



ÓBUDAI EGYETEM

REJTŐ SÁNDOR KÖNNYŰIPARI
ÉS KÖRNYEZETMÉRNÖKI KAR

TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI DOLGOZAT

**NÉGY HERBICID HATÁSA AZ ENZIM-
TEVÉKENYSÉGRE A BARNA ERDŐ TALAJBAN**

Szerző:

Farkas Lilla Nóra

Környezetmérnök szak

Másodéves hallgató

Konzulens: Prof. Dr. habil. Bayoumi Hamuda Hosam

Budapest, 2021-2022/1

Tartalom

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS.....	4
1.1 Bevezetés.....	4
1.2. Célkitűzés	5
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	6
2.1. Általános.....	6
2.2. Herbicidek kémia és fellépésük.....	8
2.2.1 Szerves foszfor (Glicin).....	9
2.2.2 Klóracetamidok	9
2.2.3. Szulfonilureák és imidazolinonok	10
2.2.4 Triazinok, fenil-karbamidok.....	10
2.2.5 Fenoxikarbonsavak.....	11
2.2.6 Dinitroanilinek.....	11
2.3. A talajenzimek, mint a környezeti célok szempontjából hasznos eszközök	12
2.4. A herbicidek hatása a talajenzimekre.....	14
2.5. Herbicidek és szerves szén.....	17
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	18
3.1. Anyagok	18
3.1.1 A talaj jellemzése	18
3.1.2 Gyomirtó szerek	19
A tesztelt herbicidek karakterei	19
3.2 Alkalmazott módszerek	20
3.2.1. Kísérleti beállítás és herbicidek kezelése.....	20
3.2.2 A szerves szén dinamikájának meghatározása	21
3.2.3. A herbicidek hatása a talaj potenciális enzimaktivitására.....	22
• Amiláz aktivitása.....	22
• Invertáz aktivitása	22
• Celluláz aktivitása	22
• β -glükózidáz aktivitás	23
• N- α -benzoyl-L-argininamid (protease-BAA) proteázaktivitása	23
• Ureáz aktivitása.....	23
• Foszfátáz aktivitása	23
• Aril-szulfátáz aktivitása	24
3.3. Statisztikai analízis	24
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKESELÉSÜK.....	25
5. KÖVETKEZTETÉS.....	35

6.	ÖSSZEFOGLALÁS	36
7.	IRODALOMJEGYZÉK	38

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉS

1.1 Bevezetés

A mai világ egyik legnagyobb problémája a környezetszennyezés és azon belül a talajszennyezés. A vegyi műtrágyák és növényvédő szerek használata hatalmas károkat okozott a környezetben. A mezőgazdasági rendszerekben a gyomok jelentős korlátokat és költséget jelentenek a mezőgazdasági termelés számára világszerte. Becslések szerint gyomirtás nélkül a termésveszteség a búza esetében 29%-tól a rizsnövények esetében pedig 47%-ig terjedne [1]. A gyomirtás a történelemben még pár száz évvel ezelőtt manuálisan, illetve mechanikusan történt, a talajművelés valamilyen formájával. Jóllehet ez minden bizonnyal hatékony a gyom előfordulásának csökkentésére és a vetőmagok számára megfelelő magágy biztosítására, a talaj mechanikai zavara számos káros mellékhatással is jár, például növeli a talajerózió és a talaj szervesanyag-veszteségének kockázatát. Az ember nagymértékben függ a herbicidektől, annak érdekében, hogy fellelődjön a mezőgazdasági termelést. A fejlődő országokban a legnagyobb kihívás a mezőgazdasági termelékenység javítása és fenntartása annak érdekében, hogy az ország önellátóvá válhasson az élelmiszertermelésben, ezáltal fejlődésre bírva az ország gazdaságát. A gyomirtó szerek globális felhasználása az elmúlt három évtizedben jelentősen megnőtt, reagálva arra, hogy a gyomirtás során egyre kevésbé támaszkodnak már a mechanikus művelésre, irtásra. Felmerültek gyomirtó szerek esetében azok fokozott használatának lehetőségei, amelyek negatívan befolyásolhatják a talaj organizmusait és rontják az általuk a növénytermesztéshez kapcsolódó hozam mennyiségét. Az enzimek környezeti célokra való felhasználása az idő előrehaladtával egyre inkább növekszik a fehérjék ezen osztályának sajátos tulajdonságai miatt, ezért a szántóföldet gyakran módosítják agrokémikáliákkal a mezőgazdasági termelékenység növelése érdekében. A természetes ökoszisztémák, alacsony ökológiai sokféleséggel jellemzett mezőgazdasági ökoszisztémákká történő átalakításával, valamint a gazdálkodási rendszerek intenzív fejlesztésével a növényvédő szerek, különösen a rovarirtók, például rovarölők, fungicidek és herbicidek széles körű alkalmazását eredményezték. A fenntartható mezőgazdaság magában foglalja a mezőgazdasági erőforrások optimalizálását, egyúttal a környezet minőségének fenntartását, valamint a természeti erőforrások megtartását. A mezőgazdasági termelés jelentős növelésének szükségessége sürgető problémává vált, különösen a világ kevésbé fejlett területein, így az agrokémiai felhasználás további növelése megoldható, előre tervezhető. Különböző növényvédő szereket és egyéb mezőgazdasági

vegyszereket vizsgáltak annak megállapítása céljából, hogy ezek milyen hatással vannak a talaj mikroorganizmusaira és az enzimaktivitásokra, ugyanakkor ritkán számolnak be a kiválasztott enzimaktivitások jellegéről és tulajdonságairól folytatott vitákról. A herbicidek alkalmazása, mint hatékony gyakorlat a növények gyomirtására, a mezőgazdasági rendszerekben megnőtt. Noha a herbicidek fontosak a mezőgazdaság számára, aggodalomra ad okot a környezetben bekövetkező sorsuk és a talaj biológiai tulajdonságaira gyakorolt hatása. A biológiai tulajdonságok kritikus fontosságúak az ökoszisztéma működésében, mivel részt vesznek a talaj szerves anyagainak lebontásában, a tápanyagok körforgásában és a peszticidek, például a herbicidek lebontásában. Ebből fakadóan a herbicidek talajbiológiai tulajdonságokra gyakorolt hatását értékelő tanulmányok fontosak a talaj minőségének és annak egészségének értékeléséhez. Ezen kívül a talaj biológiai tulajdonságai hatékonyabbak a talaj minőségének mutatóiként, mint a fizikai és kémiai tulajdonságok, mivel gyakran gyorsabb reakciót mutatnak a környezeti hatásokra, változásokra. Fontos és reagálóképes biológiai tulajdonságként gyakran ajánlják a talaj mikrobiális biomasszáját és enzimaktivitásait a herbicidek talajkörnyezetre gyakorolt hatásainak értékeléséhez.

1.2. Célkitűzés

E tanulmány célja négy féle gyomirtó szer: glifozát; 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav (2,4-D); trifluralin és parakvát barna erdő talajtípusra gyakorolt potenciális hatásának minősítése, valamint a talaj enzimatis aktivitásainak vizsgálata, illetve annak bemutatása.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Általános

Ideális esetben a herbicidek alkalmazásának a célja, hogy ezek használata a növényeink számára védelmet jelentsenek a kompetitív gyomnövényektől, annak károsítása nélkül. Szerencsére ez a tipikus eset, ugyanakkor a gyomirtó szerek alkalmanként károsíthatják növényeinket. A herbicidek által károsított növények kockázatának minimalizálása érdekében meg kell érteni ezek működését és azok aktivitását befolyásoló tényezőket. Ezen információk felhasználásával kedvezőbb döntéseket hozhatunk a növénykárosodás kockázatairól a herbicidek kiválasztásakor vagy alkalmazásakor. A legtöbb szántóföldi növényi gyomirtó szer szelektív, ami azt jelenti, hogy a gyomirtó csak meghatározott gyomok ellen véd. A legtöbb gyomirtó szer esetében ez a szelektivitás azon alapul, hogy a növény természetes módon képes metabolizálni vagy lebontani a gyomirtót nem mérgező vegyi anyagokká, mielőtt károsítaná a növényt. Vannak más esetek, amikor a herbicid szelektivitás az elhelyezésen alapul. Szerencsére a vegyipari cégek számos gyomirtót fejlesztettek ki vagy fedeztek fel, amelyeket növényeink természetes módon elviselnek, csak kis sérülési kockázattal. Egészen a közelmúltig, ha rendelkezésre állt egy jól funkcionáló gyomirtó szer, de a növény nem tudta elviselni annak közvetlen hatásait, kevés remény volt a herbicid alkalmazására ezen növény esetében. Az intenzív mezőgazdasági-fejlesztés és az élelmiszerigény iránti megnövekedett kereslet a növényvédő szerek robbanásszerű alkalmazásához vezetett. Ezeknek a termékeknek a használata a növényvédelem egyik legfontosabb módszertani pillére a másik pedig a növényi termékek védelme a károsító szervezetekkel szemben, ideértve a gyomokat is. Az elmúlt években a herbicidekre-, a természeti környezetre és az emberi egészségre gyakorolt kockázata miatt- nagy figyelmet fordítottak. A mezőgazdaság biológiai sokféleségének összetevőin belül a gyomok a szántóföldi öko-intenzitás elvére támaszkodó kezelési lehetőségek feltárásának modelljei. A gyomok csökkenthetik a növénytermesztést, hozzájárulhatnak a termőföld funkcionális biodiverzitásához, és szorosan kapcsolódnak a herbicidhasználat általános kérdéséhez. A talaj enzimatiszus aktivitásai a bioszférikus tápanyagok újrafeldolgozásának elengedhetetlen elemei, ezért vizsgálati bioindikátorként fontosak minden herbicideket érintő ökotoxikológiai értékelés során. A talaj enzimatiszus folyamatai a talaj minőségének és a talaj egészségének szerves részét képezik és e folyamatok jobb megértésére van szükség. Nagyobb a gyomirtó szerek károsító hatásának veszélye azoknál a gyomirtóknál, amelyek metabolizmuson vagy elhelyezésen alapuló szelektivitással rendelkeznek. Bármelyik szelektivitás esetében meg kell érteni azokat a környezeti

feltételeket, amelyek befolyásolják a herbicid aktivitását. Az anyagcsere-alapú szelektivitás szempontjából a herbicidnek a növényre gyakorolt károsító hatásának lehetősége megnő, ha több herbicid kerül a növénybe (felvételi folyamat), vagy ha a növény anyagcseréje lelassul. A herbicid felszívódást fokozó környezeti feltételek attól függenek, hogy a herbicidet vetés- vagy posztemergens módon alkalmazzák-e. A kelés előtti alkalmazásoknál a csírázó növények magja több gyomirtót vesz fel, ha több gyomirtó szer áll rendelkezésre, és a rendelkezésre állás fokozódik, ha a talaj durvább textúrájú vagy kevesebb a szerves anyag tartalma. Akár durva textúrájú talajoknál, akár alacsony szerves anyagnál kevesebb gyomirtó szer abszorbeálódik a talaj részecskéihez, így a növényi csemete több herbicidet tesz elérhetővé a felvételhez, mint a magasabb szervesanyag-tartalmú vagy finomabb textúrájú talajok. A nagyobb talajnedvesség növeli a talajvízben elérhető herbicid mennyiségét is, összehasonlítva a száraz talajjal, ahol több herbicid kötődik a talaj részecskéihez. A posztemergens alkalmazásoknál nagyobb a herbicid felszívódás, amikor is azok könnyebben tudnak behatolni a levél viaszos bevonatán, azaz a kutikulán keresztül. Példának okáért egy fiatal csemete vékony kutikuláján könnyebben átjut a gyomirtó szer, mint egy vastag kutikulán egy idősebb növény esetében. Az időjárási körülmények szintén befolyásolják a felszívódás mértékét. A jó talajnedvesség és a magas páratartalom miatt vízzel duzzadó kutikula több „vízcsatornával” rendelkezik a herbicid diffúziójához képest, mint az aszálytól megterhelt növény, kiszáradt kutikulával. A magasabb léghőmérséklet emeli a posztemergens herbicid felszívódást is. Természetesen az adjuvánsok nagy hatással vannak a posztemergens herbicid felszívódásra is. A herbicid felszívódása után a metabolizmusának vagy nem toxikus vegyi anyagokra történő lebontásának sebessége a következő lépés annak meghatározásához, hogy bekövetkezik-e a terméskárosodás az anyagcserén alapuló szelektivitás szempontjából. Az anyagcsere sebessége a herbicidtől, a növekedéstől és a hőmérséklettől függ. A legtöbb herbicidet a növényi enzimek metabolizálják, és ezeknek a reakcióknak a sebessége magasabb hőmérséklet mellett nő. Alacsonyabb hőmérsékleten előfordulhat, hogy ezek az enzimek nem metabolizálnak elegendő gyomirtót, mielőtt valamilyen terméskárosodás bekövetkezne. Egyes gyomirtó szerek címkéi megjegyzik, hogy ezen időjárási viszonyok a növények károsodásához vezethetnek. További tényezők, amelyek befolyásolhatják a terméskárosodás kockázatát: a növények növekedésének szakaszai, a genetikai különbségek és a herbicid kölcsönhatások. A legtöbb esetben a korai alkalmazási módok, mint például a vetési- vagy preemergens alkalmazások nagyobb termésbiztonságot kínálnak, mint a későbbi, posztemergensek. A bizonyos genetikai háttérrel rendelkező növények érzékenyek lehetnek a sérülésekre is.

2.2. Herbicidek kémia és fellépésük

A herbicidek elsődleges feladata, hogy megvédjék a mezőgazdasági növényeket a gyomoktól való fertőzéstől, és megakadályozzák, hogy a szántóföldet az ökoszisztémában őshonos növénytakaró benője. A herbicidekként ismert vegyi anyagok főleg szintetikus szerves vegyületek, széles molekuláris konfigurációval, amelyek közös tulajdonsága a szelektivitás elpusztítása vagy a gyomok növekedésének gátlása. A szelektív gyomirtó szer késlelteti a növekedést vagy elpusztítja a gyomnövényeket, míg egy másik növényt a növekedésben ugyanez a kezelés nem befolyásol. Kémiaiilag a herbicidet a növényekre gyakorolt toxicitása alapján osztályozzák. Számos kémiai osztály létezik, a herbicid hatás különböző típusaival, így minden egyes kémiaiilag egyedülálló herbicid hatása a nem célszervezetekre valószínűleg más és nehezen általánosítható. A herbicidek talajbiológiára és funkcióra gyakorolt hatásainak előrejelzésében további bonyodalom a herbicidek felhasználási aránya és a talajban való koncentrációja közötti kapcsolat. Az 1. táblázat bemutatja a főbb herbicid osztályokat és azok hatásának módját [2].

1. táblázat: A főbb herbicid osztályok és azok hatásmódja [2]

Gyomirtó szer osztály	Hatásmód	Példa
Organofoszfor (glicin)	Az 5-enolpiruvil-sikimát-3-foszfát (EPSP) szintáz gátlása	Glifozát
Klóracetimid	A nagyon hosszú láncú zsírsavszintézis (sejtosztódás) gátlása	Acetoklór
Szulfonilkarbamid	Az acetolaktát-szintáz gátlása (elágazó láncú aminosav-szintézis)	Klórszulfuron
Triazin	A fotoszintézis gátlásán át fotoszisztéma II (PSII)	Atrazin
Fenoxikarbonsavak	Szintetikus auxinek	2,4-D, MCPA
Karbamid, Amide	A fotoszintézis gátlása a PSII-n	Diuron, Propanil
Dinitroanilin	A mikrotubulus összeállításának gátlása	Trifluralin, Pendimethalin
Imidazolinon	Az acetolaktát-szintáz gátlása (elágazó láncú aminosav-szintézis)	Imazetapir, Imazamox
Bipiridilium	Sejt-membrán szétzavarók, stimuláció a légzésben és gátlás a kacsafű fotoszintézisében	Parakvát

A legtöbb ökotoxikológiai vizsgálatot dózis-válasz görbék összeállításával végzik, a koncentrációban megadott toxikus anyag dóziséval (pl. mg/l vagy mg/kg). A gyakorlatban azonban a herbicideket kilogrammban vagy liter / hektárban megadott arányban alkalmazzák. A herbicid koncentráció a talajban, kezdetben a beépülés mélységétől és a talaj térfogatsűrűségétől függ. Alkalmazás után a herbicidek újra eloszlanak a talajprofilon

keresztül, és a koncentrációk az idő múlásával abiotikus és biotikus veszteség és transzport útján csökkennek. Ezeknek a szerves molekuláknak a talajban történő biodegradációja az összes környezeti folyamat közül az egyik legfontosabb, és ezen vegyületek mineralizálódását eredményezheti. Ideális esetben minden felhasznált gyomirtószer kezelésnek, koncentrációnak elég hosszú ideig fenn kell maradnia ahhoz, hogy megfelelő gyomirtást biztosítson, anélkül, hogy komoly ártalmat okozna. A legtöbb természetben előforduló folyamathoz hasonlóan egy adott vegyület perzisztenciája vagy biodegradációja számos kémiai és környezeti tényezőtől függ, amelyek területenként eltérőek lehetnek és amelyek idővel nagyban változhatnak.

2.2.1 Szerves foszfor (Glicin)

A glifozát ebbe az osztályba tartozik. Ez a legszélesebb körben alkalmazott gyomirtó szer a világon [3]. Ez egy nem szelektív gyomirtó szer, amelyet leveleken és hajtásokon keresztül vesz fel, és eloszlik a növényi szövetekben. A glifozát a talaj iránti magas szorpciós affinitásáról ismert, ezért lényegében nem mozgékony a termőföldben. A glifozát nem tekinthető perzisztensnek, mivel fő metabolitjaként aminometil-foszforsavvá (AMPA) történő biotranszformáción megy keresztül. A glifozát megakadályozza az aromás aminosavak szintézisét azáltal, hogy az 5-enolipiruvil-sikimát-3-foszfát-szintázhoz (EPSPS) kötődik és gátolja annak működését. A növényektől eltérően sok mikroorganizmus képes elviselni vagy legyőzni a glifozát toxikus hatásait [4], feltehetően felfelé szabályozott EPSPS termeléssel, módosított EPSPS struktúrákkal vagy a glifozát molekula gyors anyagcseréjével / méregtelenítésével.

2.2.2 Klóracetamidok

A klóracetamid gyomirtó szerek, például a metolaklór és az acetoklór, általában herbicidek. Ezek viszonylag mozgékony és perzisztens herbicidek, különösen a metolaklór. Ezeknek a herbicideknek a hatásmechanizmusa a sejtek osztódásának és megnyúlásának gátlásán keresztül történik a növényekben, számos enzim interferenciája miatt. A nagyon hosszú láncú zsírsavak (VLCFA-k) és a geranilgeranil-pirofoszfát (GGPP) ciklizációs enzimjei a gibberellin termeléséhez szükséges zsírsav-elongáz enzimek, két különösen érzékeny célpont. Az elongázok jelen vannak a baktériumokban, gombákban és prokarióta sejtekben, de sokféle enzimcsaládról van szó, sokféle szubsztráttal és funkcióval. Bonnet et al. [5] kimutatta, hogy a nem specifikus észteráz aktivitás érzékenyebb végpont mutatója az alaklór-toxicitásnak, mint

modellbaktérium és protista, nem pedig populációs dinamika; míg a diuron és glifozát gyomirtókra fordítva volt igaz. Ez arra utal, hogy az elongáz és / vagy a GGPP enzim aktivitásának specifikus elemzése a talajban megfelelő végpontvizsgálat lehet a klór-acetamid herbicidek hatásainak kimutatására. Ezen a területen egyértelműen célzottabb mechanisztikus munka szükséges, mielőtt bármilyen alapos következtetést levonhatnánk [2].

2.2.3. Szulfonilureák és imidazolinonok

A szulfonilkarbamidot és az imidazolinon herbicideket általában gabonafélék előállítására használják, és nagyon alacsony alkalmazási sebesség mellett is hatékonyak más herbicidekhez képest. Az ebbe az osztályba tartozó herbicidek egy része (például klórszulfuron) viszonylag perzisztens és mozgékony. Mindkét herbicid osztály gátolja az acetolaktáz-szintáz (ALS), más néven acetohidroxisav-szintáz (AHAS) enzimet, amely felelős az elágazó láncú leucin, izoleucin és valin aminosavak előállításáért. Az ALS enzim mikroorganizmusokban és növényekben van jelen. Szulfonilureák / imidazolinonok hatására várható a mikrobiális növekedés gátlása. Boldt et al. [6] megerősítették a szulfonilureás herbicidek toxikus hatását a mezőgazdasági talajból izolált fluoreszkáló pszeudomonádokra. 5 mg / l koncentrációban a szulfonilkarbamid-herbicidek a tesztelt törzsek 20%-áig csökkentették a növekedési sebességet. A növekedés gátlása azonban enyhült, ha elágazó láncú aminosavakat adtak a tenyésztő táptalajhoz, ami azt sugallta, hogy a toxicitás módja az ALS gátlása volt, ahogy feltételezték. Hasonló eredményeket figyelt meg Nelson és Duxbury [7] 27 különféle talajbaktérium-izolátum vizsgálatakor, a szerzők arra a következtetésre jutottak, hogy a talaj mikroorganizmusainak többsége csak egy funkcionális ALS-enzimet tartalmaz, amely érzékeny a szulfonilkarbamid-herbicidekre.

2.2.4 Triazinok, fenil-karbamidok, amidok

A triazin, fenil-karbamid és (fenil) -amid herbicidek blokkolják a kinonkötő helyet a II. Fotorendszerben (PSII), ami megnövekedett reaktív oxigéntermeléshez és a membránok, fehérjék és DNS károsodásához vezet. A helyrehozhatatlan károk felhalmozódása végül növénypusztulást okoz. Mivel a PSII hely specifikus a fotoszintetikus organizmusokra, nem valószínű a (nem fotoszintetikus) baktériumok és gombák közvetlen toxicitása ezen hatásmódon keresztül. Ez nem zárja ki a közvetett toxicitás lehetőségét más kinonkötő helyeken vagy ismeretlen reakciókon keresztül, de arra a következtetésre enged juttatni, hogy az ilyen jellegű potenciális hatások magasabb koncentrációkban jelentkezhetnek, mint a

növényekre és az algákra mérgező szint. Ezek a herbicid osztályok általában mobilak és perzisztensek, illetve a „helyszínen kívüli” migrációs potenciáljuk miatt figyelemre méltóak [2].

2.2.5 Fenoxikarbonsavak

A fenoxikarbonsavak utánozzák a növényi hormonok auxin osztályának szerkezetét. A 2,4-D ebbe az osztályba tartozik. Az auxinok szabályozzák a sejtek növekedését és osztódását, és ezáltal kontrollt gyakorolnak a növények alakja és formája felett. Különösen fontosak a növények táplálkozása szempontjából, mivel elindítják a gyökérképződést és az elágazást. Van bizonyíték arra is, hogy az auxinok szerepet játszanak a hasznos növény-mikrobiális asszociációk közvetítésében [8]. Gyomirtó szerként alkalmazva a fenoxikarbonsavak megzavarják a hormon egyensúlyát, növekedési rendellenességeket és sérüléseket okozva, például levélgöndörödést, szövetduzzadást és gyökérhasadást idézve elő. A növények által közvetített hatásokon kívül nem ismertek azok a mechanizmusok, amelyek révén a fenoxikarbonsavak hatással lehetnek a talajban élő szervezetekre. A fenoxikarbonsavak magas koncentrációjának közvetlen toxikus hatása lehet, miközben valószínű, hogy az alacsony szintek zavarhatják a növényi-mikrobiális jelátvitelt, és megváltoztathatják a mikrobaközösségek szerkezetét és működését, különös tekintettel a jótékony és patogén organizmusok egyensúlyára [2].

2.2.6 Dinitroanilinek

A dinitroanilin gyomirtók, mint például a trifluralin és a pendimetalin, megállítják a sejtekben a sejtek mitózist (osztódását) azáltal, hogy megakadályozzák a tubulin polimerizációját mikrotubulusokká [9]. Ez a hatás drámai módon gátolja a növényi szövetek, különösen a gyökerek növekedését, ami csemetepusztulást okoz. Bár korábban azt gondolták, hogy a tubulinok csak eukariótákban vannak, a bizonyítékok arra utalnak, hogy az FtsZ prokarióta sejtosztódási fehérjéje strukturálisan homológ [10]. Ennek ellenére úgy tűnik, hogy a dinitroanilin gyomirtók csak a növényekben, az algákban és a protozoonokban található tubulinokat befolyásolják.

A trifluralin és a pendimetalin egyaránt nagy kötődési affinitással rendelkezik a talajhoz, koncentrációja hosszabb ideig állandó szinten tartható, felezési ideje 180, illetve 90 nap. A trifluralin erős affinitást (kötődést) mutat a talaj iránt és az alkalmazás után gyors elpárologási veszteségekre hajlamos, ezért gyakran be kell építeni a talajba [2].

2.3. A talajenzimek, mint a környezeti célok szempontjából hasznos eszközök

Az enzimek fő szerepet játszanak a bioremediációban, abban a folyamatban, amelyben az enzimeket felhasználják a hulladékokban található specifikus szennyező anyagok megcélzására, átalakítására és eltávolítására. A talajenzimek szerepe változhat és eltérhet a természetes folyamatoktól, például a belső bioremediációtól, a szennyező anyagok szennyezett környezetben kevésbé mérgező vegyületekké történő átalakulásáig [11], a szennyezett környezet manipulálásáig speciális kémiai vagy biokémiai adalékok hozzáadásával vagy bioakkumulációval. Minden folyamat élő sejtben zajlik, és részt vesz a szerves szennyezők eltávolításában, enzimatis lebontásában, valamint a fémionok felhalmozásában és bioprecipitációjában [12]. Az enzimeket a környezet állapotának észlelésére és számszerűsítésére is használták a helyreállítási folyamat előtt, alatt és után. Más szavakkal, az enzimek egy adott molekula vagy melléktermékeinek szenzoraként működhetnek, értékelhetik azok mennyiségét és koncentrációját, valamint felmérhetik a szennyezett hely hatékony helyreállítását. Ebben az esetben az enzimek bioszenzoroként működnek, és egyszerű, nagyon érzékeny vizsgálatokat nyújthatnak a környezeti szennyezés vagy a helyreállításának kezdeti jelzésének felismerésére [13], [14], [15], [16].

Az enzimek másik sajátos funkciója, hogy képesek a talaj/üledék/víz minőségének és egészségének bioindikátoraként működni. Az enzimek nemcsak a szennyezésnek az érintett környezet minőségére gyakorolt hatásáról adhatnak információt, hanem annak helyreállítással történő tényleges állapotáról is [17], [18].

Az enzimek hasznosak lehetnek annak megbecslésében, hogy van-e szennyező anyag, befolyásolták-e az antropogén tényezők, mikor és mennyire, befolyásolták a vízi és / vagy a szárazföldi környezet egészségét. Valójában az enzimek gyorsan áttérhetnek az ökoszisztéma variációira, könnyen mérhetőek, és gyors eszközt jelenthetnek a környezeti változások követésére [19], [20]. Annak érdekében, hogy integráltan leírják az enzim hatásosságát, szennyező anyagokat választottak ki. Ha e kérdések közül legalább kettőre pozitív válasz érkezett: Van-e olyan enzim, amely képes a kiválasztott szennyező anyag átalakítására vagy lebontására? Vajon ugyanaz az enzim képes-e mérni a szennyező anyag vagy melléktermékeinek mennyiségét és / vagy koncentrációját is? Vajon ugyanaz az enzim érzékeny-e a szennyező anyag környezetben való jelenlétére és arra, hogy információt szolgáltatasson-e minőségéről és állapotáról a szennyező jelenlétében/hiányában? Más szavakkal, a szennyező anyagokat úgy választották meg, hogy kapcsolatot teremtsenek a lebomló képességük miatt idézett enzimek és a bioszenzorokként és bioindikátorokként történő kimutatásukhoz használt enzimek között. Ezen kívül számos kiválasztott szennyező

anyag, enzim és mezőgazdasági eset kapcsán közvetlen kísérleti kutatási tapasztalattal rendelkezünk.

A talajenzim aktivitások mérése alkalmas a szennyezés talajegészségre gyakorolt hatásának mérésére és a szennyezett talaj fertőtlenítési folyamatának nyomon követési eszközeként. Ezek más biológiai és kémiai tulajdonságokkal együtt hasznos információkat nyújthatnak a talaj rövid és hosszú távú reakciójáról az alkalmazott rendellenességekre, és felmérhetik, hogy a talaj visszanyerte-e eredeti tulajdonságait, és ha igen, milyen mértékben és mennyi idő alatt. A bioindikátoroknak általában fontos szerepük van a veszélyek felmérésében és helyreállításában a megtisztítási végpontok meghatározásakor. Azonban Dawson és munkatársai [21] a talajok ökológiai veszélyeinek felmérése érdekében mind a kémiai, mind a biológiai információk felhasználására szükség van, bár az egyes biológiai mutatók megválasztásának a talaj jellemzőinek és az elfogadott javítási stratégiának a függvénye kell, hogy legyen.

A talajenzim aktivitások mérésével kapcsolatos problémák megoldása jövőbeli kutatásokat igényel. Valójában még mindig nehéz pontosan meghatározni, mely tényező működtetné gyakorlatilag a talaj biokémiai folyamatait, és összehasonlítani a különböző régiókból vagy klímaövezetektől származó talajenzim adatokat [22].

A talaj termékenységének és egészségének megbízható méréseként használható talajenzim index fejlesztése továbbra is kulcsfontosságú kutatási prioritás, amely új megközelítéseket, ötleteket és technológiákat igényel [23]. A talaj proteomikai, metabolomikai és transzkriptikai vizsgálata valószínűleg a legfontosabb kihívás, amellyel a talajenzimológusok valaha is szembesültek. Amint azt [23] a genetikai sokféleség, valamint a közösség felépítése és működése közötti összefüggések megértésének sürgető igénye megoldható a talajon kívüli enzimek tanulmányozásával, mivel ez utóbbi ideális modellrendszer a mikrobiális identitás összekapcsolására specifikus és kritikus ökoszisztéma-folyamatokkal. Míg a génátiratok kimutatása arra utal, hogy egy enzim termelését megkezdték, a transzláció folyamata kritikus kontrollpont, és így a fehérjék és az enzimek közvetlen kimutatása a végső eszköz az enzimtermelés metabolikus kontrolljainak megértésében.

Ebben a szakaszban a proteomikai technikák nagyszerű, de még nem bizonyított lehetőséget kínálnak az extracelluláris enzimaktivitások szabályozásának és ökológiájának számos aspektusának tisztázására [23]. Ezért az ezeken a kutatási területeken elért eredmények valószínűleg megbízható válaszokat adnak az enzimaktivitások talajminőségi mutatókként történő felhasználására vonatkozó, még máig is megválaszolatlan kérdéseikre.

2.4. A herbicid hatása a talajenzimekre

A természetes és antropogén tényezők közvetlenül vagy közvetve befolyásolhatják a talaj enzim aktivitását. Az antropogén tényezők közül a peszticidek elsődleges jelentőségűek, mivel folyamatosan kerülnek a talaj környezetébe, szerkezetébe. A herbicidek a peszticidek egyik fő csoportja, amelyek olyan anyagokat vagy tenyésztett biológiai organizmusokat tartalmaznak, amelyeket a nem kívánt növények és növényzet növekedésének elpusztítására vagy elnyomására használnak a termesztési költségek minimalizálása és a magas hozam fenntartása érdekében. Számos gyomirtószert nemcsak a kelés előtti vagy utáni gyomirtóként vezettek be [24], hanem nemkívánatos maradványokat is hagynak a talajban, amelyek ökológiailag károsak [25]. Az előnyben részesített gyomirtó szerekek nemcsak jó hatékonysággal kell rendelkezniük, hanem a növényekre, az ökológiára és a környezetre is minimális káros hatást kell gyakorolniuk [26].

A modern biológia erőteljes koncepciója az ökoszisztéma. Az ökoszisztéma a meghatározott területen élő összes típus összesített biotikuma, a nem élő vagy szervesetlen környezet azon részein felül, amelyekkel kölcsönhatásba lépnek. Mikroökoszisztémában a körülmények nagyon eltérhetnek az általános helyzettől, például a táplálkozási állapot, a levegőztetés, a nedvesség és más ökológiai tényezők elérhetőségének korlátozása, amelyek mikroökoszisztémaként eltérőek lehetnek. A talajban található szerves anyagok előnyei közismertek, és széles körben tanulmányozták őket. A szerves hulladék talajmódosításként történő felhasználása hatékony stratégia a degradált területek helyreállításához [27], különösen a fejlődő országokban, amikor a szerves hulladékok ártalmatlanítása komoly problémát jelent. A talajrugalmasság, amelyet a talaj károsítása utáni helyreállítási képességének nevezünk. A kapcsolódó talajminőség kifejezés a talaj azon képességét, hogy egészséges és tápláló növényeket termeljen, ellenálljon az erózióknak és csökkentse a környezeti stressz növényekre gyakorolt hatását. A talaj perturbációjának értékelésére enzimatis aktivitásokat és biokémiai indexeket javasoltak [28].

A tápanyagok növényi hozzáférhetőségét erősen befolyásolják a szerves és szervesetlen változások, amelyek általában növelik a talaj szerves C, N és egyéb tápanyagok mennyiségét. Növényi anyagok, állati maradványok, trágya, szennyvíziszap vagy települési hulladék hozzáadásával nő a talajba adott szerves anyagok mértéke. A módosítások nemcsak közvetlenül befolyásolják a talaj termékenységét, hanem a talaj mikroorganizmusainak összetételét és aktivitását is. A kiválasztott paraméterek, például az enzimaktivitás, a szerves anyagok, a fizikai tulajdonságok, a humuszanyagok szerkezete és képződése, valamint az agronómiai és kémiai tulajdonságok, további információkat nyújtottak a degradált talaj-

ökoszisztémák működéséről és termelékenységéről a megfelelő regenerációs gyakorlatok mellett [29], [30]. Abd-Alla et al. [31] megemlítette, hogy az N, P és K növényvédő szerekkel kezelt növények felhalmozódása alacsonyabb volt, mint a kontroll növényekben. Sessitsch et al. [32] a glufozinát és a metazaklór hatásait vizsgálta az invertáz, az alkalikus foszfatáz és az ureáz, valamint az aril-szulfatáz aktivitására az olajrepce rizoszférájában. Az eredmények azt mutatták, hogy az olajos repce rizoszféra baktériumokat befolyásolta a genetikai módosítás, valamint a herbicid alkalmazás. Öregedéskor az invertáz, az ureáz és az alkalikus foszfatáz aktivitása szignifikánsan megnőtt a rizoszférában.

A herbiciddel kiszárított takarónövények hatással lehetnek a mikrobiális aktivitásra. Mivel a mikroorganizmusok jelentős szerepet játszanak a talaj minőségét közvetlenül befolyásoló talajfolyamatokban [33], ennek a megközelítésnek a talaj biológiai minőségi paramétereire gyakorolt hatása az egyik legfontosabb tényező, amelyet meg kell vizsgálni.

A talajenzimek fontos ciklusokban vannak jelen, például C (invertáz, celluláz, β -glükózidáz), N (ureáz és proteáz), P (foszfatáz) S (aril-szulfatáz) ciklusokban. A talajenzim aktivitásokat a mikrobiális aktivitás indexeként használják [34], és gyorsan reagálnak a környezeti változásokra [35]. A jelentések szerint a glifozát és a parakvát is aktiválást okoznak a talaj ureázban és az invertáz talajenzimekben, de elnyomják a foszfatázt [36]. A talaj perturbációjának mérésére Benitez és munkatársai [28] a hidrolitikus enzimaktivitásokat (foszfatáz, β -glükózidáz), az oxidoreduktáz aktivitásokat (dehidrogenáz) és az indol-ecetsav termelését használták. Az olyan enzimek, mint az észteráz és az aril-szulfatáz, szintén jelzik a talajban alkalmazott herbicidek számos családjának hidrolitikus katabolizmusát. Mindkét tanulmány kimutatta, hogy a herbiciddel kiszárított takarmánynövények fokozták a talaj biológiai minőségének leírásait, nevezetesen a mikrobiális biomasszát, a mikrobiális populációkat és a talajenzim aktivitásokat. Ezek a tényezők potenciálisan befolyásolhatják a növényi tápanyagok elérhetőségét, a szerves anyagok átalakulását és a peszticidek sorsát a környezetben [37], amelyek mind fontosak a fenntartható mezőgazdasági rendszerek kialakításában. A herbicidek használata fontos a növények gyomirtásában. Ugyanakkor hatással lehetnek a talaj tulajdonságaira, például a biológiai tulajdonságokra [38]. A herbicideket nagy mennyiségben használják a modern mezőgazdaságban a nemkívánatos növényfajok leküzdésére egy adott területen belül. A herbicidek fokozott alkalmazása megnövekedett kémiai koncentrációkat eredményez a talajban, megváltozott talajreakciókat és potenciálisan káros hatásokat gyakorol a nem célszervezetekre. A herbicidek ismételt alkalmazása a talaj mikrobiális aktivitásának csökkent vagy megváltozott kockázatával járhat. A környezetben az enzimek legalább három esetben fontos és eltérő szerepet játszhatnak:

mint fő ágensek (izolált, sejthez kötött vagy immobilizált enzimekként), amelyek a környezetet szennyező vegyületek átalakításáért és / vagy lebomlásáért és a szennyezett környezet; megbízható és érzékeny eszközként a szennyező anyagok mennyiségének és koncentrációjának kimutatására és mérésére a helyreállítási folyamat előtt, alatt és után; mint a helyreállítási folyamatnak alávetett környezet minőségének és egészségi állapotának megbízható, könnyű és érzékeny mutatói [39].

A herbicidek biológiailag aktív vegyületek, és alkalmazásuk nem szándékolt következményei jelentős változásokhoz vezethetnek a mikrobiális populációkban és a mikrobiális ökológiai egyensúlyt befolyásoló tevékenységekben, amelyek befolyásolják a talaj termékenységét. Mivel a mikrobaközösség döntő szerepet játszik a szén áramlásában, a tápanyagok körforgásában a lebontásban, ami viszont befolyásolja a talaj termékenységét és a növények növekedését [40], [41], és ezért egyedülálló helyet foglalnak el a biológiai ciklusokban a szárazföldi élőhelyeken. Másrészt a vegyi anyagok bármilyen hatása, amely megváltoztatja a talaj organizmusainak életfunkcióit, közvetett módon befolyásolhatja a talaj enzim aktivitását. Az agrokémiai anyagok gyakran stimulálják vagy csökkentik a talaj mikrobiális populációjának növekedését, és ezáltal megváltoztathatják az enzimaktivitást. Ezen kívül ezek a vegyi anyagok bizonyos élettani hatásokat fejthetnek ki az élő szervezetekre. Egy agrokémiai anyag módosíthatja az adott organizmuscsoport közötti kapcsolatot, és ez által befolyásolhatja a termelt enzim mennyiségét és típusát. Amikor az agrokémiai anyagok a környezetbe kerülnek, körülbelül 1% éri el a célszervezetet, míg maradék 0,99% zavarja a helyi anyagcserét vagy az enzimaktivitásokat [42].

A glifozát, a parakvát, a trifluralin és az atrazin hatását vizsgálták a dehidrogenáz, a foszfatáz és az ureáz talaj enzimaktivitására egy talajban [43]. Beszámoltak arról, hogy az ajánlott dózisok alkalmazásakor a herbicidek nem befolyásolták az enzimaktivitást. A felhasznált talajok széles skálája, nagyon eltérő enzimaktivitással és változó vizsgálati feltételekkel, például hőmérséklet, pH és szubsztrátkoncentrációk voltak felelősek a herbicidek talajra gyakorolt hatásának ellentmondó eredményéért. Tehát komoly kísérleteket kell végrehajtani, esetleg úgy, hogy megítéljük a hatásokat e természetes stresszekkel szemben, vagy a talajenzimek meghatározásának természetes variációinak hátterében. Javasoljuk, hogy a természetes stressz hatásai felhasználhatók legyenek a herbicid által kiváltott változás relatív fontosságának megítélésére.

A talajenzimek aktivitásának értékelésére alkalmazott módszereket az ökoszisztéma zavaraira és a mezőgazdasági gyakorlatokra érzékenynek javasoljuk [39] Számos tanulmány a

talajenzimeket használta indikátorként az agrokémiai anyagok talajfunkcióra gyakorolt lehetséges hatásainak vizsgálatához [44].

2.5. Herbicid és szerves szén

Általában herbicideket alkalmaznak a mezőgazdasági rendszerekben, mivel ez praktikus és hatékony módszer a gyomirtásra. Alkalmazása után a herbicidek különböző utakat követhetnek a környezetben, de a talaj a fő rendeltetési helyük [45]. A talaj összetevői közül a talaj szerves anyagáról (SOM- soil organic matter) számoltak be, hogy fontos tényező a herbicidek visszatartásában, a talajprofil mobilitásának csökkentésében és a környezeti fertőtlenítés lehetőségében [46]. A talajok mikrobiológiai aktivitásának növelése mellett a SOM felgyorsítja a herbicidek biodegradációs folyamatait is [47]. Így a szerves anyagok (OM- organic matter) által a talajban végrehajtott változások csökkenthetik a herbicidek mobilitását a talaj profiljában, és fontos szerepet játszhatnak a környezeti szennyezés kezelésében e molekulák használata miatt [48]. A kationok visszatartása az a fő folyamat, amely beavatkozik a SOM talajban lévő herbicidek viselkedésébe, elősegítve a kimosódás csökkentését és a herbicid molekulák hozzáférhetőségét a lebomlás biztosításához.

A herbicidek biohasznosulása a felszívódási folyamatoknak, a gyomirtásnak, valamint a termékek mikrobiális lebonthatóságának és szennyező anyagként való csökkentésének a környezetben rejlő lehetősége. A herbicideket mind a talaj szerves frakciója, mind az ásványi frakciója megtarthatja [49]. Az összes szerves szén (TOC- total organic carbon) a talaj szerves anyagaiban tárolt szén (C). A szerves szén (OC- organic carbon) a növényi és állati maradványok, a gyökérváladékok, az élő és elhalt mikroorganizmusok, valamint a talaj élővilágának bomlása révén jut a talajba. A SOM a talaj szerves része, amely nem bontott növényi és állati maradványokat tartalmaz. Ennek ellenére a legtöbb analitikai módszer nem tesz különbséget a lebontott és a nem lebontott maradványok között. A SOM heterogén, dinamikus anyag, amelynek részecskemérete, C-tartalma, bomlási sebessége és forgalmi ideje változik [50]. A herbicidek talajban való biológiai hozzáférhetősége az egyes molekulák sajátos jellemzőitől függ. Amikor a molekulák nagyobb visszatartással rendelkeznek az SOM-ban, például a nem ionos és semleges herbicidek esetében, a SOM hidrofób komponenseivel szembeni nagyobb affinitás miatt alacsonyabb a gyomban történő felszívódás és a védekezés lehetősége.

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Anyagok

3.1.1 A talaj jellemzése

A COVID 19 miatti intézményi eljárás következtében a témavezető segített készülni a kísérlettel és a mérésekkel. Az egyetemre az oktatók kivételével nem mehettek be tanulók abban az időszakban és a vakcina várás időszaka alatt nem veszélyeztethettem a témavezetőm egészségét. Skype-on keresztül végeztük közösen a méréseket.

A barna erdei talajminta fizikai-kémiai tulajdonságait a (2.) táblázat mutatja be. A Rejtő Sándor Könnyűipari és Környezetmérnöki Kar kertjében a herbicidekkel nem kezelt területről a talajréteget (0–200 mm) összegyűjtöttem és 4 mm-es szitán átengedtem. A talajtulajdonság kémiai jellemzése az MTA ATK TAKI laboratóriumában történt.

2. táblázat: A felhasznált talajminta jellemzése

Vizsgált paraméterek	Mértékegységek	Eredmények
pH _{KCL}		7,13
EC	μS/cm	483
Σsó	m/m %	0,040
CaCO ₃	m/m %	32,34
H	m/m %	3,34
Légszennyező anyagok	%	99,91
Absz. szárazanyag	%	98,1
Összes N	mg/kg	1930
NH ₄ -N	mg/kg	18,76
NO ₃ -N	mg/kg	13,69
AL-p ₂ O ₅	mg/kg	51,7
AL-K ₂ O	mg/kg	169
AL-Na	mg/kg	37,2
KCl-Mg	mg/kg	146
KCl-S	mg/kg	14,1

A talajmintákat a 2020/2021-es második félévében, februári időszakban gyűjtöttük; úgy, hogy az összes talajminta <45% víztartó képességgel rendelkezett a mintavétel és az ömlesztett talaj tárolása során. A kísérleti beállítás előtt négy héttel a talaj részmintáit laboratóriumi körülmények között (25±3°C) 1 hétig levegőn szárítottam, majd homogenizáltam és szitáltam (4 mm) az intézmény 8-as számú laboratóriumában.

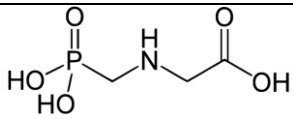
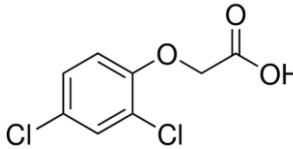
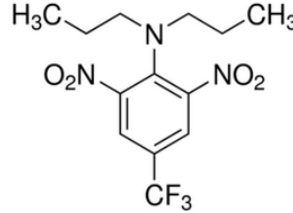
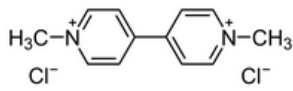
3.1.2 Gyomirtó szerek

A 3. táblázatban szereplő négy herbicidet: glifozátot, 2,4-D-t, trifluralint és parakvátot vízben oldottam. A talajminta tömegéhez elegendő mennyiségű hígított gyomirtó szert adtam, hogy a talaj nedvessége elérje a maximális víztartó képesség (WHC-water holding capacity) 45%-át, és a gyomirtószer-koncentráció a szükséges szinten maradjon, a terepen alkalmazott ajánlott mennyiség szerint.

A tesztelt herbicidek karakterei

- A **2,4-D** egy széles levelű herbicid a fenoxi csoportban, amelyet gyepek és szántóföldi növénytermesztésben használnak. Most elsősorban más gyomirtó szerek keverékében használják, hogy alacsonyabb arányú gyomirtó szereket lehessen használni; ez a legszélesebb körben alkalmazott gyomirtó szer a világon, harmadik az Egyesült Államokban. Ez egy példa a szintetikus auxinra (növényi hormon).
- A **glifozátot**, a szisztémás nem szelektív herbicidet használják gyomirtásra olyan növényekben, amelyek genetikailag módosítottak, hogy ellenálljanak annak hatásainak.
- A **parakvát** egy nem szelektív kontaktkémiai növényvédő, amelyet talajművelés nélküli égetéshez, valamint marihuána és kokaültetvények légi megsemmisítéséhez használnak. Arányaiban erősebb mértékben mérgező az emberek számára, mint bármely más gyomirtó szer, széles körben elterjedt kereskedelmi forgalomban.
- A **trifluralin** egy szintetikus fluorozott dinitroanilin gyomirtó szer, amelyet az egynyári fűvek és a széles levelű gyomok irtására használnak a mezőgazdaságban, a kertészetben, a szőlőtermesztésben, a kényelmi és az otthoni kertekben. A trifluralin egy szelektív, növény előtti, kikelés előtti talajba épített gyomirtó szer a csírázó egynyári fűvek és a széles levelű gyomnövények bizonyos fajtáinak hosszú távú védekezésére a mezőgazdasági és kertészeti növényekben.

3. táblázat: A négy alkalmazott herbicid IUPAC nevei és kémiai szerkezete

Használt gyomirtó szer	Gyomirtó szer osztály	IUPAC név	Kémiai szerkezet
Glifozát	Organofoszfor (glicin)	2-[(Foszfonometil)amino]-ecetsav	
2,4-D	Fenoxikarbonsavak	2-(2,4-diklór-fenoxi) -ecetsav	
Trifluralin	Dinitroanilin	α, α, α -trifluor-2,6-dinitro-N,N-dipropil-p-toluidin	
Parakvát	Bipiridílium	N, N'-dimetil-4,4'-bipiridínium-diklorid	

3.2 Alkalmazott módszerek

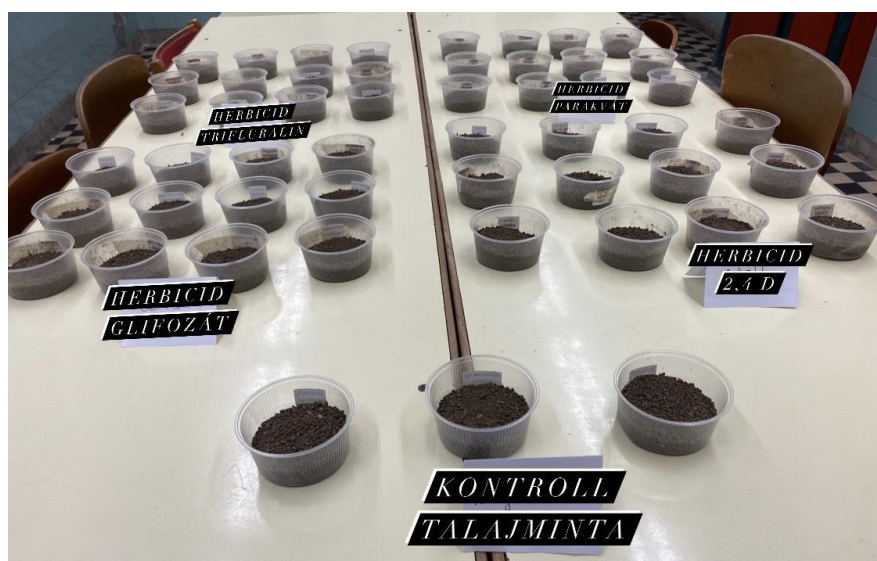
3.2.1. Kísérleti beállítás és herbicid kezelés

A laboratóriumi kísérletet műanyag kísérleti edényben négy herbicid ökotoxikológiai hatásának a teljes szerves szénre és a talaj enzimatis aktivitására történő vizsgálatára tervezték. A friss talajmintákat levegőn szárítottam, 4 mm-es szitán szitáltam és polietilén edénybe helyeztem. Használat előtt a talajmintákat 24 órán át szobahőmérsékleten ($25 \pm 3^\circ\text{C}$) tartottam száraz levegőn. A négy herbicidből kettőt kereskedelmi forgalomban lévő készítményként használtam, másik kettőt annak hazai használatának betiltásából eredően intézményi készletből fedeztem, és a talajmintákhoz adtam a javasolt terepi kijuttatási sebesség mellett, amint azt a 4. táblázat mutatja.

Glifozátot az GLIALKA Express 6H termékből fedeztem a Monsanto Europe gyártásában.

2,4 D-t a Beckmann gyomirtó gyeprágyából fedeztem, melynek cikkszáma: BM10190

Parakvát valamint trifluralin magyarországi kereskedelmi hálózatban már nem kapható, ellenben az intézményben fellelhető. Előbbi Alkaloida ICI, UK míg utóbbi Makhteshim-Agan, Izrael néven.



4. táblázat: Az edénykísérletben alkalmazott négy herbicid terepi alkalmazása

Gyomirtó szer	Helyben alkalmazott dózis
Glifozát	2,6 – 3,4 l/ha
2,4-D	0,28 – 1,12 kg/ha
Trifluralin	0,35 – 0,5 kg/ha
Parakvát	2,0 – 5,0 l/ha

A talajmintákhoz alkalmazott herbicid oldatokat hozzáadtam a talaj vízmegtartó képességének 45%-ához történő hozzáigazításához szükséges nedvesség részeként. A herbicid oldatot fecskendővel permeteztem a talaj felszínére, amelyet ily módon egyszerű volt kezelni és cseppenként adagolni. Edényenként 200 g kezeletlen kontroll és gyomirtó szerrel módosított talajmintákat 24 órán át $25 \pm 3^\circ\text{C}$ hőmérsékleten inkubáltam sötétben. A szárazság elkerülése érdekében naponta kompenzáltam a bepárlásos vízvesztést. A kezeléseket és a kontrollokat három ismétlésben hajtottuk végre, teljesen randomizált blokk kialakítással.

3.2.2 A szerves szén dinamikájának meghatározása

Az összes szerves szenet (TOC) dikromát ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) oxidációval és vas-ammónium-szulfáttal történő titrálassal elemeztem [51]. Ebben a reakcióban a C-t a dikromát-ion oxidálja, és a dikromát-ion feleslegét ezután újra vas-ionnal titráltam. A TOC-t a herbiciddel kezelt talajban és a kontroll talajmintákban határoztam meg.

3.2.3. A herbicidek hatása a talaj potenciális enzimatis aktivitására

Inkubálás után, minden edényből 5 g talajmintát és 50 ml desztillált vizet vettem, amit 30 percig rázattam, hogy homogén talaj szuszpenziókat kapjak. Az enzimvizsgálatok esetében a szerves anyag lebontásában és a tápanyagok körforgásában részt vevő nyolc enzim potenciális aktivitása a következő volt: amiláz, invertáz, celluláz, β -glükózidáz, proteáz, ureáz és foszfatáz, valamint aril-szulfatáz. A talajenzim potenciális aktivitásokat spektrofotometrikus [52] technikákkal határoztuk meg.

• Amiláz aktivitása

Az amiláz potenciális aktivitását a különféle herbicidekkel kezelt talajban Somogyi [53] és Roberge [54] által leírt eljárással keményítő szubsztrátként történő alkalmazásával határoztam meg. Az amiláz aktivitást foszfát puffer (pH = 5,5, 10 ml) és szubsztrát (10 ml 1% keményítő oldat) alkalmazásával határoztam meg. 24 órán át 37°C-on végzett inkubálás után a maltóz-tartalmat 508 nm-en mértem.

• Invertáz aktivitása

Az invertáz potenciális aktivitását spektrofotometriás módszerrel [55] szacharóz szubsztrátként határoztam meg. Az invertázt foszfát puffer (pH = 5,5, 15 ml) és szubsztrát (5 ml 8%-os szacharóz oldat invertázhoz) alkalmazásával határoztam meg. A glükóz mennyiségét 508 nm-en mértem 24 órán át 37°C-on végzett inkubálás után.

• Celluláz aktivitása

A celluláz potenciális aktivitását az alábbiak szerint mértem: 5 g talajmintát helyeztem egy 50 ml-es Erlenmeyer-lombikba, majd 0,5 ml toluollal és 20 ml pufferolt 2% CMC-vel inkubáltam 30°C-on 24 órán át. Inkubálás után a szuszpenziót jól összekevertem, és háromszor 17 390 g-n 10 percig centrifugáltam. A felülúszó egy részét (10 ml) 50 ml-es műanyag centrifugacsőbe helyeztem, és 2 g K-telített kationcserélő gyantával kezeltem. Az elegyet 30 percig rázattam, és a felülúszót Somogyi-Nelson módszerrel elemeztem redukáló cukrok szempontjából [56]. A CMC-vel kezelt talajokból nyert talajkivonatokhoz kifejlesztett kék oldatokat a 710 nm-es színmérés előtt a fent leírtak szerint egyszer centrifugáltam, a celluláz aktivitást mg glükóz kg⁻¹ talajban fejeztem ki.

- **β-glükozidáz aktivitás**

A β-glükozidáz potenciális aktivitását az alábbiak szerint számítottam: 0,5 g talajmintához 2 ml 0,1 M maleát puffert (pH 6,5) és 0,5 ml 50 mM p-nitrofenil-β-D-glükopiranozidot (PNG) adtam. A módszer többi része megegyezett a foszfatáz aktivitásával [60]. A PNP abszorbancia mérése 400 nm-en történt. A β-glükozidáz aktivitást a PNP mol/gramm száraz talajban és az inkubációs idő (óra) formájában fejezem ki.

- **N-α-benzoil-L-argininamid (proteáz-BAA) proteázaktivitása**

A proteáz potenciális aktivitását a következőképpen határoztam meg: 0,5 g talajmintához 2 ml foszfát puffert (pH 7) és 0,5 ml 0,05 M N-α-benzoil-L-argininamid (BAA) szubsztrátot adtam. Az elegyet 37°C-on 90 percig inkubáltam, majd steril desztillált vízzel 10 ml-re hígítottam. Az ammónium felszabadulását ugyanúgy mértem, mint az ureázt [58]. A proteáz aktivitást μmol felszabaduló NH₄⁺-N/gramm száraz talaj/órában fejezik ki.

- **Ureáz aktivitása**

Az ureáz potenciális aktivitását a herbicidekkel kezelt talajok stresszében titrálási módszerrel határoztam meg 0,005 N H₂SO₄ alkalmazásával, bórsav indikátorral [57].

- **Foszfatáz aktivitása**

A foszfatáz potenciális aktivitását a következőképpen hajtottam végre: 0,5 g talajmintához két ml 0,1 M maleát puffert (pH 6,5) és 0,5 ml 0,115 M p-nitrofenil-foszfátot (PNP) adtam, és 37°C-on 90 percig inkubáltam. A reakciót 15 percen keresztül 2°C-ra hűtve leállítottam, majd 0,5 ml 0,5 M CaCl₂-t és 2 ml 0,5 M NaOH-ot adtam hozzá, és az elegyet 5 percig 4000 fordulat/perc sebességgel centrifugáltam. A reakcióterméket leszűrtem, és a szűrletet (p-nitrofenol) kolorimertikusan elemeztem 398 nm-en [59]. A kontrollokon ugyanúgy elvégeztem, bár a szubsztrátot a CaCl₂ és a NaOH előtt adtam hozzá. A PNP abszorbancia mérése 398 nm-en történt. A foszfatázaktivitást μmol PNP-ként fejezzük ki a talajra grammban és inkubációs időben (óra).

- **Aril-szulfatáz aktivitása**

Az aril-szulfatáz (μmol nitrofenol g^{-1} száraz talaj/ h^{-1}) potenciális aktivitását Tabatabai és Bremner [59] szerint határoztam meg. Az aktivitást a *p*-fenol abszorpciójával mértem 400 nm-en, PNP-szulfáttal végzett inkubálás után.

3.3. Statisztikai analízis

Valamennyi kísérletet három példányban, randomizált teljes blokk desgin alkalmazásával végeztem. Az összes jelentett érték a kemencében szárított talajon kifejezett három meghatározás számtani átlaga. Statisztikai elemzéseket végeztem ANOVA alkalmazásával, hogy meghatározzam a kezelések közötti szignifikáns különbségeket $P = 0,05$ mellett.

4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

A herbicidek toxikus tulajdonságuk szempontjából specifikusak. Több vegyi anyag alkalmazása azonban szinergiához, ezáltal az emberre és az ökoszisztémára veszélyes toxikus hatások kialakulásához vezethet. A herbicidek akut és genetikai toxicitást okozhatnak, amelyek veszélyt jelentenek az ökoszisztémát alkotó élő biótára. A mezőgazdasági területek terméshozamának növelése érdekében szintetikus növényvédő szereket, köztük rovarirtókat, akaricideket, fungicideket és herbicideket széles körben alkalmaztak a káros organizmusok elleni védekezésre, valamint a modern mezőgazdasági termelésben a herbicidek alkalmazása rendszeres gyakorlat.

A herbicidek fokozott alkalmazásából fakadó problémák multidiszciplináris megközelítést igényelnek. A herbicidek helytelen és válogatás nélküli alkalmazása negatívan befolyásolja az emberek, a növények és az állatok egészségét. Különösen veszélyesek a nehezen lebomló herbicidek, amelyek tartóssága hosszú távú felhalmozódáshoz vezethet.

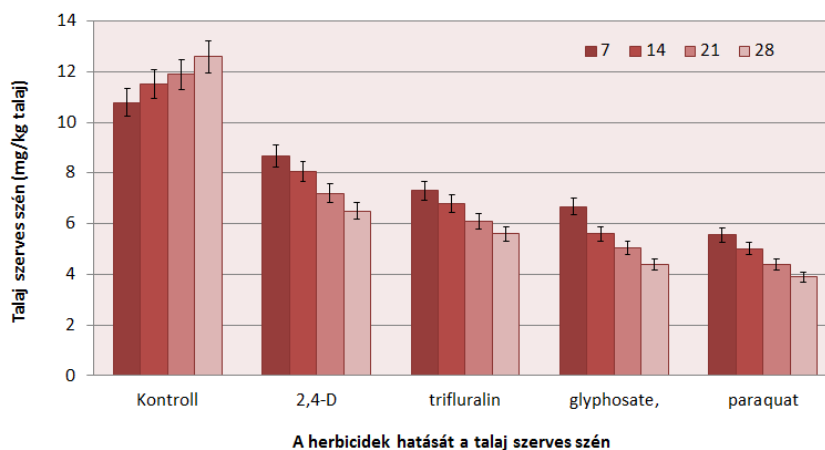
Az 1–9. Ábra bemutatja a barna erdőtalajra alkalmazott különféle herbicidek hatását az összes szerves szénre, valamint ismerteti az egyes talajenzimek potenciális aktivitását. A herbicidek (glifozát, parakvát, trifluralin és 2,4-D) hatását a teljes szerves széntartalomra a barna erdőtalajban, valamint enzim aktivitására (β -glükózidáz, amiláz, invertáz, celluláz, proteáz és ureáz, valamint foszfatáz és aril-szulfatáz) négy hétig értékeltem.

Az adatok szoros áttekintése azt jelzi, hogy jelentős különbség van a különböző herbicid kezelések és a vizsgálati időszakok között. A kezelések között szignifikáns különbség volt, az adatok alapján a különböző kezelés alatt álló enzimek aktivitása három kategóriába sorolható, azaz csak stimuláció, vagy csak gátlás, valamint stimuláció és gátlás egyaránt. A gyomirtás a növénytermesztés szerves része, és a legtöbb növénytermesztési rendszerben továbbra is a herbicidek a leggyakoribb gyomkezelési eszközök.

Mivel a herbicideket általában a növények hiányában vagy a növekedés korai szakaszában alkalmazzák, a permetoldat nagy része érintkezik a talajjal. Ezek a vegyi anyagok befolyásolhatják a nem célzott talaj organizmusait, beleértve a mikroorganizmusokat is.

Megállapították, hogy a teljes szerves szén az inkubációs idő növelésével csökkent. A parakvát volt a legmérgezőbb gyomirtó szer az összes szerves szénre, és a 2,4-D a leggyengébb hatást gyakorolja a TOC-re (1. ábra).

Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következőképpen alakult: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

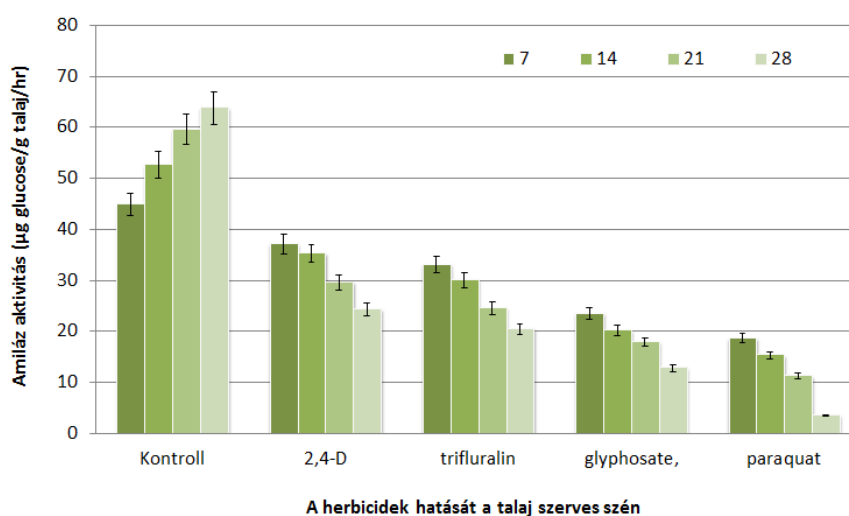


1. Ábra

Herbicidek hatása a teljes szerves széntartalomra a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Négy hetes edénykísérlet azt mutatja, hogy a különböző gyomirtó szerek ajánlott terepen történő alkalmazása negatív hatással van a talaj amiláz potenciális aktivitására a kontroll edényekhez képest. Az eredmények a herbicidek és az inkubációs idő közötti jelentős különbségeket mutatják be (2. ábra). Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett 4 hét alatt a következőképpen alakult: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

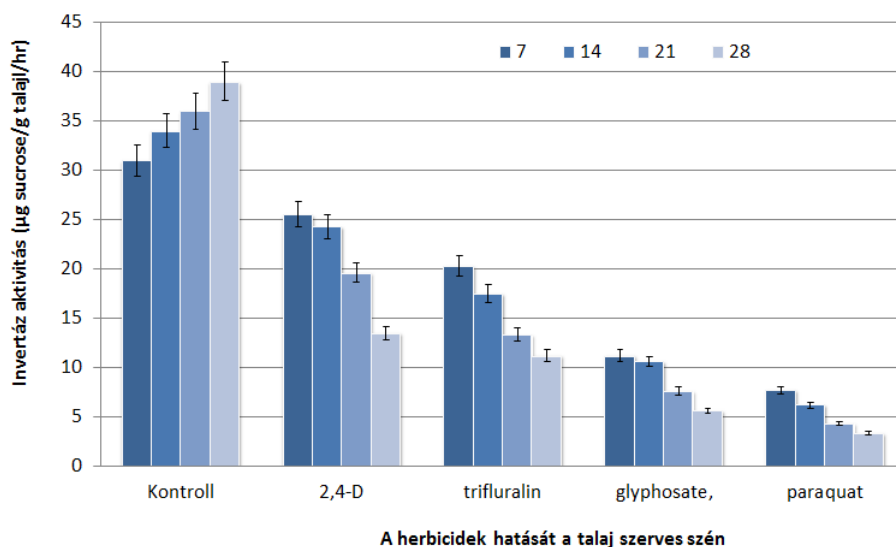


2. Ábra:

Herbicidek hatása az amiláz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Hasonlóképpen azt találták, hogy a sötét laboratóriumi körülmények között végzett inkubálástól számított négy héten belül a herbicidek negatív hatással vannak az invertáz potenciális aktivitására a barna erdőtalajban. A 3. ábra a dózisok és az inkubációs periódok közötti jelentős eltéréseket mutatja be. Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következőképpen alakult: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

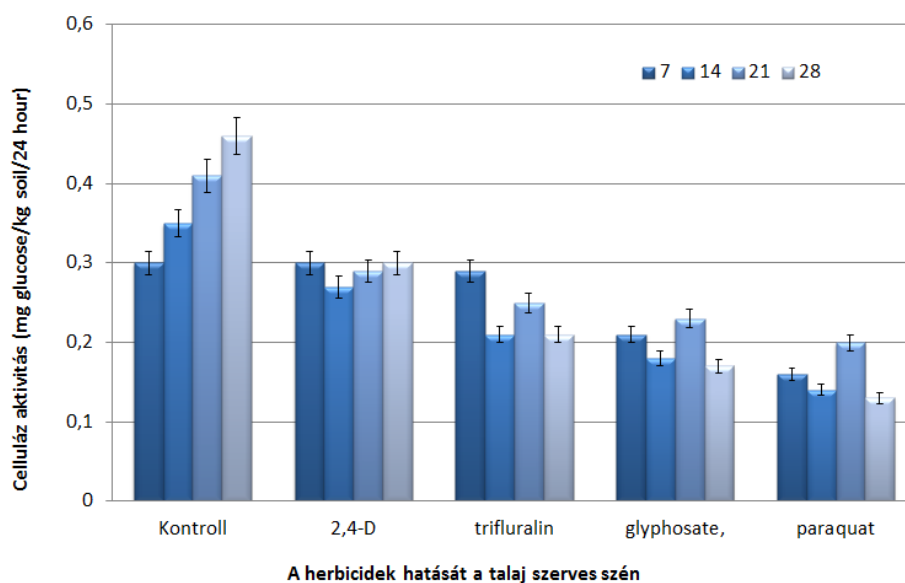


3. Ábra

Herbicidek hatása az invertáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Az eredményeket összesítve azt találtam, hogy a sötét laboratóriumi körülmények között végzett inkubálástól számított négy héten belül a herbicidek negatív hatással vannak a barna erdő talajában lévő celluláz potenciális aktivitására is. A 4. ábra a dózisok és az inkubációs periódusok közötti jelentős eltéréseket mutatja be minden herbicid esetében, kivéve a 2,4-D alkalmazását. Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következőképpen alakult: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

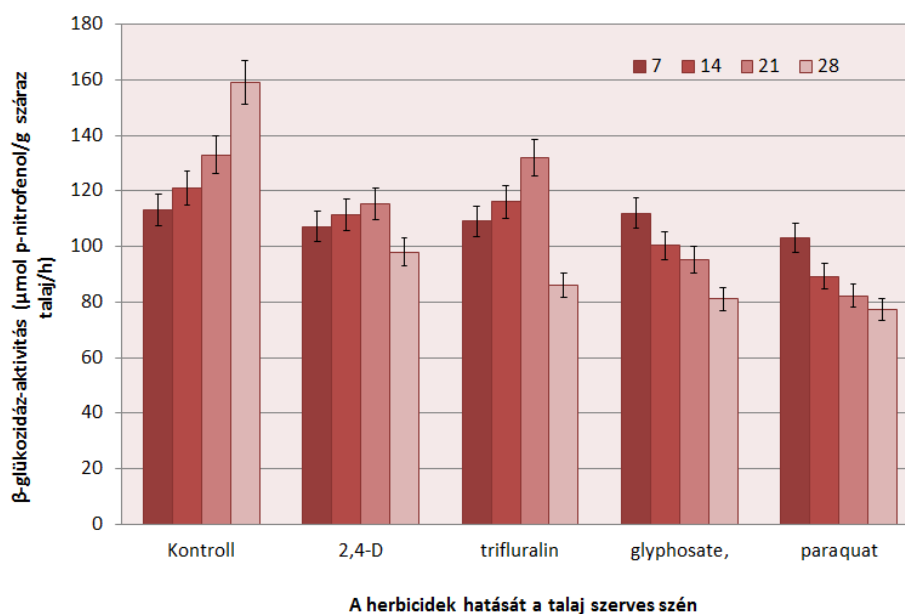


4. Ábra

Herbicidek hatása a celluláz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Ezenkívül az 5. ábrán kiderült, hogy a herbicidek negatív hatással vannak a β -glükózidáz potenciális aktivitására a barna erdőtalajban a sötét laboratóriumi körülmények között történt inkubálástól számított négy héten belül.



5. Ábra

Herbicidek hatása a β -glükózidáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

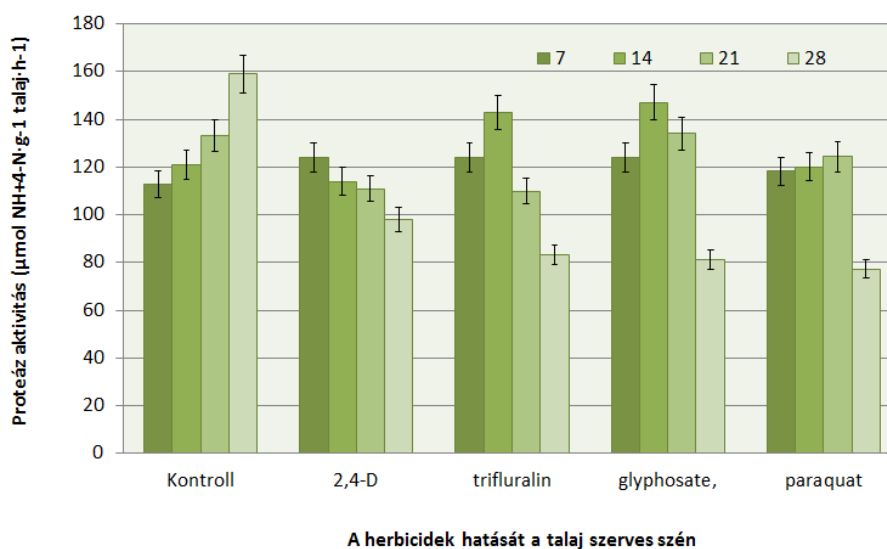
Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Azonban az eredmények azt mutatták, hogy az inkubációs idő harmadik hétig történő növelésével az enzim aktivitása nő, és a negyedik héten csökken. Ezenkívül az összes herbicid dózisa és inkubációs periódusai között jelentős eltérések voltak, összehasonlítva a kontroll talajmintákkal.

Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét volt és a következőképpen alakult: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

A 6. ábra bemutatja az alkalmazott herbicidek hatását a talajenzim proteáz potenciális aktivitására. A kísérletek három ismételtsének átlaga és az optikai sűrűségek leolvasása azt mutatta, hogy az enzim aktivitására más módon is lehet hatást gyakorolni. A kontroll edények az aktivitásának növekedését mutatták, míg a 2,4-D alkalmazásakor folyamatos csökkenést mértek. Megállapították, hogy a trifluralin és a glifozát gyomirtók növelik az enzim aktivitását a második inkubációs héten, majd ezután csökkenni kezdett a mért aktivitás. A parakvátnál nincs különbség az első három hétben, de a negyedik héten élesen csökken a funkció.

Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következő volt: parakvát > glifozát > trifluralin > 2,4-D.



6. Ábra

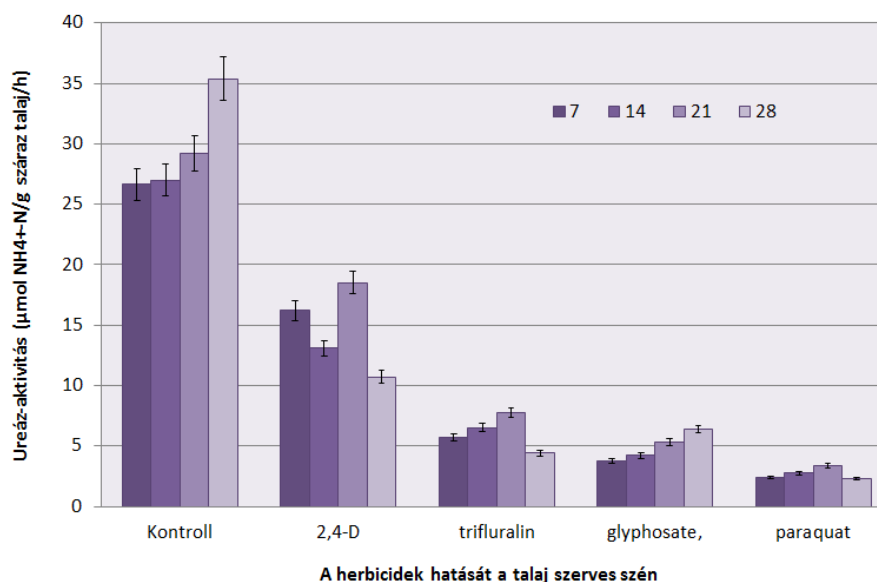
Herbicidek hatása a proteáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

A 7. ábra mutatja, hogy az alkalmazott herbicidek hatása a talajenzim ureáz potenciális aktivitására miként hatott. A kontroll edények az aktivitásnak a növekedését mutatták, míg

glifozát alkalmazásakor folyamatos csökkenést mértek. Megállapították, hogy a trifluralin és a paraquat gyomirtók növelik az enzim aktivitását a harmadik inkubációs héten, majd ezt követően csökkenni kezd az aktivitás.

Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következő volt: paraquat > glifozát > trifluralin > 2,4-D.



7. Ábra

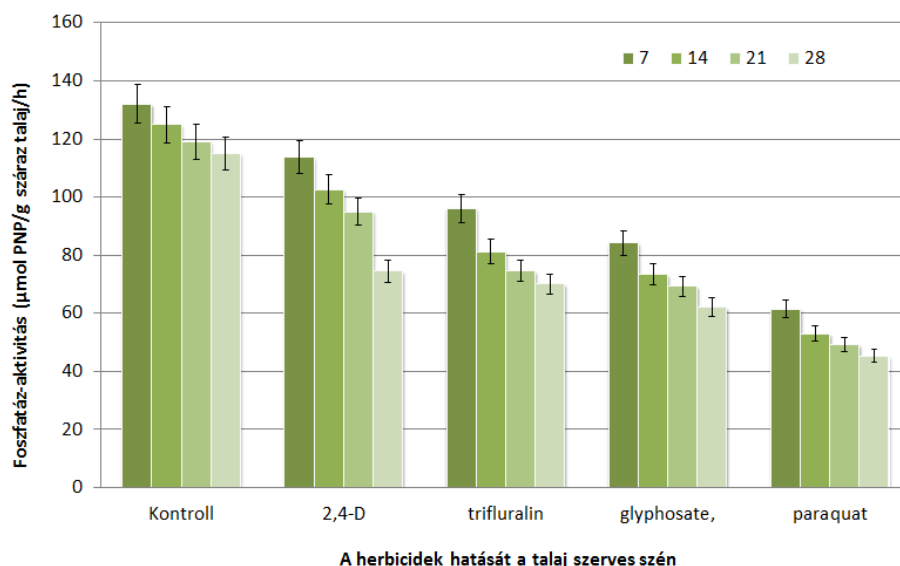
Herbicidek hatása az ureáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

A 8. ábra az alkalmazott herbicidek hatásának folyamatos növekedését mutatja a talaj enzim foszfatáz potenciális aktivitására. A kontroll és a herbicidekkel kezelt edények növelték a herbicidek ökototoxicitását, és ezek a hatások az inkubációs periódusok növelésével nőttek.

Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következőképp alakult: paraquat > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

Ladd és Butler [61] megállapították, hogy a különböző talajkezelésekkel szembeni relatív enzimaktivitás változik.



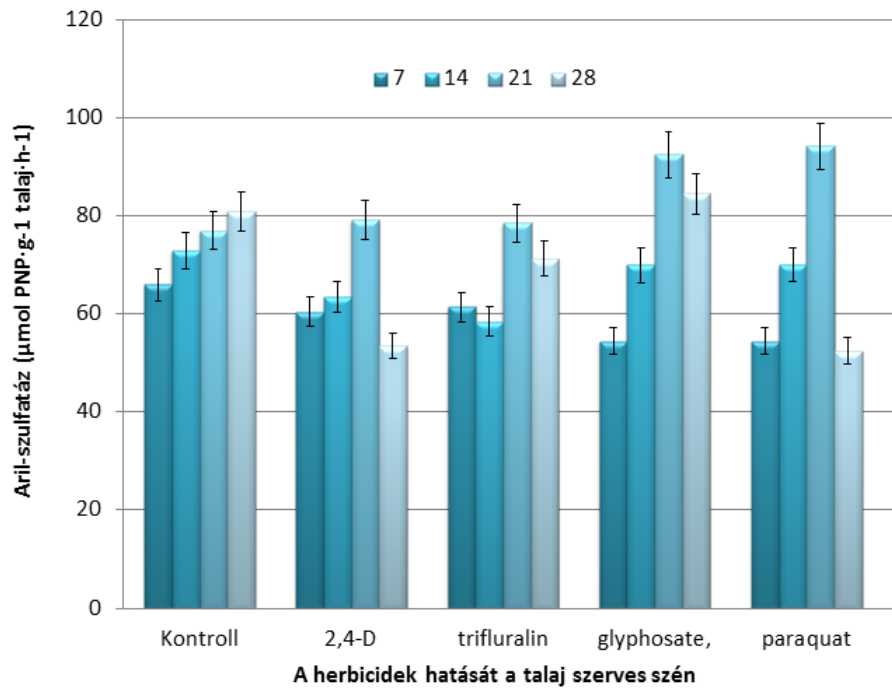
8. Ábra

Herbicidek hatása a foszfátáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

A 9. ábra a kontroll edényekkel összehasonlítva megmutatja, hogy az aril-szulfatáz potenciális aktivitása megnőtt a harmadik inkubációs héten valamennyi vizsgált herbicid esetében. Az alkalmazott herbicidek aril-szulfatáz talajenzim potenciális aktivitására gyakorolt hatásának folyamatos növekedésének, az aktivitás csökkenése vetett véget a negyedik héten. A trifluralin és glifozát herbicidek ökototoxicitása kisebb volt, mint az első és a negyedik inkubációs hét ökototoxicitása. Az alkalmazott gyomirtó szerek ökototoxicitásának mértéke az ajánlott terepi dózis mellett négy hét alatt a következő volt: paraquat > glifozát > trifluralin > 2,4-D.

A herbicidek változásokat idéztek elő a talaj mikrobiális közösségeinek bőségében, változatosságában és aktivitásában, ugyanakkor befolyással bírhatnak a fenntartható mezőgazdaság szempontjából fontos mikroorganizmusok által közvetített folyamatokra, mint például a növényi tápanyagok újrahasznosítása és a talaj szerkezetének fenntartása. Míg ezeknek a tanulmányoknak az eredményei azt mutatják, hogy az ajánlott mennyiségben alkalmazott herbicidek általában nem gyakorolnak jelentős hatást a talaj mikroorganizmusaira, csak néhány herbicidet értékelünk egy időben, a herbicidek összehasonlításával a talaj mikrobiális ökológiájára gyakorolt relatív hatásukat figyeljük és vizsgáljuk meg [62].



9. Ábra

Herbicidek hatása az aril-szulfatáz enzim aktivitására a barna erdőtalajban.

Az eredményeket négy perióduson keresztül értékeltem

Az általános enzimaktivitás alapján további nagy csoportokba sorolhatók, így a stimuláció vagy gátlás. Hasonló eredményeket jelentettek Cerevelli és munkatársai (1975) a szubsztituált karbamid herbicidekkel kapcsolatban. Úgy vélték, hogy a talajenzimek védettek a herbicid gátló hatása ellen, mivel az inkubációs idő növeli a gátlási aktivitást. Az enzimaktivitás gátlása a herbiciddel lehet a herbicid közvetlen hatása az ureáz aktivitására, valamint a kompetitív és nem kompetitív gátlásnak is köszönhető. Ezekben a kezelésekben az utóbbi szakaszokban az idő múlásával megnövekedett enzimaktivitás oka lehet különböző, azaz a mikrobák populációjára gyakorolt herbicid hatás egy idő után stabilizálódhat, és maguk a herbicidek visszafordíthatatlanul adszorbeálódnak a talaj kolloidjain, az idő növekedésével, ami csökkent gátlást eredményez. A gyomirtó szer talajban való részleges lebomlása a gátlás csökkenésének másik tényezője is lehet. A gátlásból való kilábalás oka lehet a növények által kiválasztott enzim is. A herbicidek mikrobákra és enzimaktivitásokra gyakorolt káros hatása idővel csökkent, és ez oka lehet a mikrobiális populációnak és az enzimaktivitásnak is a kezdeti gátlás után, a mikrobáknak ezekhez a vegyi anyagokhoz való alkalmazkodása vagy lebomlása miatt.

Latha és Gopal [64] a herbicidek hatásait tanulmányozta, és gátlást talált az enzimaktivításban, különösen szubsztituált karbamid herbicidek alkalmazása miatt. Kavitha et

al. [65] megállapította, hogy a herbicid alkalmazása megzavarja és megváltoztatja a talaj biológiai egyensúlyát, és csökkenti a mikrobiális populációt, ezáltal az enzimaktivitást. Vandana et al. [66] arról számoltak be, hogy a talaj enzimaktivitása a növény átültetése után 0-ról 60 napra nőtt, függetlenül a talaj kezelésétől, mivel a gyökérmennyiség növeli a talajenzimek termelésének növekedését. Sireesha et al. [67] arról számoltak be, hogy a gyomirtó szerek alacsonyabb szintje növelte az enzimaktivitást és fordítva. Abbas et al. [68] arról számoltak be, hogy 30%-kal csökkent az ureáz aktivitás, 36%-ban gátolt a dehidrogenáz aktivitás és 34%-kal csökkent az alkalikus foszfatáz aktivitás bromoxinil herbicid alkalmazással a mikrobiális populáció csökkenése miatt. Baboo et al. [69] arról számoltak be, hogy az amiláz, az invertáz, a proteáz, az ureáz és a dehidrogenáz enzimaktivitását a butaklór, a pirazoszulfurán, a parakvát és a glifozát herbicidje befolyásolta négy hét alatt, a herbicidek átmeneti hatást gyakoroltak a mikrobiális populációkra a herbicidek típusához kapcsolódó enzimaktivitások ajánlott terepi alkalmazás esetén.

Rasool et al. [70] arról számoltak be, hogy a peszticidek alkalmazása eltérően befolyásolja a különböző talajenzimek aktivitását, miközben az ureáz és az aszparagináz aktivitását gátolják, a dehidrogenáz, a proteáz és az amidáz aktivitását pedig stimulálják a peszticid kezelésre adott válaszként, másrészt a foszfatáz nagyon változó választ mutatott a peszticid különböző koncentrációira, mivel a foszfatáz aktivitását a pH befolyásolta. Weaver et al. [71] a legtöbb talajenzim inaktiválásáról számolt be, mivel az enzim aktív helyén herbicid kötődött. Az ureáz aktivitásának növekvő tendenciáját figyelték meg a 15. naptól a 60. napig. A gátló hatás ezen csökkenését a talaj mikrobájának helyreállása okozta az idő múlásával, amely miatt az ureáz aktivitása megnőtt. Singh [72] arról számolt be, hogy a nagy dózisú pendimetalin herbicid károsnak bizonyult a talajenzimekre nézve az alacsony és közepes dózisokhoz képest. A nagy dózisok visszafordíthatatlanul inaktiválják az enzimeket, így a késleltetési periódus alatt az enzimaktivitás csökken, és a későbbi szakaszban a mikrobák visszanyerése és új enzimkészlet növényi és mikrobás szintézise.

Az ureázenzim-aktivitás hirtelen növekedése az alkalmazott kezelés 30. napján egybeesik a növény aktív növekedési szakaszával, a fokozott gyökéraktivitással és az extracelluláris enzimek, például az uráz felszabadulásával a talajba, ami a tápanyagok magasabb mineralizálódási sebességét eredményezte a talajban. Az ureázaktivitás növekedése oka lehet a dús gyökérproliferációnak és a nagy mennyiségű levélhullásnak is, ami tápanyagokban gazdag környezethez vezet, így elősegítve a mikroflóra szaporodását az enzimszintetizálás érdekében [73]. A megemelt dózis gátolja a mikroba túlélését a herbicidek által okozott ozmotikus stressz miatt, és a talajenzim aktivitását befolyásolta a natív talaj ökoszisztémája,

valamint az alkalmazott herbicid típusa [74]. A mikrobiális populáció növekedése volt felelős a talajenzimek ureáz- és dehidrogenáz aktivitásának hirtelen növekedéséért. Ezen enzimek aktivitása szignifikánsan és pozitívan korrelált a talaj szerves szén-, gomba-, baktérium- és aktinobaktérium-populációjával. Az ajánlott nitrogénmennyiség alkalmazása szerves forrásokon keresztül, kifejezetten a telepi udvari trágya, présiszap révén növeli az enzimaktivitást az inkubáció különböző napjain. A szerves források hozzáadása jó szén- és energiaforrásként hat a heterotrófokhoz, amelyek révén populációjuk ott növekszik a talaj enzimaktivitásának növekedésével [75]. A talaj invertáz aktivitásának csökkenésének lehetséges oka a herbicidekben található toxikus anyagok által okozott sejtpusztulásnak tulajdonítható [76]. Az enzimaktivitások helyreállítása a kezdeti gátlás után a mikrobiális populáció adaptáció utáni növekedésének vagy valószínűleg a tápanyagok megnövekedett elérhetőségének és a herbicidek lebomlásának köszönhető [77].

A herbicidekkel kezelt talajban a talaj dehidrogenáz aktivitásának növekedése az inkubáció 7. és 28. napja között annak köszönhető, hogy megnő a mikrobaközösség összetétele, amely képes a herbicideket szénforrásként felhasználni [78].

A herbicidek (parakvát és glifozát) hatásait a talaj szerves széntartalmára és enzimatisz aktivitására (amiláz, invertáz, proteáz és ureáz) vizsgáltam és négy hétig értékeltem. A szerves szén idővel jelentősen csökkent. A herbicid kezelések az enzimatisz aktivitások variációját eredményezték, míg a legnagyobb aktivitást a kontroll talajnál regisztráltam. A tanulmány arra engedett következtetni, hogy a herbicidek átmeneti hatást gyakorolnak a herbicidek típusához kapcsolódó enzimatisz aktivitásokra ajánlott terepi alkalmazás mellett [69].

5. KÖVETKEZTETÉS

A herbicidek biológiailag aktív vegyületek, és alkalmazásának nem szándékos következményei jelentős változásokhoz vezethetnek a mikrobiális populációkban és a talaj termékenységét befolyásoló mikrobiális ökológiai egyensúlyt befolyásoló tevékenységekben. A mezőgazdasági ökoszisztémákban alkalmazott herbicidek sorsát az átvitel és a lebomlás folyamatai, valamint a talaj mikroorganizmusaival való kölcsönhatások vezérlik. A fenntartható mezőgazdaság növekvő támaszkodása a herbicidekre aggodalomra adott okot azok ökotoxikológiai hatásai miatt, amelyek befolyásolják a mikrobiális populációkat és az enzimaktivitásokat, amelyek a talaj minőségének mutatóiként szolgálhatnak. Ebben a tanulmányban a herbicidek alkalmazása másképpen befolyásolta a talaj enzim aktivitását. Jelen tanulmányból kiemelhető, hogy a herbicid típusa, koncentrációja és expozíciója befolyásolja a talaj enzim aktivitását. Ezért nagy gondosságra van szükség a gyomirtó szer talajra történő felvitele során. Az enzimaktivitásokat érzékenynek tekintik a kémiai szennyező anyagokra / agrokémiai anyagokra, és potenciális mutatókként javasolták őket a szennyezett talaj szennyezettségi szintjének mérésére. A tanulmány megerősítette, hogy a herbicidek (2,4-D, trifluralin, parakvát és glifozát) megváltoztathatják a különböző talajenzim aktivitásokat. Mivel a vizsgálatokat *in vitro* hajtottam végre edénykísérleten, és a herbicidek hatása nagyon átmeneti, ezért különösen nehéz megmagyarázni a talajenzim aktivitásának változását bizonyos tényezőkre reagálva, vagy megállapítani az ok-okozati összefüggést a herbicid kezeléseket, illetve a különböző komponensekre, amelyek hozzájárulnak a talaj enzimaktivitásának változásához. További feladat, hogy meg kell erősíteni a modern mezőgazdaság tudományos alapjait, mert a herbicideket csak akkor lehet előnyösen használni, ha szigorúan ellenőrzik perzisztenciájukat, bioakkumulációjukat és toxicitásukat az agroökoszisztémában, valamint a különböző környezeti paramétereiket.

A herbicid kezelés az enzimaktivitások variációit eredményezte, míg a legnagyobb aktivitást a kontroll talajnál regisztráltam. A parakvát és a glifozát a terepi ajánlott dózis mellett jobban gátolja az enzimaktivitást, és a 2,4-D volt a legkevésbé gátló hatást kifejtett herbicid. A tanulmány arra enged következtetni, hogy a herbicidek átmeneti hatást gyakorolnak a herbicidek típusához kapcsolódó enzimaktivitásokra, az ajánlott terepi kijuttatási sebesség mellett.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

A talaj enzimatis vizsgálata a talaj ökoszisztéma állapotának mérésére szolgál. A technika meglehetősen egyszerű és reprodukálható eredményeket hoz és manapság gyakorlati jelentőségű, mert a herbicidek hatása, valamint a talaj termékenysége mérhető. A talajenzimek jelenléte hasznos talajminőségi mutatókról számolnak be a talajbiológiához kapcsolódó viszonyuk miatt, mivel ezek praktikusak, érzékenyek, integratívak, könnyen mérhetők, és a múltbeli talajgazdálkodás "biológiai ujjlenyomatainak" minősülnek. A herbicidek biológiailag aktív vegyületek és alkalmazásuk nem szándékos következményeiként a biológiai aktivitások jelentős változásaihoz vezethetnek, amelyek befolyásolják a talaj termékenységet befolyásoló mikrobiális ökológiai egyensúlyt.

A mezőgazdasági ökoszisztémákban alkalmazott herbicidek sorsát az átvitel, a lebomlás folyamatai, valamint a talaj mikroorganizmusaival való kölcsönhatások vezérlik. A fenntartható mezőgazdaság növekvő támaszkodása a herbicidekre aggodalomra adott okot azok ökotoxikológiai hatásai miatt, amelyek befolyásolják az enzimaktivitást, amik a talaj minőségének mutatóiként szolgálnak. A herbicidek (glifozát, parakvát, trifluralin és 2,4-D) hatását a talaj enzimaktivitásra (β -glükózidáz, amiláz, invertáz, celluláz, proteáz és ureáz, valamint foszfátáz és aril-szulfatáz) négy perióduson keresztül értékeltem.

A barnaerdő talajmintát az egyetem Rejtő Sándor Könnyűipari és Környezetmérnöki Kar kertjéből herbicidekkel korábban nem kezelt területéről gyűjtöttem 2021 februárjában, úgy, hogy a talajminta 45%-os víztartó képességgel rendelkezett a mintavétel során, laboratóriumban lemérve. Ezt követően az ömlesztett talajmintát a 8-as laboratóriumban 1 héten keresztül szárítottam ($25 \pm 3^\circ\text{C}$ -on), ezután a talaj vízmegkötő képessége 25%-ra csökkent. Mindezek után homogenizáltam és átszitáltam 4 mm-es lyukméretű szitán. A mintákat egyenként (200 grammot) műanyag edénybe mértem, ebből három edényt lemértem spektrofotométerrel, így ezek alkották a kontroll csoportot, majd előre meghatározott koncentrációk alapján, a keverési útmutató nyomán a gyomirtó szereket vízben feloldottam és 45%-os víztartalomra visszakezeltem a maradék talajmintákat és hetente spektrofotométerrel mértem az edények tartalmát 4 héten keresztül. A herbicid kezelés az enzimaktivitások variációit eredményezte, míg a legnagyobb aktivitást a kontroll talajnál regisztráltam. A parakvát és a glifozát a terepi ajánlott dózis mellett jobban gátolja az enzimaktivitást, és a 2,4-D volt a legkevésebb gátló hatást kifejtett herbicid. A tanulmány arra enged következtetni,

hogy a herbicidek átmeneti hatást gyakorolnak a herbicidek típusához kapcsolódó enzimaktivitásokra, az ajánlott terepi kijuttatási sebesség mellett.

7. IRODALOMJEGYZÉK

- [1] Oerke, E.-C. (2005): Crop losses to pests. *J. Agric. Sci.* 144, 31.
- [2] Rose J. Terry (2016): Impact of Herbicides on Soil Biology and Function. In: Donald L Sparks, editors: *Advances in Agronomy*, Vol 136, Chennai: Academic Press; 2016, p. 133-220. ISBN:978-0-12-804681-4
- [3] Duke, S.O., Powles, S.B. (2008): Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Manag. Sci.* 325, 319–325.
- [4] Drouin, P., Sellami, M., Pre'vost, D., Fortin, J., Antoun, H. (2010): Tolerance to agricultural pesticides of strains belonging to four genera of Rhizobiaceae. *J. Environ. Sci. Health B* 45, 780–788.
- [5] Bonnet, J., Bonnemoy, F., Dusser, M., Bohatier, J., Pascal, B. (2007): Assessment of the potential toxicity of herbicides and their degradation products to nontarget cells using two microorganisms, the bacteria *Vibrio fischeri* and the ciliate *Tetrahymena pyriformis*. *Environ. Toxicol.* 22, 78–91.
- [6] Boldt, T.S., Jacobsen, C.S. (1998): Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiol. Lett.* 161, 29–35.
- [7] Nelson, D.R., Duxbury, T. (2008): The distribution of acetohydroxyacid synthase in soil bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek, Int. J. Gen. Mol. Microbiol.* 93, 123–132.
- [8] Van Zwieten, L., Feng, L., Kennedy, I.R., 1995. Colonisation of seedling roots by 2,4-D degrading bacteria: a plant-microbial model. *Acta Biotechnol.* 15, 27–39.
- [9] Morejohn, L.C., Bureau, T.E., Mole-Bajer, J., Bajer, A.S., Fosket, D.E. (1987): Oryzalin, a dinitroaniline herbicide, binds to plant tubulin and inhibits microtubule polymerization in vitro. *Planta* 172, 252–264.
- [10] Amos, L.A., Lowe, J. (1998): Crystal structure of the bacterial cell-division protein FtsZ. *Nature* 391, 203–206.
- [11] Gianfreda, L., Bollag, J.M. (2002): Isolated enzymes for the transformation and detoxification of organic pollutants. In: Burns, R.G., Dick, R. (Eds.), *Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications*. Marcel Dekker, pp. 491–538.
- [12] Demarche, P., Junghanns, C., Nair, R.R., Agathos, S.N. (2012): Harnessing the power of enzymes for environmental stewardship. *Biotechnol. Adv.* 30, 933–953.

- [13] Garcia, J., Zhang, Y., Taylor, H., Cespedes, O., Webb, M.E., Zhou, D. (2011): Multilayer enzyme-coupled magnetic nanoparticles as efficient, reusable biocatalysts and biosensors. *Nanoscale* 3, 3721–3730.
- [14] Kudanga, T., Nyanhongo, G.S., Guebitz, G.M., Burton, S. (2011): Potential applications of laccase-mediated coupling and grafting reactions: a review. *Enzyme Microb. Technol.* 48, 195–208.
- [15] Soldatkin, O.O., Kucherenko, I.S., Pyeshkova, V.M., Kukla, A.L., Jaffrezic-Renault, N., El'skaya, A.V., Dzyadevych, S.V., Soldatkin, A.P. (2012): Novel conductometric biosensor based on three-enzyme system for selective determination of heavy metal ions. *Bioelectrochemistry* 83, 25–30.
- [16] Van Dyk, J.S., Pletschke, B. (2011): Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. *Chemosphere* 82, 291–307.
- [17] Lebrun, J.D., Trinsoutrot-Gattin, I., Vincelas-Akpa, M., Bailleul, C., Brault, A., Mougin, C., Laval, K., (2012): Assessing impacts of copper on soil enzyme activities in regard to their natural spatiotemporal variation under long-term different land uses. *Soil Biol. Biochem.* 49, 150–156.
- [18] Gao, Y.-C., Wang, J.-N., Xu, J.-B., Kong, X., Zhao, L., Zeng, De-H. (2013): Assessing the quality of oil-contaminated saline soil using two composite indices. *Ecol. Indic.* 24, 105–112.
- [19] Garcia-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M.B., Carreira, J.A. (2008): Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2137–2145.
- [20] Gianfreda, L., Rao, M.A. (2008): Interaction between xenobiotics and microbial and enzymatic soil activity. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 38, 269–310.
- [21] Dawson, J.J.C., Godsiffe, E.J., Thompson, I.P., Ralebitso-Senior, T.K., Killham, K.S., Paton, G.I. (2007): Application of biological indicators to assess recovery of hydrocarbon impacted soils. *Soil Biol. Biochem.* 39, 164–177.
- [22] Karaca, A., Cetin, S.C., Turgay, O.C., Kizilkaya, R. (2011): Soil enzymes as indication of soil quality. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Biology, Soil Enzymology*, vol. 22. Springer Verlag, pp. 119–148.
- [23] Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., Zoppini, A. (2013): Soil enzymes in a changing

- environment: current knowledge and future directions. *Soil Biol. Biochem.* 58, 216–234.
- [24] Ayansina A.D.V., Oso B.A. (2006): Effect of two commonly used herbicides on soil microflora at two different concentrations, *Afri. J. Biotech.* 5(2) (2006) 129-132.
- [25] Riaz M., Jamil M., Mahmood T.Z. (2007): Yield and yield components of maize as affected by various weed control methods under rain-fed conditions of Pakistan, *Int. J. Agric. Biol.* 9 (2007)152–155.
- [26] Hoerlein G. (1994): Glufosinate (phosphinothricin), a natural amino acid with unexpected herbicidal properties, *Rev. Environ. Contamin. Toxicol.* 138(1994) 73–145.
- [27] Ros M., Hernandez M.T., Garcia C. (2003): Soil microbial activity after prestonation of a semiarid soil by organic amendments. *Soil Biol. Biochem.*, 35: 463-469.
- [28] 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.
- [29] Nannipieri P. (1994): The potential use of soil enzyme as indicators of productivity, sustainability and pollution, In: C.E. Pankhurst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupta, P.R. Grace (Eds.), *Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, Melbourne, pp. 238-244.
- [30] Masciandaro G., Ceccanti B. (1999): Assessing soil quality in different agro-ecosystems through biochemical and chemico-structural properties of humic substances. *Soil Till. Res.*, 51: 129-137.
- [31] Abd-Alla M.H., Omar S.A., Karanxha S. (2000): The impact of pesticides on arbuscular mycorrhizal and nitrogen-fixing symbioses in legumes. *Appl. Soil Ecol.*, 14: 191-200.
- [32] Sessitsch A., Gyamfi S., Tschierko D., Gerzabek M.H., Kandeler E. (2004): Activity of microorganisms in the rhizosphere of herbicide treated and untreated transgenic glufosinate-tolerant and wildtype oilseed rape grown in containment. *Plant and Soil*, 266: 105-116.
- [33] Paul E.A., Clark F.E. (1989): *Soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, San Diego, CA.
- [34] Bergstrom D.W., Monreal C.M., King D.J. (1998): Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 62: 1286–1295.
- [35] Sparling G.P. (1997): Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: C.E. Pankhurst, B.M. Doube, V.V.S.R. Gupta (Eds.) *Biological indicators of soil health*. CAB International, New York, pp. 97-119.

- [36] Sannino F., Gianfreda L. (2001): Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 45: 417-425.
- [37] Locke M.A., Zablotowicz R.M., Gaston L.A. (1995): Fluometuron herbicide interactions in crop residue-managed soils. In: N.W. Buehring, and W.L. Kingery (Eds.). *Proc. Southern Conservation Tillage Conference for Sustainable Agriculture: Conservation Farming: A Focus on Water Quality*. Jackson, MS.
- [38] Pertile Mariane, Antunes Lopes Emanuel Jadson, Araujo F. F., Mendes William Lucas, Van den Brink Paul J., Araujo Ferreira Sérgio Ademir (2020): Responses of soil microbial biomass and enzyme activity to herbicides imazethapyr and flumioxazin. *Scientific Reports*, 10:7694 | <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64648-3>
- [39] Rao A.M., Scelza R., Acevedo F., Diez C.M., Gianfreda L. (2014): Enzymes as useful tools for environmental purposes *Chemosphere*, 107 (2014), pp. 145-162, 10.1016/j.chemosphere.2013.12.059.
- [40] Tripathi, G and Sharma, B.M. (2006): Interaction of above and below ground bioresources for improvement of chemical and biological health of soil. *CientificaJaboticabal*. 34:75 – 91
- [41] Pandey, R. R. Sharma, G. Tripathi, S. K. Singh, A. K. (2007): Litter fall, litter decomposition and nutrient dynamics in subtropical natural forest and managed plantations in northeastern India. *For. Ecol. Manag.* 240 96-106.
- [42] Ramudu, A.C. Mohiddin, G.J. Srinivasulu, M. Madakks, M. Ranagaswamy (2011): Impact of fungicides chlorothalonil and propiconazole on microbial activities in groundnut soils *ISRN microbiology*.
- [43] Davies, H.A and Greaves, M.P. (1981): Effects of some herbicides on soil enzyme activities. *Weed Research*. 21: 205-209.
- [44] Riah W., Laval K., Laroche-Ajzenberg E., Mougin C., Latour X., Trinsoutrot-Gattin I. (2014): Effects of pesticides on soil enzymes: a review, *Environ. Chem. Lett.* 12 (2014): 257–273, <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-014-0458-2>.
- [45] Oliveira MF, Brighenti AM. (2011): Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: Oliveira Júnior RS, Constantin J, Inoue MH, editores. *Biologia e manejo de plantas daninhas*. Curitiba: Omnipax;. p.263-304.
- [46] Tejada M, Benítez C. (2017): Flazasulfuron behavior in a soil amended with different organic wastes. *Appl Soil Ecol.*; 117-118:81-7.

- [47] Gómez I, Rodríguez-Morgado B, Parrado J, García C, Hernández T, Tejada M. (2014): Behavior of oxyfluorfen in soils amended with different sources of organic matter. Effects on soil biology. *J Hazard Mater.*;273:207-14.
- [48] Rojas R, Morillo J, Usero J, Delgado-Moreno L, Gan J. (2013): Enhancing soil sorption capacity of an agricultural soil by addition of three different organic wastes. *Sci Total Environ.*, 458:614-23.
- [49] Elkhatabi K, Bouhaouss A, Scrano L, Lelario F, Bufo SA. (2007): Influence of humic fractions on retention of isoproturon residues in two Moroccan soils. *J Environ Sci Health.*;42(7):851-6.
- [50] Edwards J.H., Wood C.W., Thurlow D.L., Ruf M.E. (1999): Tillage and crop rotation effects on fertility status of a Hapludalf soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56:1577-1582.
- [51] Walkley A., Black A.I. (1934): An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soil: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents, *Soil Sci.* 63(1934) 251- 263.
- [52] Zhao, Q.; Tang, J.; Li, Z.Y.; Yang,W.; Duan, Y.C. (2018): The Influence of Soil Physico-Chemical Properties and Enzyme Activities on Soil Quality of Saline-Alkali Agroecosystems in Western Jilin Province, China. *Sustainability*, 10, 15.
- [53] Somogyi M.(1952): Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.* 195(1952) 12-22.
- [54] Roberge R.M. (1948): Methodology of soil enzyme measurement and extraction, In: *Soil Enzymes*, eds., Academic Press, London, 1978.
- [55] Ross D.J. (1983): Invertase and amylase activities as influenced by clay minerals, soil clay fractions and topsoil under grassland, *Soil Biol. Biochem.* 15(1983) 287-293.
- [56] Deng S. P., Tabatabai M. A. (1994): Calorimetric determination of reducing sugars in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 26, 473-477.
- [57] Tabatabai M.A., Bremner J.M. (1971): Michaelis constants of soil enzymes, *Soil Biol. Biochem.* 3(4) (1971) 317-323
- [58] Nannipieri Paolo, Ceccanti Brunello, Cervelli Stefano, Matarese Emilio (1980): Extraction of Phosphatase, Urease, Proteases, Organic Carbon, and Nitrogen from Soil. *Soil Science Society of America Journal*, 44(5): 1011-1016.
- [59] Tabatabai M.A., Bremner J.M. (1969): Used of P-nitrophenol phosphate in assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1: 301-307.
- [60] Masciandaro G., Ceccanti B., Garacía C. (1994): Anaerobic digestion of straw and piggery waste waters. II. Optimization of process. *Agrochimica*, 83: 195-203.

- [61] Ladd J.N., Butler J.H.A. (1972): Short term assays of soil proteolytic enzymes activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates, *Soil Biol. Biochem.* 4(1972) 19-30.
- [62] 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.
- [63] Cerevelli, S. Nannipieri, P. Giovannini, G and Perna, A. (1975): Jackbean urease inhibition by substituted urease. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 5: 221 – 225.
- [64] Latha, P.C and Gopal, G. (2010): Influence of herbicides on cellulolytic, proteolytic and phosphate solubilizing bacteria. *International Journal of Plant Protection.* 3(1): 83-88.
- [65] Kavitha, M.P. Ganesaraja, V. Paulpand,V.K and Subramanian, R.B. (2011): Rhizosphere enzyme activities as influenced by age of seedlings, weed management practices and humic acid application under system of rice intensification. *Indian Journal of Agriculture Research.* 45(2):151 – 155.
- [66] Vandana, J.L., Rao, P.C and Padmaja,G. (2012): Effect of herbicides and nutrient management on soil enzyme activity, *Journal of Rice Research.* 5 (2012) 1-2.
- [67] Sireesha, A., .Rao. P.C, Ramalaxmi, C.S and Swapna, G. (2012): Effect of pendimethalin and oxyfluorfen on soil enzyme activity. *Journal of Crop and Weed* 8 (1): 124 – 128.
- [68] Abbas, Z.M. Akmal, K.S. Khan and Fayyaz-Ul-Hassan, (2015): Response of soil microorganisms and enzymes activity to application of butril super (Bromoxynil) under rainfed conditions. *International Journal of Agriculture Biology.* 17: 305-312.
- [69] Baboo, M. Pasayat, M. Samal, A. Kujur, M. Maharana, J.K and Patel, A.K. (2013): Effect of four herbicides on soil organic carbon, microbial biomass-c, enzyme activity and microbial populations in agricultural soil. *International Journal of Research in Environmental Science and Technology*, 3(4): 100-112.
- [70] Rasool, N., Reshi Z.A. (2010): Effect of the fungicide Mancozeb at different application rates on enzyme activities in a silt loam soil of the Kashmir Himalaya, India *International Society for Tropical Ecology* 51(2): 199-205.
- [71] Weaver, M. Zablotowicz, R., Locke, M. (2004): Laboratory assessment of atrazine and fluometuron degradation in soils from a constructed wetland. *Chemosphere*, 57: 853-86.
- [72] Singh, R. (2014): Influence of pendimethalin with different fertilizer on soil enzyme activities in Bulandshahr soil. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(5): 1-6.

- [73] Reddy, T.P. Padmaja, G and Rao, P.C. (2011): Integrated effect of vermicompost and nitrogen fertilizers on soil urease enzyme activity and yield of onion-radish cropping system. *Indian Journal of Agriculture Research*. 45(2): 146-150.
- [74] Bharathi, J.M. Balachandar, D. Narayanan, R., Kumar, K. (2011): Impact of fertigation on soil microbial community and enzyme activities cropped with maize under precision farming system. *The Madras Agricultural Journal*. 98 (1-3):84-88.
- [75] Rai, T.N., Yadav, J. (2011): Influence of organic and inorganic nutrient sources on soil enzyme activities. *Journal of Indian Society of Soil Science*. 59 (1): 54 – 59.
- [76] Perucci, P., Scarponi, L. (1994): Effects of herbicide imazethapyr on soil microbial biomass and various soil enzyme activities. *Biology and Fertility of Soils*. 17: 237-240.
- [77] Ismail MN, Ng KK, Chee SS, Roslee R, Zawiah H (1998): Predictive equations for the estimation of basal metabolic rate in Malaysian adults. *Mal J Nutr* 4: 81-90, 1998
- [78] Sebiomo, A. Ogundero, V.W., Bankole, S.A. (2011): Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity. *African Journal of Biotechnology*. 10(5): 770-778.