

Naučni rad
Scientific Paper
UDK:632.95.02:631.462

Uticaj metribuzina na brojnost i aktivnost nekih grupa zemljišnih mikroorganizama

Ljiljana Radivojević, Ljiljana Šantrić, Radmila Stanković-Kalezić,
Dragica Brkić i Vaskrsija Janjić

*Institut za istraživanja u poljoprivredi "Srbija",
Centar za pesticide i zaštitu životne sredine, Zemun - Beograd*

REZIME

U radu je ispitivano delovanje herbicida metribuzin na zemljišne mikroorganizme. Ogled je postavljen u laboratoriji na zemljištu tipa černoze, a metribuzin je primenjen u količinama 0,3, 0,6, 1,2 i 2,4 mg a.m./500g vazdušno suvog zemljišta, na temperaturama 10°C, 20°C, i 30°C. Praćeno je disanje zemljišta (odnosno količina oslobođenog CO₂) i brojnost ukupne mikroflore, gljiva, aktinomiceta, celulolizatora, amonifikatora, nitrifikatora, aerobnih fiksatora azota (*Azotobacter*) i anaerobnih fiksatora azota (*Clostridium*).

Metribuzin je inhibitorno delovao na disanje zemljišta, tako da je u gotovo svim varijantama ogleda došlo do statistički veoma značajnog smanjenja ovog oblika mikrobiološke aktivnosti. Uticaj metribuzina na brojnost mikroorganizama bio je različit; na sve tri temperature metribuzin je izazvao smanjenje ukupne mikroflore gljiva, celulolizatora, nitrifikatora, i aerobnih i anaerobnih fiksatora azota (*Azotobacter* i *Clostridium*), smanjio je brojnost aktinomicete na 10°C i 30°C. Nije bilo delovanja na brojnost amonifikatora.

Ključne reči: Metribuzin; zemljišni mikroorganizmi; disanje zemljišta; temperatura.

U V O D

Metribuzin je selektivni zemljišni herbicid iz grupe triazina koji je kod nas registrovan za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih korova u krompiru, paradajzu, soji i zasnovanoj lucerki. Herbicidi iz grupe triazina veoma često inhibiraju aktivnost, rast i razviće zemljišnih mikroorganizama, a stepen inhibitornog delovanja zavisi od prirode aktivne materije, njene koncentracije, dužine izloženosti, edafskih i klimatskih činilaca i dr. Prema rezultatima istraživanja Janjića i saradnika (1993) metribuzin u preporučenim količinama primene u zavisnosti od du-

žine izloženosti umanjuje intenzitet disanja zemljišta za 30-50% u poređenju sa kontrolom. Marsh i saradnici (1977) su u svojim istraživanjima pokazali da metribuzin u količinama koje su duplo manje od preporučenih dovodi do veoma značajnog smanjenja aktivnosti zemljišnih mikroorganizama. Prema istraživanjima Bogdanovića (1990a; 1990b) metribuzin u količini 0,5 kg/ha smanjuje brojnost gljiva za 48%, i aktinomiceta za 34%, u poređenju sa kontrolom. Naša ranija istraživanja su pokazala da i herbicidi iz grupe hloracetanilida (alahlor i metolalahlor) veoma značajno inhibitoraju aktivnost i razvoj mikroflore zemljišta (Radi-

vojević i sar., 1999; Radivojević i Stan-
ković, 2000).

U ovom radu je ispitivano delovanje
herbicida metribuzin na aktivnost i broj-
nost nekih sistematskih i fizioloških gru-
pa mikroorganizama u kontrolisanim us-
lovima temperature i vlažnosti zemljišta.

MATERIJAL I METODE

Ogled je postavljen u kontrolisanim
uslovima, na zemljištu tipa degradirani
černozem, čije su fizičke i hemijske ka-
rakteristike date u Tabeli 1. Zemljište je
uzeto iz površinskog sloja sa parcela na
kojima ranije nisu primenjivani herbici-
di. Zemljište je očišćeno od korena i osta-
taka nadzemne mase biljaka, osušeno do
vazdušno suvog stanja, prosejano kroz
sito prečnika 5 mm, razmereno po 500
grama i preneto u reagens boce. U toku
ogleda vlažnost zemljišta je održavana na
nivou 50% poljskog vodnog kapaciteta.

Herbicid metribuzin (4-amino-6-terc-
3-metiltio-1,2,4-triazin-5-(4H)-on) je
primenjen u više količina: 0.3, 0.6, 1.2 i
2.4 mg/500g vazdušno suvog zemljišta.

Ogled je postavljen na temperaturama
od 10°C, 20°C i 30°C.

Aktivnost zemljišnih mikroorganiza-
ma praćena je preko oslobađanja CO₂ po
metodi Waltera (1952) 7, 14, 21, 28 i 35
dana posle primene. Na kraju ogleda uze-
ti su uzorci za mikrobiološke analize ko-

jima je određivana brojnost ukupne mi-
kroflora, gljiva, aktinomiceta, amonifi-
katora, celulolizatora, nitrifikatora, ae-
robnih i anaerobnih azotofiksatora (*Azo-
tobacter* i *Clostridium*) indirektno, meto-
dama razređenja (10^{-1} - 10^{-8}) i zasejavan-
ja selektivnih hranljivih podloga (Sarić,
1992).

Rezultati su obrađeni analizom vari-
janse, značajnost razlika dobijenih sred-
njih vrednosti ocenjena je LSD - testom,
a međuzavisnost delovanja metribuzina i
temperature izražena je preko koeficijen-
ta korelacije (Hadživuković, 1991).

REZULTATI

Rezultati ispitivanja delovanja metri-
buzina na disanje zemljišta na različitim
temperaturama prikazani su u Tabeli 2.
Uticaj metribuzina na intenzitet disanja
zemljišta zavisio je od koncentracije,
dužine izloženosti i temperature. Na tem-
peraturi od 10°C metribuzin u najnižoj
primenjenoj količini nije ispoljio delo-
vanje na ovaj oblik aktivnosti zemljišnih
mikroorganizama. U svim ostalim vari-
jantama ogleda metribuzin je statistički
veoma značajno inhibirao disanje zem-
ljišta. Najjači inhibitorski efekat ostvaren
je na 30°C, a procenat smanjenja bio je
od 30 do 70%, u poređenju sa kontrolom.
Na ovoj temperaturi, sedam dana posle
primene najniže količine, metribuzin je

Tabela 1: Hemijske i fizičke osobine zemljišta

Table 1: Chemical and physical properties of the soil

pH		% CaCO ₃	% humusa Organic matter	Mehanički sastav - Mechanical composition			
u H ₂ O in H ₂ O	u KCl in KCl			2-0.2 mm	0.2-0.02 mm	0.02-0.002 mm	< 0.002 mm
7.50	7.10	10.52	4.91	8.15	39.19	29,10	26.56

Tabela 2: Uticaj metribuzina na intenzitet disanja zemljišta u zavisnosti od temperature (mg CO₂/500 g zemljišta)

mg na 500 g zemljišta mg on 500 g soil	Dani posle primene												Days after treatment					
	7			14			21			28			35					
	10°C	20°C	30°C	10°C	20°C	30°C	10°C	20°C	30°C	10°C	20°C	30°C	10°C	20°C	30°C			
0.0	48.2	91.2	80.3	98.3	211.5	163.3	155.3	345.6	254.2	203.5	456.4	324.8	254.8	561.9	427.2			
0.3	48.7	75.7	52.9	98.2	176.8	103.5	153.4	292.0	162.6	201.7	388.4	214.5	252.0	481.2	268.5			
0.6	40.9	66.6	41.7	84.5	150.8	82.4	133.6	237.2	130.6	174.1	318.1	182.0	217.8	397.2	229.3			
1.2	38.6	67.0	32.9	78.2	148.9	72.7	121.5	234.2	109.1	159.1	315.3	149.0	199.6	393.7	182.4			
2.4	35.2	55.6	25.7	72.8	112.3	54.7	112.7	173.1	87.4	148.4	227.4	114.0	185.3	281.2	139.3			
LSD 5%	4.1	3.8	3.6	3.4	5.4	3.2	4.2	4.4	2.9	5.1	5.1	4.4	4.6	5.3	3.6			
LSD 1%	5.7	5.3	5.0	4.8	7.6	4.5	5.9	6.2	4.1	7.0	7.1	6.2	6.4	7.5	5.1			

Tabela 3: Uticaj metribuzina na brojnost zemljišnih mikroorganizama 10°C (broj/g apsolutno suvog zemljišta)
Table 3: Effect of metribuzine on soil microorganisms abundance at 10°C (abundance/g absolutely dry soil)

mg a.s. mg a.i.	Ukupna mikroflora Total microflora (10 ⁵)	Gljive Fungi (10 ⁵)	Aktinomicete Actinomycetes (10 ⁵)	Celulolizatori Cellulolitics (10 ³)	Amonifikatori Amonifiers (10 ³)	Nitrifikatori Nitrifiers (10 ³)	Azotobacter Azotobacter (10 ³)	Clostridium Clostridium (10 ³)
0.0.	65.38	85.52	22.59	250.34	45.83	321.15	25.56	150.96
0.3	66.42	84.67	20.45	100.29	39.28	311.55	19.82	136.72
0.6	60.81	86.12	18.44	73.62	40.37	279.68	11.36	129.64
1.2	54.75	76.91	10.58	26.19	34.22	289.06	10.20	71.63
2.4	48.28	43.56	3.51	9.32	35.45	280.28	9.26	45.18
LSD 5%	5.11	4.52	5.19	28.43	21.16	9.75	4.56	28.99
LSD 1%	9.24	7.78	9.21	52.20	138.96	17.82	8.34	53.21

Tabela 4. Uticaj metribuzina na brojnost zemljišnih mikroorganizama na 20°C (broj/g apsolutno suvog zemljišta)
Table 4. Effect of metribuzine on soil microorganisms abundance at 20°C (abundance/g absolutely dry soil)

mg a.s. mg a.i.	Ukupna mikroflora Total microflora (10 ⁵)	Gljive Fungi (10 ³)	Aktinomicete Actinomycetes (10 ³)	Celulolizatori Cellulolitics (10 ³)	Amonifikatori Amonifiers (10 ³)	Nitrifikatori Nitrifiers (10 ³)	Azotobacter Azotobacter (10 ³)	Clostridium Clostridium (10 ³)
0.0	230.81	260.18	87.58	250.63	150.11	328.46	35.17	250.04
0.3	236.53	207.35	86.63	169.48	139.41	291.17	22.19	223.96
0.6	194.60	149.18	88.94	85.37	155.74	291.73	17.46	178.69
1.2	190.77	112.20	70.09	27.81	137.33	283.79	17.58	120.16
2.4	160.28	62.62	71.53	9.04	110.61	284.48	16.36	95.64
LSD 5%	46.92	33.19	16.93	52.15	62.38	28.37	5.18	27.36
LSD 1%	86.37	60.64	31.44	95.76	114.61	52.49	9.23	50.21

Tabela 5. Uticaj metribuzina na brojnost zemljišnih mikroorganizama na 30°C (broj/g apsolutno suvog zemljišta)
Table 5. Effect of metribuzine on soil microorganisms abundance at 30°C (abundance/g absolutely dry soil)

mg a.s. mg a.i.	Ukupna mikroflora Total microflora (10 ³)	Gjive Fungi (10 ³)	Aktinomicete Actinomycetes (10 ³)	Celulolizatori Cellulolitics (10 ³)	Amonifikatori Amonifiers (10 ³)	Nitrifikatori Nitrifiers (10 ³)	Azotobacter Azotobacter (10 ³)	Clostridium Clostridium (10 ³)
0.0	130.29	180.56	60.24	250.76	110.85	322.91	25.33	140.40
0.3	124.38	182.71	42.34	228.57	80.05	196.36	19.47	122.82
0.6	111.54	130.17	47.42	144.26	80.37	155.51	12.73	85.27
1.2	81.49	135.95	35.63	53.41	75.64	146.59	14.86	52.60
2.4	76.58	120.42	36.12	20.11	50.08	148.43	15.86	45.74
LSD 5%	32.5	19.4	13.7	19.1	60.9	18.1	5.7	13.2
LSD 1%	59.6	35.6	25.1	34.8	111.8	33.2	10.4	24.3

smanjio količinu oslobođenog CO₂ za 34%, kod duplo veće za 48%, dok je smanjenje pri primeni poslednje dve količine iznosilo 59%, odnosno 70%, u poređenju sa kontrolom.

Rezultati ispitivanja delovanja metri-
buzina na brojnost mikroorganizama na
ispitivanim temperaturama prikazani su
u Tabelama 3, 4 i 5.

Na temperaturi od 10°C metribuzin je
u svim primenjenim količinama ispoljio
inhibitorno delovanje na brojnost celulo-
lizatora, nitrifikatora i *Azotobacter*-a, a
pri primeni dve veće količine, inhibitor-
no je delovao na brojnost ukupne mikro-
flore, gljiva, aktinomiceta i *Clostridium*-
a. Brojnost amonifikatora na ovoj tempe-

raturi nije statistički značajno pro-
menjena (Tabela 2).

Na temperaturi od 20°C veoma zna-
čajno je smanjena brojnost gljiva, celulo-
lizatora, nitrifikatora i *Azotobacter*-a, a
brojnost aktinomiceta i nitrifikatora nije.
Kod ostalih grupa mikroorganizama do
značajnog smanjenja broja došlo je samo
kod dve najviše primenjene količine (Ta-
bela 4).

Na 30°C metribuzin je ispoljio inhibi-
torno delovanje na brojnost svih ispitiva-
nih grupa zemljišnih mikroorganizama,
osim na amonifikatore, a samo u dve
najviše koncentracije je smanjio brojnost
ukupne mikroflore (Tabela 5).

Tabela 6. Koeficijenti korelacije uticaja metribuzina i temperature na zemljišne mikroorganizme

Table 6. Coefficients of correlations effects of metribuzine and temperature on soil microorganisms

Mikrobiološki parametri Microbiological parameters	Koeficijent korelacije (r) Correlation coefficient (r)
Ukupna mikroflora Total microflora	0.92**
Gljive Fungi	0.98**
Aktinomicete Actinomycetes	0.27
Celulolizatori Cellulolitics	0.69*
Amonifikatori Amonifiers	0.17
Nitrifikatori Nitrifiers	0.87**
<i>Azotobacter</i> <i>Azotobacter</i>	0.35
<i>Clostridium</i> <i>Clostridium</i>	0.57*
Disanje zemljišta Soil respiration	0.99**

* Statistički značajno na nivou 5% - Statistically significant at 5% level

** Statistički značajno na nivou 1% - Statistically significant at 1% level

Statistička analiza je pokazala da postoji visoka korelaciona zavisnost između delovanja metribuzina i temperature na disanje zemljišta (0.92^{**}), ukupnu mikrofloru (0.98^{**}), aktinomicete (0.69^*), amonifikatore (0.87^{**}), *Azotobacter* (0.57^*) i *Clostridium* (0.99^{**}). Delovanje metribuzina na ostale grupe mikroorganizama nije zavisilo od temperature (Tabela 6).

DISKUSIJA

Rezultati ispitivanja pokazuju da u periodu do 35 dana posle primene metribuzina dolazi do veoma značajnih promena u aktivnosti i brojnosti nekih sistematskih i fizioloških grupa zemljišnih mikroorganizama, i da stepen inhibitornog delovanja zavisi od koncentracije aktivne materije, dužine izloženosti i grupe, odnosno vrste aktivnosti mikroorganizama.

Metribuzin je smanjio intenzitet disanja zemljišta, tako da je u gotovo svim varijantama oglada došlo do statistički veoma značajnog smanjenja količine oslobođenog CO_2 . Do sličnih rezultata u svojim istraživanjima došli su Marsh i saradnici (1977) i Janjić i saradnici (1986). Ovi autori su u poljskim i laboratorijskim ispitivanjima pokazali da se pod uticajem metribuzina intenzitet disanja zemljišta smanjuje od 40 do 80%, u poređenju sa kontrolom. Naša ranija istraživanja sa aktivnim materijama iz grupe hloracetanilida (alahlor, metolalahlor) ukazuju da ovi herbicidi, u količinama koje se preporučuju za primenu, izazivaju veoma značajno smanjenje disanja zemljišta (Radivojević i sar., 1999; Radivojević i Stanković-Kalezić, 2000).

Metribuzin je različito delovao na brojnost mikroorganizama u zemljištu.

Na sve tri temperature smanjio je brojnost ukupne mikroflore, gljiva, celulolizatora, nitrifikatora, *Azotobacter*-a i *Clostridium*-a. Brojnost aktinomicete smanjio je na 10°C i 30°C , dok se brojnost amonifikatora nije značajno menjala za sve vreme trajanja oglada. Inhibitorno delovanje herbicida iz grupe triazina, kojoj pripada i metribuzin, na broj nekih sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama u svojim istraživanjima potvrdio je veći broj autora (Bogdanović, 1990a i 1990b; Grossbard i Davies, 1976; Đorđević i sar., 1994; Jarak i sar., 1992; Ovčinnikova, 1980; Tamburić i Lević, 1995; Govedarica i sar., 1996).

U ovim, kao i u našim ranijim istraživanjima (Radivojević i sar., 1999; Radivojević i Stanković-Kalezić, 2000), pokazalo se da su celulolizatori najosetljiviji od ispitivanih grupa mikroorganizama. U gotovo svim varijantama oglada njihova brojnost je smanjena za više od 90% u poređenju sa kontrolom. Grossbard i Wingfield (1978), kao i Hainonen-Tanski i saradnici (1985), navode da su celulolizatori veoma osetljivi na delovanje herbicida i da se mogu uzeti kao indikatori prisustva herbicida u zemljištu.

Rezultati koji su prikazani u ovom radu, kao i mnogi drugi, ukazuju da pod uticajem herbicida u zemljištu može doći do narušavanja prirodne ravnoteže unutar mikrobiološke populacije, koja dalje može dovesti do poremećaja u procesima kruženja materije i održavanja potencijalne i efektivne plodnosti zemljišta.

LITERATURA

Bogdanović, V.: Prilog proučavanju zastupljenosti aktinomiceta u zemljištu pri primeni herbicida. Mikrobiologija, **27**, 155-163, 1990a.

Bogdanović, V.: Zastupljenost gljiva u zemljištu pri gajenju soje i primeni herbicida. Mikrobiologija, **27**, 165-172, 1990b.

Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M., Konstantinović, B. i Đurić, S.: Uticaj herbicida na mikrobiološku aktivnost u zemljištu pod kukuruzom. Zbornik radova V kongresa o korovima, Banja Koviljača, 1996, str. 581-586.

Grossbard, E. and Davies, H.A.: Specific microbial response to herbicides. Weed Res., **16**, 163-169, 1976.

Hadživuković, S.: Statistički metodi sa primenom u poljoprivredi i biološkim istraživanjima. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1991.

Hainonen-Tanski, H., Rosenberg, C., Siltanen, H., Kilpi, S. and Somojoki, P.: The effect of the annual use of pesticides on soil microorganisms. Pestic. Sci., **16**, 341-348, 1985.

Dordević, S., Govedarica, M., Ajder, S. i Stefanović, L.: Uticaj nekih herbicida na biološku aktivnost i mikroorganizme u zemljištu. Savremena poljoprivreda, **42**, 123-133, 1994.

Jarak M., Belić S., Govedarica M. i Vojvodić-Vuković M.: Uticaj atrazina i monokrotofosa na brojnost i aktivnost mikroorganizama u zemljištu. Pesticidi, **9**, 17-19, 1994.

Marsh, J.A.P., Davies, H.A and Grossbard, E.: The effect of herbicides on respiration and

transformation of nitrogen in two soil. 1. Metribuzin and glifosat. Weed Res., **17**, 77-82, 1977.

Radivojević, Lj., Janjić, V. Cupać, S., Stanković-Kalezić, R., Jovanović, Lj. i Marisavljević, D.: Uticaj metolahlora na brojnost i aktivnost nekih zemljišnih mikroorganizama u zavisnosti od temperature. Pesticidi, **14**, 273-280, 1999.

Radivojević, Lj. i Stanković-Kalezić, R.: Promene brojnosti i aktivnosti nekih grupa zemljišnih mikroorganizama pod uticajem metribuzina. Pesticidi, **15**, 223-232, 2000.

Radivojević, Lj. i Stanković-Kalezić, R.: Uticaj trifluralina i pendimetalina na mikroorganizme u zemljištu. Zbornik radova VI kongresa o korovima, Banja Koviljača, 2000, str. 447-455.

Sarić, Z.: Metode u mikrobiologiji. Nauka, Beograd, 1992.

Tamburić, Lj. i Lević, Lj.: Uticaj atrazina, EPTC-a i njihove smeše na brojnost mikroorganizama u zemljištu pod usevom kukuruza. Pesticidi, **10**, 219-230, 1995.

Walter, H.: Eine einfache metode zur oekologischen effraassuhg des CO₂-faktors am standort ber. D. Dtschn. Bat. Ges., **65**, 175-183, 1952.

Effects of Metribuzin on the Abundance and Activity of Some Groups of Soil Microorganisms

SUMMARY

Effects of the metribuzin herbicide on soil microorganisms were investigated. Trials were set up on a chernozem soil in laboratory environment. Metribuzin application rates were 0.3, 0.6, 1.2 and 2.4 mg a.i./500 g air-dry soil at 10°C, 20°C and 30°C. Soil respiration (amount of released CO₂) and abundance of total microflora, fungi, actinomycetes, cellulolytics, ammonifiers, nitrifiers, aerobic nitrogen fixers (*Azotobacter*) and anaerobic nitrogen fixers (*Clostridium*) were studied. Metribuzin was found to inhibit soil respiration, causing statistically highly significant changes of that area of microbiological activity in almost all trial variants. The effect of metribuzin on microorganism abundance varied. It caused a decrease in total microflora, fungi, cellulolytics, nitrifiers, and aerobic and anaerobic nitrogen fixers (*Azotobacter* and *Clostridium*) at all temperatures, and reduced the abundance of actinomycetes at 10°C and 30°C. No effect on ammonifiers was recorded.

Key words: Metribuzin; Soil microorganisms; Soil respiration; Temperature