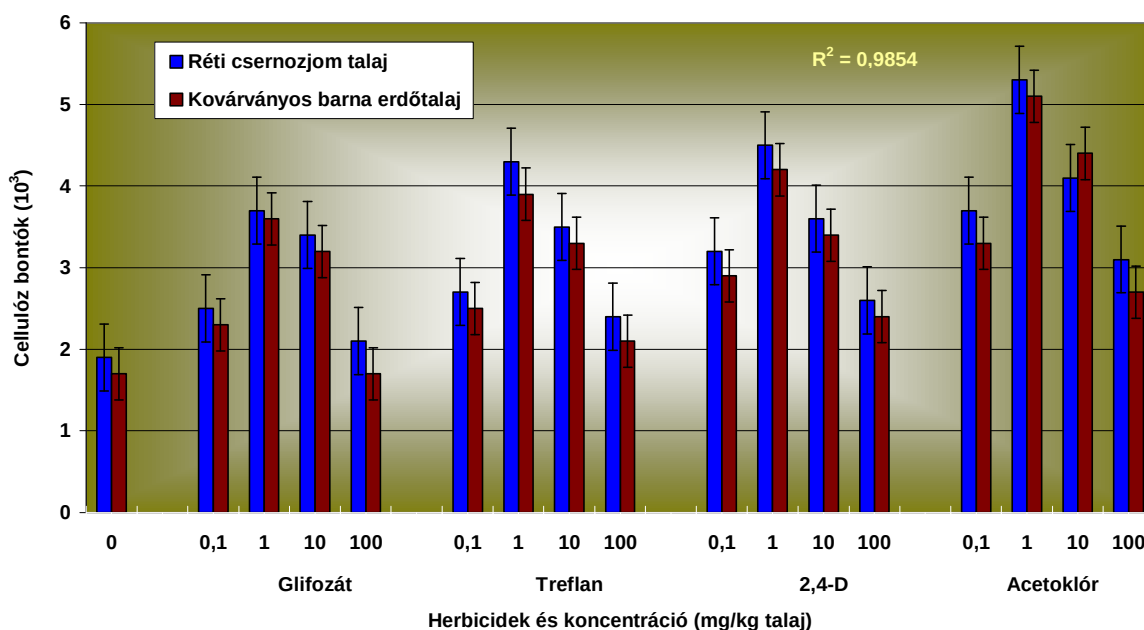


6. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajban élő fonalas gombák számára

A legnagyobb gombaszámot 10 mg/kg herbicid-koncentrációjú talajban figyeltem meg. Ezt követően a magasabb (100 mg/kg) koncentrációnál gombatelep szám csökkenést észleltem, ami a glifozát esetében kisebb volt, mint a kontrollnál. A RCST-ban lévő gombatelepek száma minden herbicid-mennyiségnél magasabb volt a KBET-ban mértékhez képest, de egyes esetekben csak nagyon kis mértékű volt az eltérés. A herbicid gátlási sorrend: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.

4.3.3. A cellulózbontó mikrobák számának meghatározása

A herbiciddel kezelt talajok mikrobaszámát CMC szubsztrátum segítségével számoltam meg. A RCST esetén majdnem mindig kicsit magasabb cellulózbontó mennyiséget figyeltem meg, kivéve a 10 mg/kg talaj alkalmazáskor acetoklór kezelés hatására, mint a KBET-ban (7. ábra). A legmagasabb cellulózbontó populáció 1 mg/kg talajnál volt megfigyelhető, összességében az acetoklórnál volt a legnagyobb populációmennyiség. 0,1-1 mg/kg herbicid koncentrációig minden esetben nőtt a cellulózbontó mikrobák száma, majd a további 10 és 100 mg/kg koncentrációknál csökkenést tapasztaltam, de minden esetben magasabb volt, mint a kontroll, kivéve a 100 mg/kg koncentrációjú glifozátnál KBET-on. A herbicid gátlási sorrend a következő: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.



7. ábra Herbicidek hatása a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajban élő cellulózbontókra

A kísérletek mérési eredményeinek alapján (1-7. ábra) kijelenthető, hogy a vizsgált paraméterekre a négyféle herbicid alkalmazása a kétféle talajon a kezeletlen talajokhoz képest, az ugyanolyan dózisú herbiciddel kezelt talajok között, és az egyféle talaj különböző herbicid dózisokkal történő kezelése során sem mutat mindig szignifikáns különbséget. A korreláció a hét ábrán láthatóan erőteljes volt.

A mért eredményekből kiderül, hogy a herbicidek nem mindig voltak negatív hatással a vizsgált tényezőkre. Egy paraméteren belül a négyféle herbicid azonos koncentrációban gyakorolta legkisebb mértékű gátló hatást. (II. táblázat)

II. táblázat: A különböző herbicidek legkisebb mértékű gátlása a vizsgált paraméterekre a réti csernozjom és a kovárványos barna erdőtalajokon egyaránt.

Paraméterek	Herbicidek			
	Glifozát	Trifluralin	2,4-D	Acetoklór
Mikrobiális szén biotassza	10	10	10	10
Teljes szerves szén	100	100	100	100
Szén-dioxid	1	1	1	1
FDA enzimaktivitás	10	10	10	10
Baktériumok csíraszám	1	1	1	1
Fonális gombapopuláció	10	10	10	10
Cellulózbontók mennyisége	1	1	1	1

5. AZ EREDMÉNYEK MEGVITATÁSA

Régóta ismert, hogy a talajban élő mikroorganizmusok csíraszám alapján történő mennyiségi meghatározása nem ad reális kvantitatív adatot az összes biomasszára vonatkozóan. Ezért számos, a tenyésztés szelektív hatását kiküszöbölő módszert dolgoztak ki az utóbbi évtizedekben, amelyek közül egyszerűségüknél és rutinszerű alkalmazhatóságuknál fogva kiemelkednek a kloroform fumigációs eljárások. Előnyük, hogy a mérések eredményeként közvetlenül a biomassza széntartalmát kapjuk meg, szemben más biomassza becslő eljárásokkal, melyeknél bonyolult és nehezen kalibrálható átszámítási eljárások szükségesek. Jelen összefoglaló aktualitását az adja, hogy több, mint 20 évvel ezelőtt jelent meg a BROOKES et al. (1985) és VANCE et al. (1987) által vezetett rothamstedi kutatócsoport öt cikkből álló sorozata a Soil Biology & Biochemistry folyóiratban. Azóta több mint ezer tudományos cikkben közöltek eredményeket a kloroform fumigációs módszer alkalmazásával (SZILI-KOVÁCS & TÓTH, 2006). A saját kísérleteim is ezt igazolják. (1. ábra).

Mezőgazdasági talajokban a mikrobiális szén 0,1–1,0 g/kg és rendszerint az TOC 1–3%-át teszi ki. Ez a sejttömeg 100–600 kg nitrogént és 50–300 kg foszfort köt meg egy hektár talajban a felső 30 cm-es rétegben (MARTENS, 1995). Az MCB tápanyag szolgáltató képessége abból adódik, hogy míg a növényekben a C:N arány 40–80:1, addig a mikroorganizmusokban ez jóval kisebb, 6–12:1. A mikroorganizmusok foszforból is jóval többet tartalmaznak, mint a növények. Az MCB-t számos modell (JENKINSON, 1990) figyelembe veszi a talaj C- és N-forgalmának tanulmányozásában. A hazai tartamkísérletek talajainak szervesszén dinamikáját és ezen belül a mikrobiális szén jelentőségét, eddig kevesen kutatták (KÁTAI, 2006). A mikrobiális populációk változásai, gyakran megelőzik a talaj fizikai és kémiai tulajdonságaiban bekövetkező változásokat (4. ábra) és a kimutatható eltéréseket, ami talajállapot korai figyelmeztető jele lehet. Végül pedig, a talajmikroorganizmusok nagyon sok talajfolyamatban vesznek részt. ACCINELLI et al. (2002) szerint 2-200 mg/kg glifozát alkalmazása serkentő hatással volt a talaj enzimaktivitására. Eredményeimet továbbá ZABALOY et al. (2010) és DAS et al. (2007) kutatásai is alátámasztják. ZABALOY & GÓMEZ (2008) azt tapasztalta, hogy a 100 µg/kg koncentrációjú metszulfuron kezelés hatására hat hetes inkubálás után csökkent a CO₂-kibocsátás a talajban. Több kutatási eredmény is alátámasztja, hogy a szántóföldi dóziséú glifozát és a 2,4-D alkalmazása a mikrobiális légzésre különösebb hatást nem fejtett ki (pl.: ZABALOY & GÓMEZ, 2008 és BUSSE et al., 2001). PARTOAZAR et al. (2011) szerint 50 mM

glifozát mennyiségnél a mikrobiális légzés nőtt, így megállapítható, hogy a mikrobiális populáció száma növekedett, viszont 500 mM glifozát alkalmazása gátló hatással volt a légzésre.

A tápanyagok felszabadulása és megkötése a mikroorganizmusok életmenet dinamikájától függ. A talajba került növényi maradványok és a gyökerek által kiválasztott anyagok elősegítik a biomassza növekedését és a tápanyagok megkötését, a mikroorganizmusok pusztulását viszont ezen anyagok felszabadulása követi. A glifozátot, mint foszfor tartalmú szerves anyagot a baktériumok foszfor-, szén- és nitrogénforrásként hasznosítani tudják (VAN EERD et al., 2003). A baktériumok (ZABALOY & GÓMEZ, 2008) és a gombatelepek (BUSSE et al., 2001) száma és tömege a fenti okok miatt a szántóföldi dózis alkalmazása alapján nőtt. GIMSING et al. (2004) ötféle dán talajtípuson nagyon szoros összefüggést talált a glifozát alkalmazási aránya és a *Pseudomonas* különböző fajtáinak CFU száma között. ZABALOY et al. (2010) szerint 10 mg/kg talaj koncentrációnál kevesebb 2,4-D alkalmazása nem volt negatív hatással a baktériumok szaporodására. A mikrobiális indikáció előnyös tulajdonságai PANKHURST et al. (1995) szerint a következők: a mikroorganizmusok a változásokra gyorsan reagálnak, és gyorsan alkalmazkodnak a környezeti feltételekhez, ezt igazolják az általam végzett kísérletek is (5., 6., 7. ábra). A cellulózbontó baktériumok populációira is negatív hatást fejtettek ki a herbicidek. SÁNDOR et al. (2007) kísérletei azt az eredményt mutatják, hogy a cellulózbontó baktériumok száma kevésbé csökkent az alsóbb rétegekben, mint a felsőbb rétegekben. FRIONI (1981) azt tapasztalta, hogy a szántóföldi dózisonál magasabb 2,4-D koncentráció hatására csökkent az *Azotobacter* száma. A saját kísérleti eredmények alapján nem tapasztaltam negatív hatást a cellulózbontó mikrobák populációira (7. ábra).

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A mikrobiális indikációs módszerek potenciálisan alkalmasak lehetnek a talajminőség megállapítására. A mikrobiális változók szezonális változása, a talajképző kőzetben, a textúrában, a klimatikus körülményekben és a növényzetben megnyilvánuló különbségek, továbbá a megfelelő referencia értékek hiányai is gátolják az összehasonlíthatóságot. A talajminőség mikrobiális indikációja ennek ellenére két területen lehet perspektivikus, az egyik a talajművelés által előidézett degradáció, a másik a szennyezések hatására jelentkező funkcionális változások kimutatása. Ezek megközelítése komplex változókkal biztonságosabb lehet, mint egyedi változók vagy indexek alkalmazásával.

Az egy hétig tartó 28°C-on 45%-os talajnedvesség tartalomban végzett laboratóriumi kutatómunka négy herbicid alkalmazásával (glifozát, trifluralin, 2,4-D és acetoklór) a következő paraméterek (MCB, TOC, CO₂ kibocsátás, a talaj FDA aktivitás) elemzésére irányul, négyféle herbicid dózis alkalmazásával, azonos és elkülönülő érzékenységgű RCST és a KBET mintázatokra.

A dolgozat összegzi az elért eredményeket a herbicidek környezetre való hatásának vonatkozásában. A kísérletek eredményei alapján megállapítottam, hogy:

- Az MCB, a TOC, a CO₂, a FDA mennyiségére valamint az aerob heterotróf mezofil baktériumok, gombák és cellulózbontó mikrobák populációira a négyféle herbicid alkalmazása a RCST és a KBET-on a kezeletlen talajokhoz képest, az ugyanolyan dózisú herbiciddel kezelt talajok között, és az egyféle talaj különböző herbicid dózisokkal történő kezelése során sem mutat mindig szignifikáns különbséget.
- A herbicidek toxicitási sorrendje a vizsgálati tényezők alapján ez lett: glifozát > trifluralin > 2,4-D > acetoklór.
- Az előbb felsorolt paraméterek a RCST-nál általában magasabbak voltak, mint a KBET-nál.
- 100 mg/kg herbicid a TOC-on kívül mindkét talajban gátolt minden kísérleti paramétert.
- 10 mg/kg herbicid alkalmazása során a gombák populációjának, az FDA-nak illetve az MCB-nak a mennyisége magasabb volt, mint a CO₂ TOC baktériumok és a cellulózbontó mikrobák egyedszámának mennyisége.
- A 0,1 és 1 mg/kg mennyiségű herbicidnek stimuláló hatása volt minden paraméterre.

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy a glifozát toxicitása a legmagasabb, így ez a herbicid befolyásolja a leginkább a talaj biológiai rendszerét, mivel csökkenti a talaj tápanyagtartalmát.

Az elért eredmények további alátámasztása érdekében szükségesnek tartom szabadföldi kísérletek elvégzését, melyek kimenetele befolyásolhatja a felhalmozódó herbicidek környezettudatos felhasználását.

A talajok eredményes herbicidek-kezelése érdekében szükséges vizsgálni a talaj biológiai tulajdonságait, melyek szoros összefüggésben vannak a talaj minőségével. A talajok biokomponensei általában gyorsabban reagálnak a változó talajkörülményekre, mint a talaj fiziko-kémiai tulajdonságai, ezért a talajban élő mikrobapopulációk és az enzimaktivitás mértéke bioindikátorként szolgál a talaj termőképességét illetően.

További kutatásokra van szükség ahhoz, hogy a szabványban regisztrált herbicidek környezetre gyakorolt hosszú távú alkalmazás során bekövetkező esetleges negatív hatását fel tudjuk mérni a mezőgazdasági hozamra és a talajtermékenységre, valamint fontos ismerni, hogy van-e a esetleges toxikus hatásuk a mikrobiális folyamatokra a talajban. Éppen ezért a továbbiakban folytatni fogom a dolgozat témájára kiterjedő kutatásaimat.

7. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönetet mondok mindazoknak, akik elősegítették munkámat.

Munkámat az

Óbudai Egyetem Rejtő Sándor Könnyűipari és Környezetmérnöki Kar,
Környezetmérnöki Intézetében készítetem el.

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni:

Konzulensemnek **Prof. Dr. habil Bayoumi Hamuda Hosam** úrnak munkámhoz nyújtott önzetlen segítségéért és értékes tanácsaiért, sok szakmai és emberi segítségéért, valamint a kísérleti háttér biztosításáért.

Hálával tartozunk **Prof. Dr. habil Patkó István** kari dékán úrnak és egyben az intézet igazgatójának, valamint az intézet munkatársainak, hogy megfelelő háttérrel biztosítottak terveink megvalósításához.

8. IRODALOMJEGYZÉK

- ACCINELLI C., SCREPANTI C., DINELLI G., VICARI A. (2002): Short-time effects of pure and formulated herbicides on soil microbial activity and biomass. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **82**, 519-527.
- ADAMS J.M., FAURE H., FAURE-DENARD L., MCGLADE J.M., WOODWARD F.I. (1990): Increases in terrestrial carbon storage from the last glacial maximum to the present. *Nature*, London, **348**, 711-714.
- ANDERSON J.P.E. (1982): In: Methods of Soil Analysis. PAGE A.L., MILLER R.H. (Eds.), Part 2. ASA Madison, WI, pp. 831-871.
- BAYOUMI HAMUDA H.E.A.F., OROSZ E., HORVÁTH M., PALÁGYI A., SZEDERNÉ B.B., PATKÓ I., KECSKÉS M. (2009): Szennyvíziszap hatása egyes talajsajátságokra, a *Lycopersicon esculentum* L. növekedésére és rizoszféra tulajdonságaira modellkísérletben. *Agrokémia és Talajtan*, **58**, 325-342.
- BENITEZ E., MELGAR R., NOGALES R. (2004): Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.*, **36**, 1615-1623.
- BROOKES P.C., LANDMAN A., PUDEN G., JENKINSON D.S. (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 837-842.
- BUSSE M.D., RATCLIFF A. W., Shestak C. J., Powers R. F. (2001): Glyphosate toxicity and the effect of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1777-1789.
- CHOWDHURY A., PRADHAN S., SAHA M., SANYAL N. (2008): Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Ind. J. Microbiol.*, **48**, 114-127.
- DAS P., PAL R., CHOWDHURY A. (2007): Effect of novaluron on microbial biomass, respiration, and fluorescein diacetate-hydrolyzing activity in tropical soils. *Biol. Fertil. Soils*, **44**, 387-391.
- DELORENZO M.E., SCOTT G.I., ROSS P.E. (2000): Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms. *Environm. Toxicol. Chem.*, **20**, 84-98.
- ENGELN B., MEINKEN K., VON WINTZINGERODE F., HEUER H., MALKOMES H., BACKHAUS H. (1998): Monitoring impact of pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting in addition to conventional testing procedures. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, 2814-2821.
- ENTRY J.A., DONNELLY P.K., EMMINGHAM W.H. (1995): Atrazine and 2,4-D mineralization in relation to microbial biomass in soils of young-, second-, and old-growth riparian forests. *Appl. Soil Ecol.*, **2**, 77-84.
- FRIONI L. (1981): Efecto de atrazina, linurón y 2,4-D amina sorbe algunas propiedades biológicas de un suelo. II Ensayo de laboratorio. *Rev. Argent. Microbiol.*, **13**, 9-16.
- FURCZAK J., GOSTKOWSKA K. (1982): Biological activity of soil monocultures with applied herbicides. Part III. Effects of long-term application of Afalon in soil under potato monoculture. *Polish J. Soil Sci.*, **15**, 45-52.

- GIMSING A.L., BORGGAAARD O.K., JACOBSEN O.S., AAMAND J., SORESEN J. (2004): Chemical and microbiological soil characteristics controlling glyphosate mineralisation in Danish surface soils. *Appl. Soil Ecol.*, **27**, 233-242.
- HELMECZI B., KÁTAI J., BESSENYEI M. (1988): Effect of herbicides on growth of some microscopic soil fungus species. *Acta Microbiol. Hung.*, **35**, 429-432.
- HENDRICKS C.W., DOYLE, J.D., HUGLEY B. (1995): A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**, 2016-2019.
- HUNYADI K., BÉRES I., KAZINCZI G. (2000): Gyomnövények, gyomirtás, gyombiológia. Mezőgazda Kiadó, Budapest, p. 383-474.
- IMSENYECKIJ A.A. (1950): Mikrobiologija cellulozü. Izd. AN: SSSR. Moszkva
- INUI H., SHIOTA N., IDO Y., INOUE T., HIROSE S., KAWAHIGASHI H., OHKAWA Y., OHKAWA H. (2001): Herbicide metabolism and tolerance in the transgenic rice plants expressing human CYP2C9 and CYP2C19. *Pest. Biochem. Physiol.*, **71**, 156-169.
- JAKAB J. (1991): Biological activity in soil under various forest stands. *Agrokémia és Talajtan*, **40**, 561-564.
- JENKINSON D.S. (1990): The turnover of organic carbon and nitrogen in soil. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.*, **329**, 361-368.
- JOERGENSEN R.G, BROOKES P.C., JENKINSON D.S. (1990): Survival of the soil microbial biomass at elevated temperatures. *Soil Biol. Biochem.*, **22**, 1129-1136.
- JOHNSEN K., JACOBSEN C.S., TORSVIK V. (2001): Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils. *Biol. Fertil. Soils*, **33**, 443-453.
- JUNNILA S., HEINONENTANSKI H., ERVIÖ L.R., LAITINEN P. (1996): Phytotoxic persistence and microbiological effect of chlorsulfuron in Finnish soils. *Weed Res.*, **34**, 413-423.
- KÁTAI J. (2006): Changes in soil characteristics in mono-and triculture long-term field experiment. *Agrokémia és Talajtan*, **55**, 183-192.
- KÁTAI J., VERES E. (2003): The effects of herbicides used in maize culture on the microbial activity in soil. 2nd International Symposium. „Natural Resources and Sustainable Development”. May 22-25, 2003. Nagyvárad, Románia. 114-115.
- KE X., WINTER K., FILSER J. (2005): Effects of soil mesofauna and farming management on decomposition of clover litter: a microcosm experiment. *Soil Biol. Biochem.*, **37**, 731-738.
- KRÖEL-DULAY GY., KALAPOS T., MOJZES A. (2008): Talaj-vegetáció-klíma kölcsönhatások. MTA ÖBKI, 135-146.
- KUZYAKOV Y. (2006): Sources of CO₂ efflux from soil and review of partition in methods. *Soil Biol. Biochem.*, **38**, 425-448.
- LUNDEGARDTH H. (1927): Carbon dioxide evolution of soil and crop growth. *Soil Sci.*, **23**, 417-450.
- LUNDGREN B. (1981): Fluorescein diacetate as a stain of metabolically active bacteria in soil. *Oikos*, **36**, 17-22.

- LUPWAYI N.Z., HANSON K.G., HARKER K.N., CLAYTON G.W., BLACKSHAW R.E., O'DONOVAN J.T., JOHNSON E.N., GAN Y., IRVINE R.B., MONREAL M.A. (2007): Soil microbial biomass, functional diversity and enzyme activity in glyphosate-resistant wheat-canola rotations under low-disturbance direct seeding and conventional tillage. *Soil Biol. Biochem.*, **39**, 1418-1427.
- LUPWAYI N.Z., HARKER K.N., CLAYTON G. W., TURKINGTON T.K., RICE W.A., O'DONOVAN J.T. (2004): Soil microbial biomass and diversity after herbicide application. *Can. J. Plant Sci.*, **84**: 677-685.
- MANNHEIM V. (2011): Veszélyes peszticidek kontra környezetkímélő mezőgazdaság. *Zöld Ipar Magazin*. I. évfolyam, március. 29-31.
- MARTENS R. (1995): Current methods for measuring microbial biomass C in soil: Potentials and limitations. *Biol. Fertil. Soils*, **19**, 87-99.
- MÜLLER G. (1991): Az agroökológia talajmikrobiológiai kérdései és az intenzív mezőgazdasági termelés. *Agrokémia és talajtan*, **40**, 263-272.
- NOWAK A. (1983): Oddziaływania uboczne pestycydów na mikroflorę i niektóre właściwości biochemiczne gleby. *Post. Mikrobiol.*, **22**, 95.
- PANKHURST C.E., HAWKE B.G., MCDONALD H.J., KIRKBY C.A., BUCKERFIELD J.C., MICHELSEN P., O'BRIEN K.A., GUPTA V.V.S.R., DOUBE B.M. (1995): Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Aust. J. Exp. Agr.*, **35**, 1015-1028.
- PARTOAZAR M., HOODAKI M., TAHMOURESPOUR A. (2011): The effect of glyphosate application on soil microbial activities in agrocultural land. *Afri. J. Biotechnol.*, **10**, 19419-19424.
- PIETR S., JABŁOŃSKA B. (1987): The effect of action of herbicides on some chemical parameters and the enzymatic activity of soils. *Polish J. Soil Sci.*, **20** (2), 17-23.
- RADIOJEVIĆ L.J., GAŠIĆ S., ŠANTRIĆ L.J., STANKOVIĆ-KALEZIĆ R. (2008): The impact of atrazine on several biochemical properties of chernozem soil. *J. Serb. Chem. Soc.*, **73** (10), 951-959.
- RATH A.K., RAMAKRISHNAN B., KUMARASWAMY S., BHARATI K., SINGLA P., SETHUNATHAN N. (1998): Effect of pesticides on microbial biomass of flooded soil. *Chemosphere*, **37**, 661-671.
- SÁNDOR ZS., KÁTAI J., TÁLLAI M., VARGA A., BALOGH E. (2007): The effect of herbicides applied in maize on the dynamics of some soil microbial groups and soil enzyme activity. *Cereal Res. Commun.*, **35**, 1025-1028.
- SCHNÜRER J., ROSSWALL T. (1982): Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.*, **43**, 1256-1261.
- SEBIOMO A., OGUNDERO V.W., BANKOLE S.A. (2011): Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity. *Afri. J. Biotechnol.*, **10** (5), 770-778.
- SZEGI J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazd. Kiadó. Budapest.
- SZILI-KOVÁCS T., TÓTH J.A. (2006): A talaj mikrobiális biomassza meghatározása kloroform fumigációs módszerrel. *Agrokémia és Talajtan*, **55**, 515-530.

- TAYLOR-LOVELL S., SIMS G.K., WAX L.M. (2002): Effects of moisture, temperature, and biological activity on the degradation of isoxaflutole in soil. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5626-5633.
- VANCE E.D., BROOKS P.C., JENKINSON D.S. (1987): An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. *Soil Biol. Biochem.*, **19**, 703-707.
- VAN EERD L.L., HOAGLAND E.R., HALL J.C. (2003): Pesticide metabolism in plants and microorganisms. *Weed Sci.*, **51**:472-495.
- WALKLEY A., BLACK I.L. (1934): An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed determination of the chromic acid titration method. *Soil Sci.*, **37**, 29-38.
- WARDLE D.A., PARKINSON D. (1992): Influence of the herbicides 2,4-D and glyphosate on soil microbial biomass and activity: A field experiment. *Soil Biol. Biochem.*, **24**, 185-186.
- WARDLE D.A., YEATES G.W., NOCHOLSON K.S., BONNER K.I. WATSON R.N. (1999): Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decomposition to agricultural intensification over a seven year period. *Soil. Biol. Biochem.*, **31**, 1707-1720.
- WYSZKOWSKA J., KUCHARSKI J. (2004): Biochemical and Physicochemical Properties of Soil Contaminated with Herbicide Triflurotox 250 EC. *Pol. J. Environ. St.*, **13**, (2) 223-231.
- ZABALOY M.C., GARLAND J.L., GÓMEZ M.A. (2010): Assessment of the impact of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on indigenous herbicide-degrading bacteria and microbial community function in an agricultural soil. *Appl. Soil Ecol.*, **46**, 240-246.
- ZABALOY M.C., GÓMEZ M.A. (2008): Microbial respiration in soils of the Argentine Pampas after metsulfuron-methyl, 2,4-D and glyphosate treatments. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, **39**, 370-385.
- ZELLES L., ADRIAN P., BAI Q.Y., STEPPER K., ADRIAN M.V., FISCHER K., MAIER A., ZIEGLER A. (1991): Microbial activity measured in soils stored under different temperatures and humidity conditions. *Soil Biol. Biochem.*, **191**, 955-962.
- ZSUPOSNÉ OLÁH Á. (2005): The effect of cultivation methods on the decomposition of cellulose on meadow chernozem soil. *Cereal Res. Commun.*, **33**, 341-344.