

*D. Đukić, L. Mandić*<sup>1</sup>

**MIKROORGANIZMI I MIKROBIOLOŠKI PROCESI KAO  
INDIKATORI ZAGAĐENOSTI ZEMLJIŠTA PESTICIDIMA  
MICROORGANISMS AND MICROBIOLOGICAL PROCESSES AS  
INDICATORS OF SOIL POLLUTION WITH PESTICIDES**

**Izvod**

Pesticidi imaju nesumnjivo veliki značaj za održavanje poljoprivredne proizvodnje na potrebnom nivou. Međutim, imajući u vidu ograničenu kumulacionu sposobnost različitih sredina, to nekontrolisana primena ne samo pesticida već i drugih hemijskih melioranata, dovodi do znatnog remećenja uspostavljene dinamičke ravnoteže u biogeosferama. To se naročito odnosi na pedosferu u kojoj se može pratiti reakcija test organizama (mikroorganizmi, biljke i životinje) i bioloških procesa na prisustvo pesticida. U zavisnosti od njihove hemijske prirode, primenjene koncentracije i doze pesticidi mogu ispoljiti stimulativan, inhibitoran ili indiferentan odnos prema mikroorganizmima i mikrobiološkim procesima u zemljištu

**Ključne reči:** fungicidi, herbicidi, insekticidi, mikroorganizmi, pesticidi, zemljište, zagađenost.

**Abstract**

Pesticides are doubtlessly of great importance for maintaining of agricultural production at necessary level. However, considering limited cumulative ability of various media, the uncontrolled application, not only of pesticides, but also of other chemicals may lead to considerable dynamic imbalance in biogeospheres. This applies to pedosphere in particular, where the response of the test organisms (microorganisms, plants and animals) may be followed, as well as that of the biological processes to the presence of the pesticides. Depending on the pesticide chemical nature, applied concentration and amount, the pesticides may exhibit stimulating, inhibitory and neutral response to the microorganisms and microbiological processes in the soil.

<sup>1</sup> Dr Dragutin Đukić, mr Leka Mandić, Agronomski fakultet,  
32 000 Čačak, Cara Dušana 34

**Key words:** Fungicides, herbicides, insecticides, microorganisms, pesticides, pollution, soil.

### UVOD

Savremena (intenzivna) poljoprivredna proizvodnja podrazumeva primenu brojnih hemijskih supstanci (mineralna đubriva, hemijski melioranti, mikroelementi, inhibitori nitrifikacije i pesticidi) u cilju povećanja prinosa poljoprivrednih kultura. Danas je u razvijenim zemljama 50-60% poljoprivrednih proizvoda rezultat primene samo mineralnih đubriva; 20% ratarske i 60% voćarske proizvodnje se odvija na račun uvođenja hemijskih sredstava zaštite biljaka (*Hajniš et al., 1979*). U ekonomski slabo razvijenim državama do 50% mogućeg prinosa propada zbog korova i štetočina a u industrijski razvijenim 15-25%. Prema podacima FAO, ako bi se isključila primena pesticida, prinos osnovnih kultura u svetu bi se smanjio za 30-35%, pri čemu bi šteta iznosila 75 milijardi dolara (*Dobrovoljski, Grišina, 1985; Ejhler, 1986*).

Buran razvoj industrije organske sinteze zadnjih decenija je doveo do pojave ogromnog broja novih supstanci u biosferi. U svetu se svake godine proizvede  $2 \times 10^8$  tona organskih supstanci, što je uporedivo sa svetskom proizvodnjom nafte -  $3 \times 10^9$  t/god. (*Leisinger, 1983*). Danas se koristi više od hiljadu hemijskih jedinjenja na bazi kojih se proizvodi na desetine hiljada preparata pesticida (*Merenjuk, 1984*). Pretpostavlja se da će se potrošnja pesticida u svetu svake godine povećavati za 10-15% (*Dobrovoljski, Grišina, 1985*).

Pesticidi su hemijski preparati koji se koriste za borbu protiv štetočina i izazivača bolesti biljaka, protiv korova, štetočina drvene mase i drugih biljnih sirovina, hranljivih proizvoda i tome slično. Pesticidi pripadaju različitim kategorijama organskih i neorganskih jedinjenja. Većina od njih su organske supstance, koje se dobijaju sintetičkim putem: hloroorganski i fosforoorganski pesticidi, proizvodi karbaminske kiseline i uree, triazini, a takođe i pesticidi biljnog porekla. Od neorganskih pesticida u širokoj primeni su preparati koji sadrže bakar i sumpor i dr.

Osim svog neposrednog ciljnog efekta (insekticidi, akaricidi, fungicidi, baktericidi, nematocidi, moluskicidi, zoocidi, herbicidi, repelenti, atraktanti, hemosterilanti), pesticidi ispoljavaju pobočan uticaj na biosferu. Razmere tog uticaja su uporedive sa globalnim ekološkim faktorima.

S gledišta mikrobiologa pesticide treba tretirati kao: inhibitore posebnih enzimskih reakcija; inhibitore rasta cele ćelije ili populacije mikroorganizama; supstrate primarnog metabolizma, koje specijalizovani mikroorganizmi koriste kao izvore energije ili biogenih elemenata; supstrate kometabolitskih procesa, koje u prisustvu odgovarajućih kosupstrata mikroorganizmi transformišu u druga jedinjenja; indiferentna jedinjenja, koja u niskim koncentracijama (što se obično

očekuje pri praktičnoj primeni pesticida u poljoprivrednoj proizvodnji) bitno ne utiču na metabolizam mikroorganizama.

## UTICAJ PESTICIDA NA ZEMLJIŠNE MIKROORGANIZME

### Pesticidi kao toksikanti okolne sredine

Problem toksičnosti pesticida za biotop je vrlo izražen. Osnovna opasnost pesticida sastoji se u njihovom uključenju u biološko kruženje. Preko lanca ishrane oni mogu dospeti do viših organizama, pa i samog čoveka, koncentrišući se u svakoj kariki. *Ejhler (1986)* smatra da dejstvo pesticida kroz lance ishrane predstavlja za čoveka mnogo veću opasnost od radioaktivnosti zato što je opasnost od radioizotopa definisana a o toksičnosti pesticida se sasvim malo zna.

Kada se govori o mikrobnom naselju zemljišta, negativne posledice sporednog dejstva pesticida znatno se proširuju. Zemljišni mikroorganizmi, kao komponenta biogeocenoza, ispituju se sa aspekta uticaja pesticida, a kao karika hranidbenih lanaca učestvuju u njihovom prenosu do viših organizama i čoveka. Delujući na određene mikroorganizme, pesticidi utiču i na ekosisteme, izazivajući njihovu modifikaciju. Takve modifikacije često dovode do nepovratnog narušavanja ekološke ravnoteže. S druge strane, zemljišni mikroorganizmi izazivaju transformaciju i mineralizaciju pesticida, koristeći ih kao izvore ugljenika i energije. S tim procesima je tesno povezan problem detoksikacije pesticida u okolnoj sredini. Sve ovo govori o aktuelnosti ispitivanja uzajamnog dejstva pesticida i zemljišnih mikroorganizama.

U radovima koji se bave izučavanjem uticaja pesticida na zemljišne mikroorganizme prirodno se izdvajaju tri pravca: ocena uticaja pesticida na osnovne procese koje izazivaju mikroorganizmi u zemljištu (razlaganje organske supstance, reakcije ciklusa azota, sumpora, fosfora i drugih biogenih elemenata); analiza kvantitativnog i kvalitativnog sastava predstavnika različitih taksonomskih grupa mikroorganizama u vezi s osetljivošću određenih vrsta na bilo koji pesticid; ekološka analiza promena u sastavu i organizaciji zajednica mikroorganizama i čitavom mikrobnom sistemu, koje se dešavaju pod uticajem pesticida. Glavni deo istraživanja, međutim, tiče se uticaja pesticida na određene pokazatelje biološke aktivnosti zemljišta. Izuzimajući pojedine radove, čine se pokušaji da se izgradi celovita slika funkcionisanja ekosistema u uslovima primene pesticida (*Pačepski, 1982; Soulas, 1982; Domsch, 1984*).

Spektar mehanizama dejstva pesticida na mikrobnu ćeliju je raznovrstan. Proizvodi karbamata utiču na proces deljenja ćelija; organska jedinjenja bakra i ditiokarbamati - na propustljivost membrana; hinoni - na prenos elektrona u lancu disanja; kaptan, organska jedinjenja žive i formaldehid reaguju s ćelijskim komponentama, stupajući u reakcije s karboksilnim, sulfhidrilnim i početnim

aminogrupama, jonima metala i dr. Pesticidi različito utiču na prokariotske i eukariotske ćelije. Podaci o biohemiji antimikrobnog dejstva pesticida su vrlo protivrečni. Rad u tom pravcu nalazi se u početnom stadijumu (*Jemnova, Kodrjan, 1984*).

Faktori koji opredeuljuju uticaj pesticida na zemljišne mikroorganizme su: mehanizam dejstva hemijske osnove preparata, doza pesticida, brzina razlaganja i perzistentnost, kao i temperatura, vlažnost, apsorpciona sposobnost i oksido-redukcioni potencijal zemljišta (*Hajniš i dr., 1979*).

Direktno delovanje pesticida na zemljišne mikroorganizme uslovljeno je njihovom selektivnom toksičnošću, pa je stoga ograničeno određenim komponentama mikrobnog sistema. Indirektno delovanje se može objasniti izmenom uslova ishrane i opskrbljenosti mikroorganizama energijom i narušavanjem ravnoteže u ekosistemu. Tako, u slučaju primene herbicida, izmena količine i kvaliteta biljnih ostataka, koji dospevaju u zemljište, ima za posledicu ukupno sniženje biološke aktivnosti i funkcionu reorganizaciju ugljenične ishrane zemljišnih mikroorganizama, što na kraju može dovesti do intenzivnog gubitka humusa.

Podaci o uticaju pesticida na zemljišne mikroorganizme često su protivrečni. Složenost problema uslovljena je ne samo različitim egzogenim faktorima već i time što u zemljište u znatnim, često jako različitim količinama dospeva oko 100 grupa važnih supstanci. Ako se ima u vidu da se u zemljištu nalazi na hiljade vrsta mikroorganizama, očekivano je postojanje ogromnog broja mogućih reakcija mikrobnog zajednice.

#### **Uticaj pesticida na aktivnost mikrobioloških procesa u zemljištu**

Izučavanju uticaja pesticida na posebne mikrobiološke procese posvećen je, verovatno, najveći broj istraživanja u toj oblasti, koja se naziva "**MIKROBIOLOGIJOM PESTICIDA**". Najčešće se razmatra dejstvo pesticida na procese za koje su razrađene pogodne metode određivanja: procesi nitrifikacije, mineralizacije organske supstance, amonifikacije, fiksacije azota (nitrogenazna aktivnost), denitrifikacije, i oksidacije i redukcije gvožđa i mangana. Još češće se izvodi određivanje enzimske aktivnosti zemljišta (katalazne, dehidrogenazne, polifenoloksidazne, amilazne, proteinazne, fosfatazne, invertazne itd) na osnovu brzine, odgovarajuće, relativno proste reakcije, pri čemu se smatra da se u momentu određivanja u zemljištu nalaze ne samo enzimi mikroorganizama, već i drugih predstavnika zemljišnog biotopa, kao i  $\pm$ zemljišni enzimi<sup>2</sup> - biokatalizatori, koji su imobilisani na česticama zemljišta i na taj način izgubili neposrednu vezu sa organizmima.

Potvrda negativnog efekta pesticida na zemljišne mikroorganizme je usporavanje izučavanog procesa u poređenju sa kontrolom. U tom smislu, izdvaja

se ne jedan, već nekoliko kriterijuma negativnog dejstva pesticida, naprimer sniženje brzine procesa i dužine lag - faze - vremena, u toku kojeg nema vidljive transformacije supstrata unesenog u zemljište.

Između potencijalno mogućih reakcija zemljišnih mikroorganizama i procesa koje su izazvali pesticidi izdvajaju se različite varijante inhibicije i stimulacije aktivnosti, a takođe indiferentnog odnosa prema pesticidu.

Herbicidi, u celini, suzbijaju disanje zemljišta i proces nitrifikacije (*Mišustin, 1964, Zubec, 1973; Bartha et al., 1967*). Do analognog zaključka došao je Domš (*Domsch, 1984*), koji je ispitao uticaj 71 pesticida na 25 bioloških procesa u zemljištu. Utvrđeno je da su na pesticide najosetljiviji: fosfatna aktivnost, procesi nitrifikacije i razlaganja organske supstance. Herbicidi suzbijaju dehidrogenaznu aktivnost (*Spiridonov, Spiridonova, 1973; Beck, 1970; Schuster, Schroder, 1986*). Aktivnost ureaze se snižava za 50% posle 14 godina uzastopnog tretiranja zemljišta atrazinom (*Voets et al., 1974*).

U proizvodnim dozama pesticidi često ne inhibiraju, već naprotiv, stimulišu mnoge mikrobiološke procese (*Maličenko, 1971; Nebson, Hedrick, 1976*). Male doze pesticida stimulišu disanje u zemljištu (*Zelles et al., 1985*). Visoke doze pesticida povećavaju intenzitet izdvajanja ugljen-monoksida iz zemljišta. Za objašnjenje ovog fenomena predložena je hipoteza o formiranju mikrobne zajednice s velikom biomasom, koja je otporna na dejstvo pesticida (*Voets et al., 1974*). Jednokratno unošenje pesticida često ne utiče na aktivnost enzima (*Zubec, 1973*), posebno celulaze (*Maličenko, 1971, Lewis et al., 1978*). Pri jednokratnom tretiranju zemljišta pesticidi slabo menjaju aktivnost ureaze i intenzitet procesa denitrifikacije i azotofiksacije (*Domsch, 1984*). Pesticidi privremeno deluju na enzimsku aktivnost zemljišta, naročito u početnom periodu nakon tretiranja, da bi se kasnije konstatovala redukcija aktivnosti do polaznog nivoa (*Volkova i dr., 1984*).

#### **Uticaj pesticida na brojnost mikroorganizama u zemljištu**

Tipovi reakcije zemljišnih mikroorganizama na pesticide kreću se u širokim granicama - od visoke stabilnosti do visoke osetljivosti. Prema Domšu (*Domsch, 1972*), brojnost senzibilnih organizama se jako smanjuje, ili potpuno iščezavaju, iz zasejanih zemljišnih proba, zagađenih pesticidima. Pod uticajem fungicida najviše se smanjuje brojnost nitrifikatora, znatno opada količina zemljišnih gljiva, dok se bakterije i aktinomicete suzbijaju u manjoj meri. Pri fumigaciji zemljišta metilbromidom, hlorpikrinom i metilizotiocianatom dolazi do izrazitog pada brojnosti svih grupa mikroorganizama. Biocidna svojstva sličnih preparata nisu postojana, tako da se nakon određenog vremena uspostavlja životna aktivnost mikroorganizama (*Poulson, 1979*). U pregledu literature *Hajniša i dr. (1979)* nalaze se saopštenja o pogubnom dejstvu niza pesticida na brojnost različitih

grupa mikroorganizama: kaptan PHNB smanjuje brojnost patogenih gljiva, eptatoksafen i heptahlor - bakterija, cineb - sporogenih bakterija, prometrin i aretit - bakterija otpornih na streptomycin, eptam, alikvat i atrazin - gljiva, a u nizu slučajeva - svih grupa mikroorganizama. Brojnost mikroorganizama nije opala odjednom, već kroz nekoliko nedelja nakon unošenja preparata (*Kruglov i dr., 1975; Negare, 1982*). Ispitivanje uticaja više od 300 pesticida (pomoću različitih zemljišnih testova) na zemljišne mikroorganizme pokazalo je da se gljive mogu suzbijati velikim brojem supstanci, manjim koncentracijama i u toku dužeg vremena, nego bakterije i aktinomicete (*Maličenko, 1971; Nebson, Hedrick, 1976*).

Među pesticidima koji su stimulisali rast mikroorganizama ističu se: kaptan i parationmetil - povećavaju brojnost mnogih grupa bakterija, aktinomiceta i saprofitnih gljiva; u povišenim dozama parationmetil stimuliše celulolitske i nitrifikacione bakterije; lindan i dildrin povećavaju brojnost amonifikacionih, a atrazin nitrifikacionih bakterija (*Kudzin i dr., 1973; Hajniš i dr. 1979; Beck, 1970*). Nakon tretiranja pesticidima rastao je broj gljiva i heterotrofnih bakterija (*Mereško, Grešnik, 1971; Micev, Bubalov, 1972*). Višegodišnja primena triazinskih herbicida uslovlila je povećanje broja vrsta gljiva u zemljištu (*Gorlenko i dr. 1980*).

Indiferentan odnos mikroorganizama prema pesticidima utvrdili su mnogi autori. Ustanovljeno je da u proizvodnim i čak povišenim dozama triazinski herbicidi ne utiču na brojnost celulolitskih mikroorganizama (*Maličenko, 1971; Helmecki, 1977; Lewis et al., 1978; Simon, Bergerova, 1984*). Uobičajene doze herbicida, po pravilu, nisu ili su slabo toksične za većinu mikroorganizama (*Mišustin, 1964*). Atrazin ne ispoljava bitan uticaj na brojnost zemljišnih bakterija i gljiva (*Kruglov, Gerš, 1976*). Trogodišnja primena triazinskih herbicida ne izaziva promenu ukupnog broja streptomiceta (*Zenova i dr., 1986*). Jednokratna obrada zemljišta pentahlorfenolom ne dovodi do promene broja bakterija u njemu (*Sato, 1985*).

#### **Uticaj pesticida na aktivnost posebnih sistematskih grupa zemljišnih mikroorganizama**

Od svih sistematskih grupa mikroorganizama najveću senzibilnost ispoljavaju gljive a naročito neke vrste rodova *Penicillium, Fusarium, Humicola, Rhizoctonia, Phytium, Mucor, Rhizopus i Trichoderma*. Među bakterijama, na pesticide su najotporniji pseudomonasi, korinobakterije, flavobakterije i agrobakterije (*Maličenko, 1971; Hajniš i dr., 1979*). Nakon tretiranja zemljišta pesticidima dolazi do preraspodele vrsnog sastava mikroorganizama. Tako na primjer, višegodišnje unošenje simazina u zemljište, menja sastav vrsta aktinomiceta roda *Streptomyces*, naročito u pravcu pojave novih dominantata. Uticaj preparata je bio posebno izražen u toku prvog meseca posle njegove primene (*Zenova i dr., 1983*).



Trogodišnja primena prometrina dovodi do pregrupisavanja sastava mikroorganizama u korist kultura koje su sposobne da rastu pri deficitu organske supstance (*Manturovskaia, 1970*). Višegodišnja primena triazinskih herbicida uslovljava pregrupisavanje dominantnih oblika gljiva. Broj tipičnih vrsta se smanjuje i pojavljuju se otporni oblici (*Gorlenko i dr., 1980*).

#### **Opšte zakonitosti reakcije zemljišnih mikroorganizama na pesticide**

Podaci o uticaju atrazina, jednog od najrasprostranjenijih herbicida, na različite pokazatelje mikrobiološke aktivnosti svedoče o krajnjoj protivrečnosti rezultata, koji se tiču problema sporednog dejstva pesticida.

Na taj način, isti pesticid može izazvati suzbijanje, stimulaciju ili ispoljiti indiferentan odnos, čak i ako se rasuđuje na osnovu istog pokazatelja mikrobiološke aktivnosti. Često jedan isti istraživač posmatra direktno suprotstavljene efekte. Analogni spektri neusaglašenih efekata mogu se navesti i za veliki broj drugih pesticida. Tu pojavu, verovatno, uzrokuju različiti faktori (nejednaki uslovi eksperimenta, različito tumačenje rezultata itd). Određenu složenost u njihovoj reprodukciji čine fluktuacione izmene u dinamici pokazatelja mikrobiološke aktivnosti, koje se dešavaju pod uticajem prirodnih faktora nevezanih za pesticide. U celini, sve to uslovljava da se iz "okeana" empirijskih podataka dobije dosta oskudan "ulov" zaključaka opšteteorijskog značaja. Jedni od njih se tiču veze hemijske strukture pesticida sa stepenom toksičnog uticaja. Te veze se obično uspostavljaju pomoću kvantno-hemijskih determinanti i detaljno se analiziraju u radovima iz fizičke hemije, koji se odnose na biološke sisteme (*Jagužinski, 1979; Emanuel, 1981*). Drugi aspekti problema su u vezi sa mikrobiološkim procesima koji su vrlo osetljiviji na pesticide (fiksacija atmosferskog azota, nitrifikacija, fotosinteza, redukcija gvožđa i dr.). Manje osetljivi na dejstvo pesticida su procesi denitrifikacije i mnogi enzimski procesi, a procesi amonifikacije i disanja zemljišta zauzimaju središnje mesto (*Domsch, 1971*). Još uvek se ne zna šta leži u osnovi tih razlika. Može se pretpostaviti da su negativnom dejstvu pesticida u najvećem stepenu podvrgnuti evoluciono stariji organizmi - autotrofne i diazotrofne bakterije, čija se genetska osnova formirala u onom periodu, kada se u primitivnoj biosferi Zemlje još uvek nisu akumulirale visoke koncentracije vančelijskih fiziološki aktivnih organskih jedinjenja.

Ovom prilikom treba navesti neke najopštije zakonitosti reakcije zemljišnih mikroorganizama na pesticide. Utvrđeno je da je dejstvo pesticida najupadljivije pri njihovoj sistematskoj primeni (*Volkova i dr., 1984*). Pesticidi uneseni u proizvodnim dozama ne utiču na zemljišne mikroorganizme ili izazivaju privremeno (na 2-3 meseca) suzbijanje najosetljivijih oblika s naknadnim uspostavljanjem normalnih obeležja i svojstava, što se odnosi i na enzimsku aktivnost zemljišta. Izmene su često vremenski nestabilne (*Latinova i dr., 1968; Maličenko, 1971; Vojevodin, 1981; Micev, Bubalov, 1972; Schuster, Schroder, 1986*). U zavisnosti od doze pesticida izmene mogu imati reverzibilan karakter ili

se fiksiraju. Ravnoteža u mikrobnom sistemu se bitno menja samo pri jednokratnom unošenju visokih (100 i 1000 puta iznad proizvodnih) doza pesticida (*Ananjeva i dr. 1986; Rusek, Gordienko, 1986*). Jedna od najrasprostranjenijih posledica višegodišnje primene pesticida je pregrupisanje sastava vrsta u mikrobnim zajednicama zemljišta.

### MIKROBIOLOŠKI ASPEKTI OCENE STEPENA SPOREDNOG DEJSTVA PESTICIDA

Pesticidi cirkulišu u biosferi već više od 40 godina, ispoljavajući raznoliko, često skriveno, sporedno dejstvo na biotop, zbog čega je postao aktuelan problem razrade prilaza i metoda ocene stepena ugroženosti ekosistema. Reakcija posebnih elemenata zemljišnog biotopa na pesticide može imati ogroman broj različitih manifestacija, koje često nisu usklađene ili čak protivrečne jedna drugoj. U cilju ekološkog monitoringa zagađenja zemljišta pesticidima, za svaki novo-sintetisani preparat se odabira spektar pokazatelja, koji adekvatno odražavaju stepen negativnog uticaja pesticida na ekosistem. Međutim, raznolikost hemijskih sredstava, koja se u poljoprivredi koriste za borbu sa štetnim organizmima, je vrlo velika i ona raste svake godine, zbog čega je praktično nemoguće kontrolisati čak samo najrasprostranjenije pokazatelje biološke aktivnosti. S druge strane, izbor ograničene grupe mikrobioloških obeležja je neopravdan zbog njihove široke varijabilnosti pod uticajem pesticida i prirodnih faktora okolne sredine. U vezi s tim neophodni su novi prilazi koji omogućavaju da se za kratko vreme oceni veliki broj hemijskih supstanci i primene skraćene šeme istraživanja i izračunavanja (*Merenjuk, 1984*).

Postojeći mikrobiološki prilazi opštem monitoringu zagađenja zemljišta pesticidima ima niz nedostataka. Među izdvojenim pokazateljima, po pravilu, se ne mogu naći zakonite veze. Metode zasejavanja na selektivne sredine, s ciljem da se dobije specifična grupacija mikroorganizama u zagađenim uzorcima, uključuju u razmatranje i neaktivne oblike mikroorganizama - spore i mirujuće ćelije, čija brojnost može biti i visoka, ali im je neadekvatna aktivnost. Indikacija zagađenja pomoću osetljivih ili, obrnuto, otpornih vrsta (sojeva) mikroorganizama je u ovoj etapi manje perspektivna, pošto ne postoje jednoznačni indikatori za sve, pa čak ni za najrasprostranjenije pesticide. Određena prednost daje se korišćenju novih biotipova mikroorganizama, dobijenih metodama genetskog inženjeringa (*Papavizas et al., 1982*). Mikroorganizmi, koji su na ovaj način postali otporni na određeni pesticid, mogu se upotrebljavati kao indikatori. Dopunsku poteškoću čini prirodna varijabilnost mikrobne aktivnosti u zemljištu (*Zvjagincev, 1987*).



### Analiza strukture kompleksa zemljišnih streptomiceta

Metodologija izučavanja izmena u kompleksu zemljišnih mikroorganizama pod uticajem antropogenih opterećenja uopšte je nedovoljno razrađena u zemljišnoj mikrobiologiji. U opštoj ekologiji za rešavanje analognih zadataka upotrebljava se sinekološki prilaz (*Odum, 1975*). Perspektiva takvog prilaza je očigledna. Reakcija celine je bolji pokazatelj, nego promena njenog dela. U celini (u datom slučaju to je zajednica mikroorganizama) svi delovi su zakonomerno povezani jedan s drugim i promena jednog od njih dovodi do promena drugih. Jedan od metoda sinekološkog izučavanja sastava zemljišnih mikroba je analiza strukture kompleksa mikroorganizama, zasejanih iz zagađenih uzoraka zemljišta.

U poljskim uslovima je izučavan uticaj herbicida glina i terbacila (proizvodi sulfanilne uree) na strukturu kompleksa zemljišnih streptomiceta. To su novi herbicidi, koji su za jedan-dva puta aktivniji od svih do sada primenjivanih preparata. Unošenje tih herbicida u niskim dozama čini ih neobično pogodnim za korišćenje u poljoprivredi. Preparati imaju kratak period poluraspada i bezopasni su za toplokrvne životinje. Međutim, za masovnu primenu navedenih herbicida neophodno je poznavanje i drugih svojstava tih jedinjenja, a posebno nije izučeno pitanje njihovog uticaja na zemljišne mikroorganizme.

Brojnost zemljišnih aktinomiceta uvećava se pri unošenju preparata glina i terbacila u zemljište (*Gauze i dr., 1983; Robinson, 1968*). Posebno su primetna odstupanja od kontrolnih varijanata na 30 dana posle unošenja. Značajno povećanje broja aktinomiceta, u poređenju s kontrolom, nastaje u varijanti s unošenjem glina u dozi 40 g/ha. Četrdesetog dana posle unošenja preparata brojnost aktinomiceta se približava kontrolnim vrednostima.

Razlike u kvantitativnom sastavu streptomiceta nastaju usled smene vrsta tih mikroorganizama u zemljištu pri unošenju preparata. Jedne vrste streptomiceta su dominantne kako u kontroli, tako i u ogleđnim varijantama, što znači da su otporne na dejstvo preparata. To su streptomicete *Cinereus achromogenes*, *C. chromogenes*, *Imperfectus*. Slučajne ili retke se nalaze u kontroli i u varijantama sa preparatom glina - *Cinereus chrysomallus*, *Albus albocoloratus*, *Roseus fradiae*. Druge vrste su osetljive na unošenje oba preparata u zemljište. Pri povećanju doze glina do 40 g/ha dominacija vrsta sekcije *Cinereus violaceus* se smanjuje prelazom tih vrsta u grupu tipično čestih; tipične vrste *Imperfectus* (crni oblici) prelaze u tipično retke. Streptomicete *Helvoloflavus helvolus* - koje su tipično retke u kontrolnim varijantama, pri unošenju preparata postaju tipično dominantne. Slučajne vrste sekcije *Azurens coeruleascens* pri unošenju glina prelaze u grupu tipično retkih. Razlike u frekvencijama nalaženja vrsta, koje pripadaju različitim sekcijama, su tim više što je veća doza unesenog preparata.

Utvrđeno je da se vrsta *Streptomyces ramulosus* (sekcija *Cinereus violaceus*) susreće samo pri unošenju terbacila. U drugim varijantama otkrivena je vrsta *S. althioticus*, koja pripada toj istoj sekciji. Visoka doza glina (40 g/ha) uslovljava pojavu predstavnika vrste *S. helvoloviolaceus* (sekcija *Helvoloflavus helvolus*). Pri unošenju glina u dozi 10 g/ha streptomicete ove sekcije su predstavljene vrstama *S. globisporus* i *S. odorifer*, koje se ne nalaze u varijantama sa glinom (40 g/ha).

Primenom koeficijenta sličnosti, radi upoređivanja kompleksa zemljišnih streptomiceta u različitim varijantama, pokazano je da na pet dana posle unošenja herbicida sličnost između tih kompleksa u kontroli i u varijantama sa preparatima je tim viša, što je manja doza herbicida. Pri unošenju glina (40 g/ha) i terbacila (2 kg/ha) kompleksi streptomiceta se više razlikuju nego u kontrolnim varijantama i međusobno su slični. Nakon 30 dana ta zakonitost je nešto slabije izražena, a posle 90 dana vrednosti koeficijenta sličnosti za varijante sa i bez preparata postaju dosta visoke.

Pod uticajem herbicida dolazi do preraspodele kompleksa zemljišnih streptomiceta, koja se ispoljava u promeni spektra vrsta streptomiceta i odnosa dominantnih, retkih i slučajnih vrsta u njihovom kompleksu. Stepenn sličnosti u kompleksu zemljišnih streptomiceta u kontrolnim i oglednim varijantama je tim viši, što je niža doza unesenog preparata.

### ZAKLJUČAK

Karakterišući, u celini, savremeni nivo izučenosti problema uticaja pesticida na mikroorganizme i mikrobiološke procese, treba istaći da je daljnji, čisto ekstenzivan razvoj istraživanja u ovoj oblasti već iscrpljen. Oseća se potreba razrade, ne samo konkretnih, praktičnih, već i opšte-teorijskih zadataka.

U cilju ocene sporednog dejstva pesticida neophodno je primeniti biološku kinetiku. Moguće je da će neke navedene konstatacije biti ispravljene i revidirane u najbližoj budućnosti, ali je sigurno da naponi mikrobiologa moraju biti usmereni na izučavanje dinamike ponašanja mikroorganizama u prirodnoj sredini. U tim istraživanjima potpuno je nezamenljiv kinetički prilaz s organskom vezom eksperimenta i matematičkog modeliranja.

### LITERATURA

- Ananjeva, N.D., Strekozov, B.P., Tjurjukanova, G.K. (1986): Izmenenie mikrobnog biomassi v počvah pod dejstviem pesticidov. *Agrohimiya*, N.5, s.84-90.
- Bartha, R., Lanzilotta, R.P., Pramer, D. (1967): Stability and effects of some pesticides in soil. *Appl. Microbiol.*, N.15, 67 p.

- Beck, T. (1970):** Der microbiellen Abbau von Herbiziden und ihr Einfluss auf die Microflora des Bodens. Zentralb. Bacteriol. Parasitenkd. Infectionskr. Hyg. ABT, T.2, N.124, 304.p.
- Dobrovoljskij, G.V., Grišina, L.A. (1985):** Ohrana počv. M., 224 s.
- Domsch, K.H. (1972):** Einfluss von Pesticiden auf microbielle Prozesse und Okologische Beziehungen in Boden. Ber.5Tb Landwirtschaft. Bd. 50, s.392-403.
- Domsch, K.H. (1981):** Effects of pesticides and heavy metals on biological processes in Soil. Pl. and Soil, Vol. 76, p.367-378.
- Domsch, K.H. (1984):** Principles of pesticide-microbe interactions in soil. Soil Biol. and Conserv. Biosphere. Budapest, Vol. 1, p.179-184.
- Ejhlér, V. (1986):** Jadi v našej pišče. M., 214 s.
- Emanuel, N.M. (1981):** Himičeskaja i biologičeskaja kinetika. Uspehi himii, t.50, N.10, s.1721-1809.
- Gauze, G.F., Preobraženskaja, T.P., Svešnikova, T.P., Terehova, L.P., Maksimova, T.S. (1983):** Opređelitelj aktinomicetov. M., 244 s.
- Gorlenko, M.V., Lebedova, G.F., Černova, N.I. (1980):** Vozdejstvie simm-triazinov na mikromiceti v derno-vo-podzolistoj počve. Mikrologija i fitopatologija, T.14, N.4, s.287-293.
- Hajniš, E., Pauke, H., Nagelj, G.D., Hanzen, D. (1979):** Agrohimičati v okružajuščeji srede. M., 357 s.
- Helmečzi, B. (1977):** The effect of herbicides on soil bacteria belonging to certain physiological groups. Acta phutopatol. Acad. scient. hung., Vol. 12, N.1-12, p.41-49.
- Jagužinskij, L.S. (1979):** O roli bistrih himičeskikh reakcij v processe dobiologičeskoi evolucii organičeskikh molekul. Metodologičeskije i teoretičeskije problemi biofiziki. M., s.127-135.
- Jemnova, E.E., Kodrjan, V.A. (1984):** Mehanizm antimikrobnovo dejstvija pesticidov. Vzaimodejstvija pesticidov s mikroorganizmami. Kišinev, s.31-48.
- Kruglov, Ju.V. (1975):** Vlijanie pesticidov i produktov ih transformacii na soobščestva počvennih mikroorganizmov. Ekologija počvennih mikroorganizmov. Ekologija počvennih mikroorganizmov M., s.23-27.
- Kruglov, Ju. V., Gerš, N.B. (1976):** Izmenenie mikroflori počvi pri dlitelnoj sistematičeskoi obrabotke jeji gerbicidami. Voprosi ekologii i fiziologii mikroorganizmov, ispoljuemih v seljskom hozjajstve. L., s.61-67.
- Kuduzin, Ju.K., Fisunov, A.V., Černjavskaja, N.A., Makarova, A.Ja. (1973):** Izmenenie soderžania nitratov v tipičnom černozeme pod vlijaniem mineralnjih udobrenij i pesticidov. Dokl. VASHNIL. N.9, s.13.

- Latinova, R.M., Novickij, S.A., Maslova, L.G., Šapovaljskaja, L.A. (1968):** Vlijanje herbicidov na biološkičku aktivnost počvi. Voprosi biološkičke aktivnosti počvi. Gorki, T.57, s.61-70.
- Leisinger, T.I. (1983):** General aspects Microorganisms and xenobiotic compounds. Expe-riencia, Vol.39, N.11, p.1183-1191.
- Lewis, J.A., Papavizas, G.C., Hora, T.S. (1978):** Effect of some herbicides on microbial activity in soil. Soil Biol. and Biochem., Vol.10, N.2, p.137-141.
- Maličenko, S.M. (1971):** Vlijanje simm-triazinov na mikrofloru počv. Mikrobiol.žurnal, T.33, vip. 6, s.734-735.
- Manturovskaja, N.V. (1970):** Dejstvie simmetričnih triazinov na počvennie gribi v čistoj kulture. Botanika, N.3, s.31-36.
- Merenjuk, G.V. (1984):** Obščie tendencii primenenija i urovnja zagrzaznenija počvennovo pokrova pesticidami. Vzaimodejstvie pesticidov s mikroorganizmami. Kišinev, s.5-18.
- Mereško, M.Ja., Grešnik, B.A. (1971):** Vlijanje simazina i atrazina v smesi s udobrenijami na Azotobacter. Tr. Harkov. s-h in-ta, T.158, s.71-74.
- Micev, N., Bubalov, M. (1972):** Interaction between soil microflora and Herbicide agelone. Symposia Biologica Hungarica (Proceedings of the Symposium on Soil Microbi-ology), Vol. 11, p.379-384.
- Mišustin, E.N. (1964):** Vlijanije herbicidov na mikrobiološkičke process i počvah. Izv. AN SSSR. Ser.biol., N.2, s.197-210.
- Nebson, I.M., Hedrick, H.I. (1976):** Influence of an experimental herbicide on soil nitrogen-fixing bacteria and other microorganisms. Soil Sci., Vol.122, N.4, p.206-215.
- Negare, S.G. (1982):** Vlijanje njada pesticidov na cellulozorazrušajušćie mikroorganizmi počvi. Fiziol., biohim. i genetič. issl. rast. Voprosi biologii i ohranii prirodi. Kišinev, s.124-128.
- Odum, Ju. (1975):** Osnovi ekologii. M., 740 s.
- Pačepskij, Ja.A., Mironenko, E.V., Galiulin, R.V., Sokolov, M.S. (1982):** Statičeskie modeli dinamiki sodržanija pesticidov i ih metabolitov v počvah. Puščino, 44s.
- Papavizas, G.C., Lewis, J.A., Moity, T.H. (1982):** Evaluation of new biotypes of Trichoderma harzianum for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. Abd-E1. Phytopatology, Vol.72, N.1, p.126-132.
- Poulson, D.S. (1979):** Vlijanje obrabotki biocidami na počvenie organizmi. Počvennaja mi-krobiologija. M., s.237-275.
- Robinson, K. (1968):** The use of cell wall analysis and gel electrophoresis for the identification of coryneform bacteria. Identification methods for microbiologists. Soc. Appl. Bacter. Techn. Ser.2, Vol.13, p.85.

- Rusek, I., Gordienko, S.A. (1986):** Issledovannoe vlijanie gerbicidov na počvennie organizmi i processy, protekajuščie v podzolistih počvah Čehoslovakii. Ekol. koop, N.1, s.90-92.
- Sato, K. (1985):** Effect of a pesticide, pentachlorophenol (PCP) on soil microflora II. Effect of PCP on bacterial flora in soil percolated with glycine or water. J. Gen. and Appl. Microbiol., Vol.31, N.3, p.197-210.
- Schuster, E., Schroder, D. (1986):** The effects of Pesticide Treatment Systems on Soil Microbiological Activities. Trans. 13. Congr. Int. Soc. Soil Sci., Hamburg, 13-20 Aug., 1986, Vol.2, p.634-635.
- Simon, L., Bergerova, E. (1984):** Influence of selected herbicides on soil microflora and on the activity of certain enzymes. Acta fac rerum. natur. Univ. Comen. Microbiol., p.19-27.
- Soulas, G. (1982):** Mathematical model for microbiol. degradation of pesticides in the soil. Soil. Biol. and Biochem. Vol. 14, N.2, p.107-115.
- Spiridonov, Ju. Ja, Spiridonova, G.S. (1973):** Vlijanie dliteljnovo ispolzovanija simm-triazinov na biologičeskiju aktivnost počvi. Počvovedenie, N.5, 162 s.
- Voets, J.P., Meerschman, P., Kerstraete, W. (1974):** Soil microbiological and biochemical effects of long term atrasine application. Soil Biol. Biochem., N.6, 146 p.
- Vojevodin, A.V. (1981):** Udobrenija i gerbicidi v seljskom hozjajstve i ohrana prirodi. Ohrana prirodi i primenenie himičeskikh sredstv v seljskom i lesnom hozjajstve. L., s.72-77.
- Volkova, D.A., Krasilja, I.I., Iljinskaja, S.P., Tarasevič, L.I. (1984):** Izmenenie biologičeskoj aktivnosti počvi pod vlijaniem pesticidov. Vzaimodejstvie pesticidov s mikroorga-nizmami, Kišinev, s.79-91.
- Zelles, L. et al. (1985):** Side effects of some pesticides on non-target soil microorganisms. J. Environ. Sci. and Health. Bd. 20 N.5. 22 p.475-488.
- Zenova, G.M., Lebedeva, G.F., Lisak, L.V. (1983):** Dinamika mikrobnih populacij v počve pri povtornih vnesenijah simazina i prometrina. Tr.Vses. in-ta s-h mikrobiologii, T.52, s.14-17.
- Zenova, G.M., Lebedeva, G.F., Ključnikova, E.Ju., Zvjagincev, D.G. (1986):** Vlijanie simazina na populjacii počvennih streptomicev. Mikrobiologija, T.55, vip. 5, s.836-838.
- Zubec, T.P. (1973):** Mikrobiologičeskaja i bihimičeskaja aktivnost počvi kak pokazatelj naličija v nej gerbicidov i metabolitov. Počvovedenie (Prevraščenie pesticidov i ih metabolitov v počve). Puščino, s.82-87.
- Zvjagincev, D.G. (1987):** Počva i mikroorganizmi. M., 255 s.



**MICROORGANISMS AND MICROBIOLOGICAL PROCESSES AS INDICATORS OF SOIL POLLUTION WITH PESTICIDES***by**Dragutin Đukić, D.Sc., part-time prof. and Leka Mandić, M.Sc., ass.lect.***SUMMARY**

An uncontrolled application not only of pesticides but also of other chemical soil-improvement means may considerably affect the re-conditioned dynamic balance in biogeospheres. That particularly applies to pedosphere which has a distinguished cumulative capability. In pedosphere there may be followed the reaction of both, the test organisms (microorganisms, plants and animals) and biological processes on the pesticides presence.

Depending on the chemical nature and the applied concentration and dose, the pesticides may show stimulating, inhibitory or indifferent relation to microorganisms and microbiological processes in soil.

Characterizing on the whole the contemporary studying level of pesticides affecting microorganisms and microbiological processes, it should be noted that further, only extensive development of investigation in this field is already exhausted.

Not only concrete, practical, but also generally-theoretical tasks are to be elaborated.

In order to appraise the pesticides effect, biological kinetics should be used. It is possible that some of the remarks will be corrected and revised in the nearest future, but it is also certain that microbiologists must endeavour to study over the microorganisms dynamics in natural medium. Kinetic approach to organic link of the experiment and mathematical modulation is absolutely irreplaceable.