

# Pesticidi u zemljištu: delovanje na mikroorganizme

Ljiljana Radivojević, Ljiljana Šantrić i Radmila Stanković-Kalezić

Institut za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd

## REZIME

Od otkrivanja pa do danas, pesticidi su nezaobilazni segment poljoprivredne proizvodnje, a u njihovom razvoju teži se ka sintezi jedinjenja koja će imati potrebnu efikasnost i selektivnost, dovoljnu dužinu zadržavanja na objektu i povoljne toksikološke i ekotoksikološke karakteristike, kako bi imali što manji neželjeni uticaj na životnu sredinu u celini.

Kad se nakon primene nađe u zemljištu, pesticidno jedinjenje biva izloženo brojnim fizičkim, hemijskim i biološkim procesima razgradnje koji zavise ne samo od osobina jedinjenja, već i od čitavog niza drugih faktora, kao što su: fizičke, hemijske i biološke karakteristika zemljišta i klimatski faktori. U procesima razgradnje pesticida u zemljištu značajnu ulogu imaju mikroorganizmi, imajući u vidu da su sposobni da iz njihovih molekula koriste biogene elemente i energiju za svoje fiziološke procese. S druge strane, pesticidi koji su sami po sebi manje ili više toksične supstance, mogu štetno da deluju na populacije mikroorganizma i da dovedu do zaustavljanja njihovog razvoja, smanjenja brojnosti, osiromašenja taksonomskog sastava, stvaranja zajednica sa nižim stepenom raznovrsnosti i smanjenom fiziološkom aktivnošću.

U ovom radu razmatraju se uzajamni procesi i odnosi koji se uspostavljaju u zemljištu između pesticida i mikroorganizama neposredno, kao i u periodu posle primene. Kao pokazatelji ovih procesa dati su podaci o promeni brojnosti pojedinih sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama, mikrobiološke biomase i aktivnosti enzima koji su nastali pod uticajem pesticida.

**Ključne reči:** Pesticidi; mikroorganizmi; enzimi; mikrobiološka biomasa; zemljište

## UVOD

Pesticidi, ili sredstva za zaštitu bilja, je zajedničko ime za sva ona jedinjenja koja su proizvedena za primenu u poljoprivrednoj proizvodnji da bi se sprečili ili ograničili štetni efekti bioloških agenasa, kao što su insekti, gledari, prouzrokovaci biljnih bolesti, nepoželjne biljne vrste (korovi) i dr. Međutim, primenu pesticida često prati rizik od neželjenih posledica za životnu sredinu, jer sve veći broj podataka govori da se tragovi pesticida mo-

gu naći svuda gde živimo i radimo; u vazduhu koji dišemo, u vodi koju pijemo, u hrani koju jedemo. Oni mogu kontaminirati površinske i podzemne vode; mogu ispoljiti štetne efekte na gajenim biljkama, korisnim organizmima u zemljištu, korisnim artropodama, sitnim sisarima i pticama; mogu se naći kao ostaci u hrani i mogu prouzrokovati pojavu rezistentnosti bioloških agenasa (Nešković, 1988; Freemark i Boutin, 1995).

Pošto su pesticidi, sami po sebi, više ili manje toksične supstance, postoji prirodan interes za njihovo prisu-

stvo u životnoj sredini i delovanje na zdravlje ljudi i kvalitet životne sredine. U periodu 1962-1975. godine u svetu su se vodile velike debate o pesticidima, njihovim mogičim štetnim efektima, ostacima u hrani, koje su bile preteča kasnijeg povećanog interesa za životnu sredinu. Od tog vremena do danas uspostavljeni su novi kriterijumi i normativi u cilju svođenja na minimum količine ostataka u hrani i vodi za piće i stvaranja uslova da pesticidi budu što bezbedniji za ljude, i da se zagađenje životne sredine (zemlja, voda, vazduh) svede na najmanju moguću meru. Zbog toga današnje sinteze pesticida idu za tim da daju jedinjenja koja će imati vrlo specifičan način delovanja i izraženu selektivnost, dovoljnu dužinu zadržavanja na objektu i povoljne ekotoksikološke karakteristike (Hodgson i sar., 1998; Stetter, 1992).

Kad se nakon primene nađe u zemljištu, pesticidno jedinjenje biva izloženo brojnim fizičkim, hemijskim i biološkim procesima razgradnje koji zavise od samog jedinjenja, fizičkih, hemijskih i bioloških karakteristika zemljišta i klimatskih faktora. Kao rezultat imamo njegovo duže ili kraće zadržavanje u zemljištu, pa se u vezi s tim, postavlja pitanje da li neki pesticid predstavlja rizik za životnu sredinu (Nešković 1988; Koskinen i Harper, 1990). Jedan deo odgovora na ovo pitanje može se dobiti ispitivanjem stanja mikrobiološke populacije, kao jednog od relevantnih pokazatelja biološke aktivnosti zemljišta. Mnogi autori smatraju da je veoma važno obezbediti da pesticidi ne remete aktivnosti zemljišnih mikroorganizama, jer je uspešna poljoprivredna proizvodnja veoma zavisna od kruženja hranljivih elemenata u kojima mikroorganizmi aktivno učestvuju.

Mikroorganizmi različito reaguju na prisustvo pesticida u zemljištu. Pojedine grupe su sposobne da razlažu njihove molekule i da ih koriste kao izvore biogenih elemenata i energije za odvijanje svojih procesa. Na ovaj način veličina i aktivnost mikrobiološke populacije direktno je povezana sa reakcijama biotransformacije, brzinom razgradnje i drugim promenama kojima pesticidi podležu u zemljištu (Perucci i sar., 1999). S druge strane, pesticidi mogu da deluju toksično na mikroorganizme u zemljištu. Kad su u pitanju toksična delovanja, može doći do smanjenja brojnosti i zaustavljanja razvoja, osiromašenja taksonomskog sastava, stvaranja zajednica sa nižim stepenom raznovrsnosti i smanjenom fiziološkom aktivnošću (Kodoma i sar., 2001; Fliebach i Mader, 2004). Izgleda da i kod mikroorganizama postoji selektivno reagovanje na prisustvo pesticida, kao i kod biljaka, pa neki mikroorganizmi smanjuju aktivnost, drugi ne reaguju na njihovo prisustvo, a treći povećavaju aktivnost. Ipak, utvrđeno je da veoma mali broj

pesticida izaziva dugoročne promene u mikrobiološkoj populaciji (Perruci i sar., 1999, 2001; Tixier i sar., 2002; Ahtainen i sar., 2003).

Za razliku od vremena kada se sinteza i primena pesticida naglo razvijala (šezdesete godine prošlog veka) danas se, zbog mogućih štetnih efekata u životnoj sredini, svako jedinjenje (pre uvođenja u proizvodnju i primenu) podvrgava veoma rigoroznoj registracionoj proceduri da bi se potvrdilo da je rizik za zdravlje ljudi i životnu sredinu sведен na najmanju moguću meru (Carbonelli i sar., 2000; OECD, 2000).

## ZNAČAJ I ULOGA MIKROORGANIZAMA U ZEMLJIŠTU

Zemljište, kao deo životne sredine, predstavlja vrlo složen, dinamičan i kompleksan višefazni sistem. Treba ga posmatrati kao međupovršine gde se mešaju i međusobno reaguju litosfera, akvasfera, atmosfera i biosfera. Inače, sistem sačinjavaju čvrsta, tečna i gasovita faza. Čvrsta faza (koja čini oko 50%) sastoji se od organskog i neorganskog dela. Organski deo sadrži aglomerate organskih čestica, biljne i životinjske ostatke i zemljisne mikroorganizme.

Mikroorganizmi zemljišta su heterogena grupa koju čine aerobi i anerobi, heterotrofi, autotrofi, saprofiti, simbionti i paraziti, i značajna su karika u sistemu zemljištebiljka. Oni imaju važnu ulogu u stvaranju i održavanju plodnosti; utiču na rast i razviće biljaka; razgrađuju pesticide i druge zagađivače i indikatori su promena fizičko-hemijskih osobina zemljišta koji nastaju pod uticajem različitih faktora iz spoljašnje sredine (Pascual i sar., 2000; Milošević i sar., 2001; Thompson i sar., 2001). Procenjuje se da na dubini orničnog sloja mikrobiološka biomasa iznosi nekoliko tona po hektaru.

Bakterije su najbrojnija grupa u zemljištu i zato se njihov broj koristi kao ukupan broj mikroorganizama (Jarak i Govedarica, 2003). Brojnost im se, u зависnosti od uslova sredine, kreće od nekoliko miliona do nekoliko milijardi po gramu apsolutno suvog zemljišta. To je najraznovrsnija sistematska grupa mikroorganizama, koju čine uglavnom heterotorofi, mada ima i autotrofa. Izuzetno su značajne za pedogeniku, stvaranje i održavanje plodnosti zemljišta. Brojna istraživanja su pokazala da se ukupan broj mikroorganizma, odnosno broj bakterija, može koristiti kao pokazatelj opšte biološke aktivnosti jednog zemljišta (Milošević i sar., 2001; Imberger i Chiu, 2002; Radivojević i sar., 2003).

Gljive su eukariotski organizmi koji žive u svim tipovima zemljišta. Do sada je otkriveno oko 80000 vrsta. To su heterotrofni organizmi, uglavnom saprofiti, a ima i patogenih vrsta. One učestvuju u brojnim biohemijskim procesima, a posebno je značajna njihova uloga u razgradnji složenih organskih molekula, kakvi su i pesticidi (Milošević i sar., 2001; Imberger i Chiu, 2002).

Aktinomicete su specifična grupa bakterija koje po sistematici pripadaju različitim granama i redovima. Brojnost im se kreće 1-10 miliona po gramu apsolutno suvog zemljišta. To su heterotrofni organizmi, uglavnom saprofiti, a broj patogenih vrsta je mali. Imaju značajnu ulogu u procesima humifikacije i mineralizacije organskih materija. Sposobne su da razlažu pektin, lignin, pesticide i druge ksenobiotike. Takođe, aktinomicete mogu da razlažu i najotpornije komponente humusa i tako stvaraju asimilative za biljke (Jarak i Govedarica, 2003).

Celulolitski mikroorganizmi su heterogena grupa mikroorganizama koju čine aerobne i anaerobne bakterije, termofilne bakterije, filamentozne gljive, bazidiomikete, aktinomicete i neke protozoe. Ova gupa mikroorganizama stvara enzime endo- $\beta$ -1,4-glukonazu, egzo- $\beta$ -1,4-glukonazu i  $\beta$ -glukozidazu koji katališu razgradnju celuloze (Govedarica i Jarak, 1995; Milošević i sar., 2001).

Aminoheterotrofi, koje čine aerobne, anaerobne, sporeogene i asporogene bakterije i gljive, učestvuju u procesima amonifikacije, odnosno razgradnje i transformacije proteina u mineralne i/ili nove organske forme. Mineralizacijom proteina izdvaja se azot koji dalje učestvuje u stvaranju biljnih hraniva (Govedarica i Jarak, 1995; Jarak i Govedarica, 2003).

Slobodnu aerobnu azotofiksaciju obavljaju uglavnom bakterije, a najaktivnije su one iz roda *Azotobacter*. Rod *Azotobacter* ima sposobnost da redukuje elementarni azot iz atmosfere prvo do amonijaka koga biljke najlakše usvajaju, a zatim ga prevode do organskog oblika. Bakterije iz roda *Azotobacter* žive kao slobodne forme u zemljištu, u rizosferi ili na površini korena biljaka i ne izazivaju morfološke promene na korenju. Brojnost ovog roda se kreće od nekoliko hiljada do nekoliko stotina hiljada po gramu zemljišta. Najveću aktivnost imaju u neutralnim zemljištima, pri vlažnosti 60-80% punog vodenog kapaciteta i temperaturi 15-25°C (Govedarica i Jarak, 1995; Milošević i sar., 2001).

U procesu kruženja fosfora u zemljištu mikroorganizmi učestvuju u razlaganju neorganskih i organskih jedinjenja fosfora, immobilizaciji neorganskih anjona i nji-

hovoj ugradnji u čelijske komponente. U svim ovim procesima ključnu ulogu imaju fosfomineralizatori i fosfomobilizatori (Đorđević, 1999).

## Enzimi

Enzimi su katalizatori biohemijskih procesa; učestvuju u svim procesima kruženja materije i energije, stvaranja i održavanja plodnosti zemljišta. U zemljištu je prisutno oko pedeset vrsta enzima iz grupe oksidoreduktaza, hidrolaza, transferaza i lipaza (Tabatabai, 1982). Najveći izvori enzima su mikroorganizmi (bakterije, gljive, protozoe i alge) i u zemljištu se nalaze kao eks-tracelularni (slobodni ili vezani za minerale gline i humusne koloide) i intracelularni (u živim i izumrlim ćelijama mikroorganizama). Enzimi se u zemljištu nalaze udruženi sa različitim biotičkim i abiotičkim komponentama. Mogu biti udruženi sa ćelijama mikroorganizama, korenom biljaka, izumrlim ćelijama i ostacima izumrlih ćelija. Koncentracija enzima u zemljištu zavisi od biomase i metabolitičke aktivnosti zemljišnih organizama (Haziev i Gulko, 1991). Aktivnost slobodnih enzima u zemljišnom rastvoru je neznatna jer se veoma brzo inaktiviraju usled denaturacije, hidrolize ili vezivanja za zemljišne konstituente ili koloide (Rojo i sar., 1990). Immobilizacijom u zemljištu enzimi stvaraju stabilne komplekse sa ili na mineralima gline, polisaharidima i humusnim materijama i tako zadržavaju svoju aktivnost i stiču otpornost prema proteolizi i drugim nepovoljnim faktorima (Tabatabai, 1982; Acosta-Martinez i Tabatabai, 2000; Marx i sar., 2001). Aktivnost enzima oslikava intenzitet procesa koji se odvijaju u zemljištu i zato se koriste kao pokazatelji opšte biogenosti i plodnosti zemljišta (Carbonelli i sar., 2000; Benitez i sar., 2004; Šantrić i Radivojević, 2004).

Razgradnju organske materije u zemljištu, koja je u osnovi oksido-reduktioni proces katališu enzimi dehidrogenaze i u zemljištu su najčešće mikrobiološkog porekla. Njihova aktivnost u zemljištu zavisi od ukupne fiziološke aktivnosti mikroorganizama, pri čemu veća aktivnost ukazuje na veći intenzitet mineralizacije organske materije u zemljištu (Tabatabai, 1982; Benitez i sar., 2004).

Ureaza (urea amidohidrolaze, EC 3.5.1.5) je enzim koji katališe reakciju razgradnje uree do amonijum-karbonata. Sam proces se odvija u dve faze. U prvoj fazi se vrši hidroliza do amonijum-karbonata, a u drugoj se amonijum-karbonat razlaže do amonijaka, ugljen-dioksida i vode. Ureaza je uglavnom ekstracelularni enzim. Sin-

tetiše ga oko 200 vrsta bakterija i manji broj gljiva i aktinomiceta (Nor, 1982).

Fosfataze katališu hidrolizu estara i anhidrida fosforne kiseline. Podeljene su u pet grupa, a najviše su proučavane fosfomonoesteraze. Fosfomonoesteraze su, na osnovu optimalne aktivnosti u alkalnoj ili kiseloj sredini, podeljene na alkalne (ortofosforna monoestari fosfohidrolaza, EC 3.1.3.2) i kisele fosfataze (ortofosforna monoestari fosfohidrolaza, EC 3.1.3.1). One su, zajedno sa ureazama, najviše proučavani enzimi. Imaju značajnu ulogu u procesima kruženja fosfora, a supstrati su im specifične humusne materije, nukleinske kiseline, fosfolipidi i fosfoproteini koji u zemljištu dospevaju iz biljnih ostataka i mikrobiološke biomase (Malcolm, 1983; Haziev i Gulko, 1991).

Glukozidaze ili glukozid hidrolaze (EC 3.2.1) su enzimi koji katališu reakcije razgradnje glikozida. Prema tipu hemijskih veza koje raskidaju, sve glukozidaze su podeljene u 39 grupa.  $\beta$ -glukozidaze (EC 3.2.1.21) su otkrivene 1967. godine (Skujins, 1967; cit. Tabatabai, 1982) i veoma su rasprostranjene u prirodi. One su katalizatori hidrolize  $\beta$ -D-glukopiranozida, maltoze i celobioze kojom se oslobođa energija za fiziološke procese mikroorganizama (Knight i Dick, 2004).

## Mikrobiološka biomasa

Mikrobiološka biomasa je živa komponenta organske materije u zemljištu. To je mali, veoma labilan rezervuar biljnih asimilativa koji će prvi biti razložen i postati dostupan biljkama. Mikrobiološki ugljenik čini 1-3% ukupnog ugljenika, mikrobiološki azot 1-5% ukupnog azota, a mikrobiološki fosfor 0,5-11% ukupnog fosfora u zemljištu (Saring i Steibrger, 1995; Beck i sar., 1997; Moore i sar., 2000). Smatra se da je mikrobiološka biomasa značajna i zato što je pokrećač procesa sinteze i razgradnje, uključujući i procese ragradnje pesticida (Dalal, 1998; Jenkinson i sar., 2004).

Poslednjih desetak godina istraživači se sve više bave proučavanjem mikrobiološke biomase. Imajući u vidu da se kroz biosmu oslikava kompletno stanje mikrobiološke zajednice, ovaj parametar se koristi za rano utvrđivanje promena koje nastaju u nekom ekološkom sistemu (Dalal, 1998; Hargreaves i sar., 2003; Ladd i sar., 2004). Rezultati brojnih istraživanja su pokazali da se u mikrobiološkoj biomasi dešavaju ozbiljne promene pod uticajem antropogenog faktora, tj. različitih sistema obrade zemljišta (Wardle i sar., 1999), dubrenja (Emmerling i sar., 2001), plodoreda (Moore i sar., 2000), pesti-

cida (Hart i Brookes, 1996; Radivojević i sar., 2000), teških metala (Renella i sar., 2005).

Disanje zemljišta je pokazatelj aktivnosti mikroorganizama, u kome dolazi do usvajanja O<sub>2</sub> i oslobođanja CO<sub>2</sub>. Disanje zemljišta ilustruje intenzitet aerobnog i anaerobnog metabolizma mikroorganizmima i ono se, zajedno sa mikrobiološkom biomasom, koristi za rano utvrđivanje poremećaja u ekosistemu (Anderson i Domsch, 1990, 1993; Jones i Ananyeva, 2001; Radivojević i sar., 2003).

Mikrobiološki metabolitički koeficijent (qCO<sub>2</sub>) predstavlja odnos između disanja zemljišta i mikrobiološke biomase ugljenika (Anderson i Domsch, 1990, 1993). U poslednjih desetak godina qCO<sub>2</sub> se sve više koristi kao indikator stanja ekosistema. Baziran je na Odumovojoj teoriji sukcesija u ekosistemima (Odum, 1969; cit. Wardle i Ghani, 1995) koje mogu da se prate preko promena u mikrobiološkoj biomasi i disanju zemljišta. Povećanje vrednosti koeficijenta ukazuje na delovanje nekog od nepovoljnih faktora iz spoljašnje sredine (suša, obrada zemljišta, teški metali, pesticidi, i dr.) na mikrobiološku zajednicu (Jones i Ananyeva, 2001). Ukupna mikroflora, aktivnost dehidrogenaza, mikrobiološka biomasa, disanje zemljišta i qCO<sub>2</sub> vrlo često se ispituju zajedno jer najbolje mogu da ukažu na intenzitet oksidoreduktacionih procesa, a istovremeno ukazuju na nepovoljno delovanje nekog od faktora iz spoljašnje sredine (Radivojević, 2006).

U zemljištu se mikroorganizmi međusobno nalaze u određenom uravnoteženom odnosu. Razni antropogeni uticaji (obrada, dubrenje, pesticidi, teški metali, i dr.) mogu da izazovu poremećaje u mikrobiološkoj zajednici. Promene koje nastanu, imajući u vidu ključnu ulogu mikroorganizama, mogu dalje da se odraže na procese kruženja materije i energije, stvaranja i održavanja plodnosti zemljišta (Doran i Zeiss, 2000).

## PESTICIDI I MIKROORGANIZMI

Nakon primene pesticidi dospevaju u zemljište gde dolazi do kontakta pesticida i mikroorganizama i do uspostavljanja različitih odnosa između njih. S jedne strane, neke populacije mikroorganizama su sposobne da razgrađuju pesticide i koriste ih kao izvore biogenih elemenata i energije za odvijanje svojih fizioloških procesa (Janjić i sar., 1996; Regno i sar., 1998; Singh i sar., 2001). S druge strane, pesticidi mogu da deluju na mikroorganizme, menjajući njihov biodiverzitet, brojnost, aktivnost i ritam razmnožavanja (Johansen i sar., 2001;

Rhine i sar., 2003). To delovanje može biti direktno i indirektno (Cearvelli i sar., 1978; Van Leeuwen i sar., 1985). Pesticidi najčešće deluju direktno i izazivaju smrt ćelije, koja nastaje remećenjem raznih procesa, kao smanjene propustljivosti citoplazmatične membrane, narušavanja procesa katabolizma, prenosa elektrona i oksidativne fosforilacije, i promena u procesu disanja i sintezi organskih jedinjenja. Neki mikroorganizmi, opet, mogu da usvajaju pesticide, pri čemu mogu da stvaraju nova toksična jedinjenja, tako da dolazi do „samoubistva“ ćelije. Prema istraživanjima Miškovića i saradnika (1983) velike koncentracije lenacila zaustavljaju rast *Azotobacter chlorococcum*, a pri nižim dolazi do promena oblika ćelija, smanjene sposobnosti sinteze pigmenata i povećanja brzine formiranja cista.

Indirektnim delovanjem pesticida menjaju se neke od životnih funkcija mikroorganizama, kao na primer: biosinteza proteina (odražava se na rast i razmnožavanje), struktura i propustljivost ćelijskih membrana (odražava se na odnos van/unutarćelijskih enzima), transport indolsirčetne kiseline, sinteza giberelina i nivo etilena. I na kraju, kao posledica ovih promena nastaju poremećaji u građi i biodiverzitetu mikrobiološke zajednice. Johansen i saradnici (2001) smatraju da pesticidi toksičnije deluju na mikroorganizme u nepovoljnijim uslovima spoljašnje sredine, odnosno kada su vlažnost i temperatura udaljeni od ekološkog optimuma.

Da li će se i u kom stepenu ispoljiti delovanje pesticida na mikrobiološku populaciju zavisi od velikog broja činilaca međusobno veoma zavisnih. Prvo, osobina samog pesticida (fizičko-hemijske karakteristike, postojanost i pokretljivost u zemljištu, količina i učestalost primene), a zatim i od osobina zemljišta (sadražaj minerala gline i organskih materija, mehanički sastav, pH, vlažnost, temperatura), kao i delovanja čoveka (Stenersen, 2004; Abdelhafid i sar., 2000).

Proučavanja delovanja pesticida na mikrobiološku zajednicu i njenu aktivnost imaju višestruki značaj. Prvo, iz ovih istraživanja dobijaju se egzaktni podaci o delovanju pesticida na ovu vrstu korisnih organizama, koji se dalje koriste za procenu rizika od zagadenja životne sredine. Drugo, istraživanja omogućavaju da se sagledaju stvarne promene u mikrobiološkoj populaciji koje nastaju pod uticajem jednokratne ili višegodišnje primene pesticida u poljoprivrednoj prozvodnji. I treće, na osnovu utvrđenih promena daju se preporuke za prevazilaženje nastalih problema (Carbonelli i sar., 2000; Struthers i sar., 1998).

U ranijim istraživanjima su se, uglavnom, pratile promene brojnosti pojedinih sistematskih i fizioloških gru-

pa, dok se poslednjih godina sve više prate promene aktivnosti enzima, mikrobiološke biomase, disanja zemljišta i mikrobiološkog metabolitičkog koeficijenta ( $qCO_2$ ) da bi se dobila što egzaktnija slika odnosa pesticida i mikrobiološke populacije (OEPP/EPPO, 1995; Skipper i sar., 1996; Radivojević i sar., 1999; Johansen i sar., 2001). Promene mikrobiološke biomase i aktivnosti enzima po mišljenju većeg broja istraživača (Allievi i Gigliotti, 2001; Monkiedje i sar., 2002; Ahtiainen i sar., 2003) mogu da ukažu na štetno delovanje pesticida na ukupnu mikrobiološku zajednicu, ali ne mogu da ilustruju promene u strukturi same zajednice, pa se nameće potreba da se uporedi sa ovim prati i brojnost sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama.

Pošto su utvrdili da u prisutvu pesticida dolazi do smanjenja broja osetljivih, a povećanja broja otpornih vrsta, Johansen i saradnici (2001) smatraju da posebnu pažnju treba posvetiti biodiverzitetu populacija. Promene u strukturi mikrobiološke populacije nastaju zbog prilagođavanja bioloških sistema delovanju činilaca iz spoljašnje sredine, a na osnovu biodiverziteta mogu se pratiti promene u biološkom sistemu koje je taj činilac izazvao.

Efekti pesticida na mikroorganizme u zemljištu mogu se pratiti u laboratorijskim i poljskim ogledima.

Laboratorijski ogledi se izvode u kontrolisanim uslovima. Imajući u vidu veliki broj činilaca iz spoljašnje sredine koji utiču na međusobni odnos pesticida i mikroorganizama, u kontrolisanim uslovima se sagledava samo efekat pesticida na mikrobiološku zajednicu. Radna grupa OECD-a za procenu rizika hemikalija na mikroorganizme zemljišta dala je preporuku da se ispitivanja u laboratoriji izvode na zemljištima sa niskim sadržajem organske materije (0.5-1.5% humusa) i visokim sadržajem peska (oko 70%), jer takvo zemljište omogućava minimalnu adsoprciju i maksimalnu koncentraciju pesticida u zemljišnom rastvoru (Park i sar., 2003). U laboratorijskim ogledima se koriste koncentracije koje su, često, od 10 do 100, a nekada i 1000 puta veće od onih koje se koriste u praksi. Ove količine su dragocene za procenu rizika od zagadenja životne sredine usled višegodišnje primene, ili nekih akcedentnih situacija sa pesticidima (Skipper i sar., 1996; Perrucci i Scarpone, 1996; Janjić i sar., 1996).

Ogledi u polju mogu da daju realniju sliku onoga što se zapravo dešava u zemljištu posle primene pesticida, ali kod ovakve vrste ispitivanja istraživači se sreću sa mnogim problemima. Jedan od njih je tumačenje rezultata i definisanja koje od nastalih promena se zaista mogu pripisati delovanju pesticida, a koje su nastale pod

uticajem ekoloških činilaca koji variraju tokom godine (Hart i Brooks, 1996; Beulke i Malkomes, 2001; Ahtainen i sar., 2003). Drugi problem je što se u polju pesticidi primenjuju kontinuirano, tako da se u trenutku ispitivanja u zemljištu mogu naći, pored jedinjenja koja se ispituju, i ostaci ranije primenjenih jedinjenja. Upravo ovo može navesti na pogrešne zaključke o nepovoljnijem delovanju nego što to zapravo jeste (Greaves, 1979; Grossbard i Marsh, 1994).

### **Delovanje insekticida i fungicida na mikrobiološku populaciju i njenu aktivnost u zemljištu**

O međusobnim odnosima insekticida, fungicida i mikroorganizama u zemljištu ima malo podataka u literaturi.

U jednom od istraživanja sprovedenom u Novom Južnom Velsu (Australija), na zemljištu zagađenom DDT-jem i njegovim degradacionim prizvodima, utvrđeno je značajno smanjenje broja gljiva, bakterija, aktinomiceta, mikrobiološke biomase, disanja zemljišta i aktivnosti enzima (Edvantoro i sar., 2003). U eksperimentima sa hlorpirifosom rezultati su pokazali da ovaj insekticid značajno smanjuje mikrobiološku biomasu, aktivnost dehidrogenaze i ukupne fosfataze u zemljištu (Singh i sar., 2001). Do sličnih rezultata došli su i Das i Mukherjee (1998) i Traube i saradnici (2001), koji su, ispitujući delovanje forata i fenvalerata, utvrdili da izazivaju povećanje broja gljiva, aktinomiceta, fosfomineralizatora i fosfomobilizatora.

Ispitivanjima uticaja pesticida na mikroorganizme bavili su se i istraživači u našoj zemlji. Tako su Milošević i saradnici (2001) registrovali izrazito jak inhibitorni efekat insekticida i herbicida na ukupan broj mikroorganizama, aminoheterotrofe, gljive, *Azotobacter* sp. i oligonitrofile. Na osnovu toga dali su preporuku da se obrati pažnja prilikom izbora preparata za zaštitu šećerne repe od štetočina i korova. Dinamiku brojnosti mikroorganizama pod uticajem insekticida (fentin-acetat, hloridazon i karbofurani) pratili su i Đorđević i saradnici (1999). Oni su utvrdili da se pod uticajem ovih insekticida značajno povećava brojnost ukupnih mikroorganizama, aktinomiceta i *Bacillus* sp. Njihovi rezultati su, takođe, pokazali da mikroorganizmi iz ovih grupa mogu da razgrađuju insekticide i da ih koriste kao izvore ugljenika i azota za svoje fiziološke procese.

Piretrini, izolovani iz biljke *Chrysanthemum cinerariaefolium*, zbog svoje kratke postojanosti ne utiču zna-

čajno na aktivnost ureaza i invertaza u zemljištu (Antonious, 2003).

Kada su u pitanju fungicidi, poznato je da oni zaustavljaju rast fitopatogenih gljiva, pa se može očekivati da ispoljavaju toksično delovanje i na mikroorganizme koji žive u zemljištu.

O njihovom delovanju na populaciju mikroorganizama i njenu aktivnost u zemljištu postoje veoma različiti podaci.

Tako, za fenpropimorf, fungicid koji se veoma intenzivno koristi u Nemačkoj (inhibira dva enzima značajna za sintezu ergosterola), rezultati pokazuju da ne deluje toksično na saprofitne gljive, protozoe i bakterije, verovatno zbog toga što se u zemljištu vrlo brzo transformiše do fenpropimorfne kiseline koja se slabo adsorbuje i lako ispira u duble slojeve zemljišta, gde je broj mikroorganizama manji (Bjornlund i sar., 2000).

Međutim, kaptan u koncentracijama od 60 do 400 mg/kg ispoljava prolaznu toksičnost za gljive, aktinomice i mikrobiološku biomasu, a brojnost ovih grupa mikroorganizama se vraća na nivo kontrole već posle 35 dana. U istom ogledu broj bakterija se nije značajno menjao (Banerjee i Banerjee, 1987).

Macalady i saradnici (1998) su utvrdili da je metam vrlo štetan za mikroorganizme, pa ni 18 nedelja posle primene preporučenih količina, ne dolazi do obnavljanja mikrobiološke populacije.

Monkiedje i saradnici (2002) i Klose i Ajwa (2004) su ispitivali uticaj metalaksila i mefeksona na aktivnost dehidrogenaze, alkalne fosfataze i  $\beta$ -glukozidaze, a rezultati njihovih istraživanja su pokazali da su dehidrogenaze osjetljivije na delovanje fungicida nego alkalna fosfataza i  $\beta$ -glukozidaza. Aktivnost dehidrogenaza je bila smanjena za svo vreme trajanja ogleda (90 dana), dok je aktivnost alkalne fosfataze i  $\beta$ -glukozidaze bila inhibirana samo u toku prvih 14 dana. Do sličnih rezultata došli su i Jones i Anayeva (2001) u svojim istraživanjima sa metalaksilom.

Delovanje karbendazima i tiabendazola na enzime amilazu, invertazu i celulazu ispitivao je Kannaiyan (1988). On je utvrdio da karbendazim i tiabendazol potpuno inhibiraju aktivnost celulaze, a smanjuju aktivnost amilaze i invertaze.

Višegodišnja primena benomila dovodi do poremećaja u kruženju azota i ugljenika u zemljištu. Utvrđeno je da se pod uticajem ovog fungicida smanjuje broj mikoriznih gljiva (80%) i bakterija (20%) koje su ključne za procese mineralizacije ugljenika i azota (Smith i sar., 2000).

## Delovanje herbicida na mikrobiološku populaciju i njenu aktivnost u zemljištu

Rezultati mnogih istraživanja su pokazali da u zavisnosti od osobina jedinjenja, količine i učestalosti primene, kao i uslova spoljne sredine, herbicidi mogu da smanjuju ili povećavaju broj i aktivnost mikroorganizama u zemljištu.

Delovanje triazina na mikroorganizme je dosta proučavano. Imajući u vidu da oni inhibiraju proces fotosinteze moglo bi se očekivati da ispoljavaju nisku toksičnost na organizme koji ne vrše fotosintezu. Međutim, rezultati velikog broja istraživanja su pokazali, upravo, suprotno.

Kare i saradnici (2004) su utvrdili da u zemljištu čija je vrednost pH 7.2, prve tri nedelje posle primene terbutrina i terbutilazina dolazi do značajnog povećanja disanja i nitrifikacione aktivnosti. Povećana aktivnost je nastala zbog toga što mikroorganizmi koriste herbicide kao izvore lako dostupnog ugljenika i azota. Karacakil i Baglar (1998) su registrovali smanjenu mikrobiološku aktivnosti u kiselim zemljištima ( $\text{pH}=5.5$  i  $\text{pH}=4.5$ ) na kojima su primjenjeni terbutrin i terbutilazin. Oni smatraju da je do smanjenja aktivnosti došlo zbog povećane rastvorljivosti terbutrina i terbutilazina u kiseloj sredini, tako da je i koncentracija herbicida u zemljišnom rastvoru bila veća.

Nagaraja i saradnici (1998) su pratili delovanje atrazina na aktivnost ureaze, fosfataze i dehidrogenaze na neutralnom, kiselom i alkalnom zemljištu i utvrdili da atrazin inhibitorno deluju na enzime, pri čemu je najslabije delovanje na neutralnom, a najjače na alkalnom zemljištu. Tamburić i Lević (1995), zatim Govedarica i saradnici (1997) su utvrdili da se inhibitorni efekat atrazina na mikroorganizme pojačava povećanjem koncentracije u usevu kukuruza, i da je najjači na početku vegetacije. Najveću osetljivost prema atrazinu ispoljavaju bakterije iz roda *Azotobacter* sp. i oligonitrofilni, a najotpornije su gljive i aktinomicete. Entry i saradnici (1995) su u mladim i starijim šumama pratili odnos brzine degradacije atrazina i mikrobiološke biomase i zapazili da je brzina razgradnje atrazina u direktnoj korelaciji sa mikrobiološkom biomassom. Zatim, atrazin se brže razgrađivao u starijim šumama gde je veća mikrobiološka biomasa. Značajan inhibitorni efekat simazina na mikrobiološku biomasu ugljenika i azota u svojim eksperimentima utvrdili su Harden i saradnici (1993) i Kodoma i saradnici (2001).

Janjić i saradnici (1993a) i Radivojević (1997), su pratili delovanje metribuzina na mikroorganizme u zemljištu u zavisnosti od temperature. Na višim temperatu-

rama ( $30^{\circ}\text{C}$ ) metribuzin ispoljava toksičnije delovanje nego na nižim ( $10$  i  $20^{\circ}\text{C}$ ). Na  $30^{\circ}\text{C}$  metribuzin je inhibitorno delovao na ukupnu mikrofloru, aktinomicete, amonifikatore, *Azotobacter* sp., *Clostridium* sp. i disanje, a na  $10$  i  $20^{\circ}\text{C}$  samo na *Azotobacter* sp. i *Clostridium* sp. (Janjić i sar., 1993a; Radivojević, 1997).

Poslednjih dvadesetak godina razvijena je nova grupa herbicida, sulfoniluree, koje se, u zavisnosti od useva, primenjuju u veoma malim količinama,  $25$ - $150$  g/ha. Sulfoniluree inhibiraju enzim acetolaktat sintazu, ključni enzim u sintezi aminokiselina valina, leucina i izoleucina (Brown, 1990; Haweks, 1993). Zbog ovakvog mehanizma delovanja one su malo toksične za organizme koji ne sintetišu ove aminokiseline (sisari). Imajući u vidu da gljive i bakterije vrše sintezu ovih aminokiselina može se očekivati štetno delovanje sulfoniluree na mikrobiološke i biohemiske proceze u zemljištu (Forlani i sar., 1995; Radivojević i sar., 2004).

Ovu pretpostavku su potvrdili Burnet i Hodgson (1990), a zatim Junnila i saradnici (1999) istraživanjima u kojima su pratili delovanje hlorsulfurona i sulfometuron-metila na ukupan broj mikroorganizama, brojnost gljiva, nitrifikatora i celulolitskih mikroorganizama. Ismail i saradnici (1998) su registrovali smanjenu aktivnost ureaza i amilaza u ogledu sa metsulfuron-metilom, dok je smanjena aktivnost proteaze bila prolaznog karaktera, i obnovila se posle 14 dana.

Rimsulfuron u poljskim uslovima, u količinama koje se preporučuju za primenu i 10 puta većim, ne izaziva značajnije promene mikrobiološke biomase ugljenika i aktivnosti proteaze. U laboratorijskim ogledima rimsulfuron, u  $10$  i  $100$  puta većim količinama od preporučenih, značajno smanjuje mikrobiološku biomasu ugljenika, a povećava aktivnost proteaze i  $\beta$ -glukozidaze. Do povećanja aktivnosti enzima, prema mišljenju nekih istraživača, dolazi, verovatno, zbog oslobođanja enzima iz uginulih ćelija mikroorganizama (Perruci i Scarpone, 1996; Perruci i sar., 1999; Martins i sar., 2001).

Allievi i Gigliotti (2001) su, u laboratorijskim uslovima, pratili delovanje cinosulfurona na aerobne bakterije, nitrifikatore, disanje i nitrifikaciju, i utvrdili da je jednu nedelju posle primene samo nitrifikaciona aktivnost bila statistički značajno smanjena u poređenju sa kontrolom.

Dorđević i saradnici (1994) su konstatovali da se inhibitorno delovanje primsulfuron-metila na disanje, ukupnu mikrofloru, amonifikatore, aminoautotrofe i aktinomicete ispoljava tokom 45 dana posle primene. Posle ovog perioda broj i aktivnost mikroorganizama se vraća na nivo kontrole.

Perucci i Scarponi (1994), ispitujući delovanje imazetapira, utvrdili su da ne izaziva značajnije promene mikrobiološke biomase u količinama koje se preporučuju za primenu. Statistički značajne promene registrovane su tek kod količina koje su deset i sto puta veće od preporučenih. Međutim, promene mikrobiološke biomase su prolaznog karaktera i nestaju 45 dana posle primene. Do sličnih rezultata došli su i Seifert i saradnici (2001) koji su, u trogodišnjim ispitivanjima, pratili delovanje imazakvina u usevu soje. Prema njihovim rezultatima promene mikrobiološke biomase, aktivnosti enzima i brojnost mikroorganizama nisu bile statistički značajne u poređenju sa kontrolom.

Brojni autori su pratili različite efekte herbicida iz grupe hloracetanilida na mikroorganizme, dehidrogenazu i disanje, u zavisnosti od temperature (Janjić i sar., 1993b; Radivojević, 1997; Šantrić, 1998; Radivojević i Stanković, 2000; Beulke i Malkomes, 2001). Porastom temperature pojačavalo se inhibitorno delovanje alahlora, butahlora, metolahlora i metozahlora, verovatno, zbog povećane rastvorljivosti aktivnih materija u zemljишnom rastvoru i povećane koncentracije herbicida koji dolazi u kontakt sa mikroorganizmima. Prema istraživanjima Ekundayo (2002), metolahlor smanjuje populaciju bakterija sa  $4.6 \times 10^6$  na  $2.1 \times 10^4$  ćelija u jednom gramu zemljишta. Inhibitorno delovanje alahlora i metolahlora na aktivnost alkalne i kisele fosfataze utvrdili su i Perucci i saradnici (1988), ali je inhibitorno delovanje ovih jedinjenja bilo slabijeg intenziteta u poređenju sa atrazinom. Jones i Ananyeva (2001) su na zemljишtu na koje je primenjen propahlor pratili promene u disanju, mikrobiološkoj biomasi i metabolotičkom koeficijentu ( $qCO_2$ ). Statistički značajne promene vrednosti  $qCO_2$ , u poređenju sa kontrolom, ukazuju da se pod uticajem propahlora dešavaju značajne promene u ekofizološkom stanju mikrobiološke zajednice. Za razliku od navedenih autora, Harris i saradnici (1995) su utvrdili da metolahlor izaziva značajne promene mikrobiološke populacije u usevu soje.

Engelen i saradnici (1998) su, u laboratorijskim uslovima, pratili delovanje komercijalnih formulacija dintonerba i metamitrona na ukupan broj mikroorganizama i diverzitet bakterija u zemljишtu i konstatovali veoma značajne promene sastava mikrobnih populacija. Pod uticajem ova dva herbicida broj osjetljivih zajednica je bio smanjen, a broj otpornih, odnosno onih koje učestvuju u razgradnji herbicida, povećan.

Fantroussi i saradnici (1999), zatim Tixier i saradnici (2002) su pratili promene diverziteta bakterija posle de-setogodišnje kontinuirane primene herbicida iz grupe fe-

nilurea (hlortoluron, diuron, linuron) i utvrdili da je u zemljишtu došlo do veoma značajnih promena u strukturi i metabolitičkom potencijalu bakterija. Prema njihovim rezultatima iz populacije su nestale vrste *Pseudomonas jassennii* i *Pseudomonas mandelii*. Linuron ispoljava izravno toksično delovanje na *Azotobacter* sp., tako da je njegova brojnost smanjena za 76% u poređenju sa kontrolom. Pod uticajem linurona smanjuje se i ukupan broj mikroorganizama, aminoheterotrofa, aminoautotrofa i celulolizatora, a povećava brojnost gljiva i aktinomiceta (Nemes-Kosa i Cserhati, 1995; Šantrić, 1998).

Herbicidi iz grupe dinitroanilina (trifluralin i pendimetalin) imaju relativno dugu postojanost u zemljишtu (DT-50 = 25-129 dana), pa se može očekivati da u tom periodu ispoljavaju delovanje na mikrobiološku zajednicu. Pod uticajem ovih herbicida broj gljiva je značajno veći u poređenju sa kontrolom, zbog toga što gljive učestvuju u razlaganju velikog broja organskih jedinjenja, pa i ova dva. Za razliku od gljiva, ukupan broj mikroorganizama i aktinomicete su osjetljive na prisustvo trifluralina i pendimetalina, tako da je njihov broj neposredno posle primene značajno smanjen. Zbog razgradnje delovanje se vremenom smanjuje, tako da od tridesetog dana posle primene razlike u broju mikroorganizama, u poređenju sa kontrolom, nisu značajne (Lewis i sar., 1997; Radivojević i Stanković, 2000; Hang i sar., 2001a).

O uticaju derivata fenoksi-karboksilne kiseline (2,4-D, MCPA, MCPP, 2,4,5-T) na mikrobiološku zajednicu u literaturi postoje brojni podaci. Rezultati tih istraživanja pokazuju da je delovanje ovih herbicida na mikrobiološku zajednicu prolaznog karaktera i da prestaje od dvadesetog dana posle primene (Wardle i Parkinson, 1991; Rath i sar., 1998; Seifert i sar., 2001). Međutim, kontinuirano izlaganje mikroorganizama malim koncentracijama ovog herbicida dovodi do prilagođavanja mikroorganizama i do značajnog povećanja broja bakterija iz roda *Pseudomonas* sp. Povećan broj bakterija iz ovog roda ukazuje da one razgrađuju molekule herbicida i koriste ih kao izvore lako dostupnih biogenih elemenata i energije za svoje fiziološke procese (Lipthay i sar., 2003).

Das i saradnici (2003) su, u poljskim ogledima sa pirinčem, pratili delovanje oksadiazona i oksifluorfena na fosfomobilizatore, fosfomineralizatore i dostupnost fosfora za biljke, i utvrdili da ovi herbicidi stimulišu razvoj fosfomobilizatora i fosfomineralizatora; njihov broj bio je značajno povećan u poređenju sa kontrolom. Takođe, utvrdili su da je broj fosfomobilizatora i fosfomineralizatora u pozitivnoj korelaciji ( $r=0.86$ ) sa količinama fosfora koje su dostupne biljkama.

Busse i saradnici (2001) su pratili uticaj glifosata na mikroorganizme u zasadu bora u kome je glifosat primenjivan kontinuirano 13 godina i utvrdili da se i posle ovako duge primene u mikrobiološkoj zajednici nisu desile statistički značajne promene. Do sličnih rezultata došli su Wardle i Parkinson (1991) koji, u laboratorijskim ogledima, nisu utvrdili značajnije promene broja bakterija i gljiva, mikrobiološke biomase i disanja. Nešto drugačije rezultate dobili su Stratton i Stewart (1992) prateći delovanje glifosata na mikroorganizme u šumama Kanade. Prema njihovim rezultatima glifosat ne utiče na broj gljiva, bakterija i aktinomiceta, ali značajno povećava disanje i mikrobiološku biomasu. Najzad, prema istraživanjima Miloševića i saradnika (1995) glifosat je u zasadu vinove loze (4,8 kg a.m./ha), stimulativno delovao na ukupnu mikrofloru, gljive, bakterije, ureazu i proteazu. U istoj količini glifosat je inhibitorno delovao i na *Azotobacter* sp. (30-60%), amonifikatore (60%) i dehidrogenazu (80%).

Sessitsch i saradnici (2004) su ispitivali promene biomase, aktivnosti invertaza, ureaza, alkalne fosfataze, i arilsulfataze u rizosferi uljane repice u kojoj su primenjeni glufosinat-amonijum i metazahlor. Ovi herbicidi su inhibitorno delovali na mikrobiološku biomasu i enzime u prvih 35 dana trajanja ogleda. Vrlo je interesantno da je u rizosferi transgenih biljaka uočena pojačana aktivnost enzima, verovatno zbog specifičnih eksudata koje su u zonu rizosfere ispuštale transgene biljke. Ovakvi rezultati su bili očekivani imajući u vidu postojanost ove dve aktivne materije u zemljištu. Do sličnih rezultata došli su i Fliebach i Mader (2004) prateći efekte glufosinat-amonijuma i dinoseba 21 i 135 dana posle primene. Oni su utvrdili da se pod uticajem glufosinat-amonijuma, 21 dan posle primene, mikrobiološka biomasa i aktivnost smanjuju u proseku za 19%, a u variantama sa dinosebom za 45%. Nakon 135 dana svi parametri su opet na nivou kontrole.

Hart i Brooks (1996) su u Eksperimentalnoj stanicici Rotamsted pratili delovanje benomila, aldiskarba, triadimefona i glifosata na biomasu ugljenika, azota i mineralizaciju organske materije (preko disanja zemljišta) posle 19 godina kontinuirane primene pesticida. Konstatovali su značajne promene mikrobiološke biomase ugljenika, koje su nastale zbog smanjenja brojnosti i aktivnosti pojedinih mikrobioloških grupa.

Ahtiainen i saradnici (2003) su pratili uticaj dva programa zaštite bilja koji se koriste u tehnologiji gajenja ječma na mikroorganizme. U oba programa su primenjeni hlorsulfuron, MCPA, bentazon, karboksin imazalin, propikonazol, dimetoat i pirimikarb. U jednom pro-

gramu, pesticidi su primenjeni u preporučenim, a u drugom, u smanjenim količinama. Rezultati trogodišnjih ispitivanja su pokazali da je delovanje pesticida zavisilo od dužine izloženosti i uslova spoljašnje sredine (godine ispitivanja), ali da je, generalno, bilo prolaznog karaktera. Do sličnih rezultata došli su i Schuster i Schröder (1990a), koji su u dvogodišnjim poljskim ogledima ispitivali delovanje osam pesticida (dinocebacetat, izoproturon, dihlorprop, hlormekvat, propahlor+karbendazim, kaptafol+triadimefon, pirimikarb i glifosat) na mikrobiološku biomasu i aktivnost dehidrogenaze. Rezultati njihovih ispitivanja su, takođe, pokazali da je delovanje na mikroorganizme prolaznog karaktera i da se ne odražava na plodnost zemljišta.

## ZAKLJUČNE KONSTATACIJE

Nakon primene pesticida dolazi do njegovog kontakta sa mikroorganizmima u zemljištu i do uspostavljanja veoma različitih i kompleksnih odnosa između njih, a kao posledica tih odnosa nastaje brža ili sporija razgradnja pesticida i povećana, smanjena ili nepromenjena mikrobiološka aktivnost zemljišta. Rezultati do kojih su istraživači došli nisu uvek saglasni. Jedna grupa autora smatra da pesticidi imaju prolazan uticaj jer su pojedine grupe mikroorganizma sposobne da ih razgraduju i tako ih koriste kao izvore biogenih elemenata i energije za svoj rast i razviće. Nasuprot njima, zastupljena su i mišljenja da pesticidi, kao toksikanti, štetno deluju na mikroorganizme tako što menaju njihovu brojnost, aktivnost, ritam razmnožavanja, biodiverzitet i dr.

Imajući u vidu da i stepen delovanja pesticida na populaciju mikroorganizama zavisi od velikog broja činilaca (edafski i klimatski faktori, način i učestalost primene, navodnjavanje, đubrenje i dr.) nameće se potreba da se u ovoj oblasti sprovode dugoročna i sveobuhvatna istraživanja kako ne bismo narušavali prirodnu ravnotežu mikrobioloških procesa u zemljištu.

## LITERATURA

- Abdelhafid, R., Houot, S. and Barriuso, E.:* How increasing availabilities of carbon and nitrogen effect atrazine behavior in soils. Biol. Fertil. Soils, 30: 333-340, 2000.  
*Acosta-Martinez, V. and Tabatabai M.A.:* Enzyme activities in a limed agricultural soil. Biol. Fertil. Soils, 31: 85-91, 2000.

- Abrens, W.H. (ed.):** Herbicide Handbook – Atrazine (7<sup>th</sup> Edition). Weed Science Society of America (WSSA), Washington, USA, 1994.
- Abtiainen, H.J., Vanhalta, P. and Myllymaki, A.:** Effects of different plant protection programs on soil microbes. Ecotox. Environ. Saf., 54: 56-64, 2003.
- Allievi, L. and Gigliotti, C.:** Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonylurea herbicide cinosulfuron. J. Environ. Sci. Hlth., B36(5): 161-175, 2001.
- Anderson, T.H. and Domsch, K.H.:** Application of ecophysiological quotients ( $qCO_2$  and  $qd$ ) on microbial biomasses from soil of different cropping histories. Soil. Biol. Biochem., 22: 251-255, 1990.
- Anderson, T.H. and Domsch, K.H.:** The metabolic quotient for  $CO_2$  ( $qCO_2$ ) as a specific activity parameter to assess the effects of environmental conditions such as pH, on microbial biomass of forest soils. Soil Biol. Biochem., 25: 393-395, 1993.
- Antonious, G.F.:** Impact of soil menagment and two botanical insecticides on urease and invertase activity. J. Environ. Sci. Hlth., B38(4): 479-488, 2003.
- Banerjee, A. and Banerjee, A.K.:** Influence of captan on some microorganisms and microbial processes related to the nitrogen cycle. Plant and Soil, 102: 239-245, 1987.
- Beck, T., Joergensen, R.G., Kandeler, E., Makeschin, F., Nuss, E., Oberholzer, H.R. and Scheu, S.:** An inter-laboratory comparasion of ten different ways of measuring soil microbial biomass C. Soil. Biol. Biochem., 29: 1023-1032, 1997.
- Benitez, E., Melgar, R. and Nogales, R.:** Estimating soil resilience to a toxic organic waste by measuring enzyme activities. Soil Biol. Biochem., 36: 1615-1635, 2004.
- Beulke, S. and Malkomes, H.P.:** Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions. Biol. Fertil. Soils, 33: 467-471, 2001.
- Bjornlund, L., Ekelund, F., Christensen, S., Jacobsen, C.S., Krogh, P.H. and Johnsen, K.:** Interaction between saprotrophic fungi, bacteria and protozoa on decomposing wheat roots in soil influenced by the fungicide fenpropimorph: a field study. Soil Biol. Biochem., 32: 967-975, 2000.
- Brown, H.M.:** Mode of action, crop selectivity and soil relations of the sulfonylureas herbicides. Pest. Sci., 29: 263-281, 1990.
- Burnet, M. and Hodgson, B.:** Differential effects of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and sulfometuron-methyl on microorganisms. Arch. Microb., 155: 521-525, 1990.
- Busse, M.D., Ratcliff, A.W., Shestak, C.J. and Powers, R.F.:** Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. Soil Biol. Biochem., 33: 1777-1789, 2001.
- Carbonelli, G., Pablos, M.V., Garcia, P., Ramos, C., Sanchez, P., Fernandez, C. and Tarazona, J.V.:** Rapid and cost-effective multiparameter toxicity test for soil microorganisms. Sci. Total Environ., 247: 143-150, 2000.
- Cearvelli, N., Nannipieri, P. and Sequi, P.:** Interactions between agrochemicals and soil enzymes. In: Soil Enzymes (Burns, R.G., ed.), Academic Press, London, UK, 1978, pp. 251-258.
- Dalal, R.C.:** Soil microbial biomass - what do the numbers really?. Austr. J. Exp. Agricul., 38: 649-665, 1998.
- Das, A.C. and Mukherjee, D.:** Effects of insecticides on soil microorganisms and their biochemical processes related to soil fertility. J. Microb. Boichem., 14: 903-909, 1998.
- Das, A.C., Debnath, A. and Mukherjee, D.:** Effect of herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. Chemosphere, 53: 217-221, 2003.
- Doran, J.W. and Zeiss, M.R.:** Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. Appl. Soil Ecol., 15: 3-11, 2000.
- Dordžević, S., Govđarica, M., Ajder, S. i Stefanović, L.:** Uticaj nekih herbicida na biološku aktivnost i mikroorganizme u zemljištu. Savremena poljoprivreda, 42: 125-133, 1994.
- Dordžević, S., Šestović, M., Raičević, V. i Marinković, N.:** Preživljavanje mikroorganizama u zemljištu tretiranom fentin-acetatom, hloridazonom i karbofuronom. Pesticidi, 14: 345-351, 1999.
- Edvantoro, B.B., Naidu, R., Megharaj, M. and Singleton, I.:** Changes in microbial properties associated with long-term DDT contaminated soil at disused cattle dip sites. Ecotox. Environ. Saf., 55: 344-351, 2003.
- Ekundayo, E.:** Effects of common pesticides used in the Niger delta basin of Southern Nigeria on soil microbial populations. Environ. Monitor. Assessment, 89: 35-41, 2002.
- Emmerling, C., Udelhoven, T. and Schröder, D.:** Response of soil microbial biomass and activity to agricultural deintensification over a 10 year period. Soil. Biol. Biochem., 33: 2105-2114, 2001.
- Engelen, B., Meinken, K., Wintzingerode F., Heuer, H., Malkomes H. and Backhaus H.:** Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting in addition to conventional testing procedures. Appl. Environ. Microb., 64: 2814-2821, 1998.
- Entry, J.A., Donnelly, P.K. and Emmingham, W.H.:** Atrazine and 2,4-D mineralization in relation to microbial biomass in soils of young-, second- and old-growth riparian forests. Appl. Soil. Ecol., 2: 74-84, 1995.
- Fantoussi, S.A., Verschueren, L., Verstraete, W. and Top, E.:** Effect of phenylurea herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16s rRNA gene fingerprints

- and community-level physiological profiles. *Appl. Environ. Microb.*, 65: 982-988, 1999.
- Fliebach, A. and Mader, P.:** Short- and long-term effects on soil microorganisms of two potato pesticides spraying sequences with either glufosinate or dinotero as defoliants. *Biol. Fertil. Soils*, 40: 268-276, 2004.
- Forlani, G., Mantelli, M., Branzoni, M., Mielsen, E. and Favilli, F.:** Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *Plant and Soil*, 176: 243-253, 1995.
- Freemark, K. and Boutin, C.:** Impacts of agricultural use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: A review with social reference to North America. *Agricul. Ecosyst. Environ.*, 52: 67-91, 1995.
- Govedarica, M. i Jarak, M.:** Mikrobiologija zemljišta. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 1995.
- Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M., Konstantinović, B. i Đurić, S.:** Uticaj atrazina i alahlora na mikrobiološku aktivnost pod usevom kukuruza. *Acta herbol.*, 6: 39-45, 1997.
- Greaves, M.P.:** Side effect testing: an alternative approach. In: *Pesticide Effect on Soil Microflora* (Somerville, L. and Greaves, M.P., eds). Taylor and Francis, London, UK, 1979, pp. 183-190.
- Grossbard, E. and Marsh, J.A.:** The effects of seven substituted herbicides on the soil microflora. *Pest. Sci.*, 5: 609-624, 1994.
- Hang, M., Zhongyun, C., Yu, Y., Chen, Z., Wu, W. and Yufeng D.:** Effects of butachlor on soil microbial populations and enzyme activities in paddy soil. *J. Environ. Sci. Health, B36(5)*: 581-595, 2001b.
- Harden, T., Joergenses, R.G., Mayer, B. and Wolters, V.:** Soil microbial biomass estimated by fumigation-extraction and substrate-induced respiration in two pesticide-treated soils. *Soil Biol. Biochem.*, 25: 679-683, 1993.
- Hargreaves, P.R., Brooks, P.C., Ross, P.R. and Poulton, P.R.:** Evaluating soil microbial biomass carbon as an indicator of long-term environmental change. *Soil. Biol. Biochem.*, 35: 401-407, 2003.
- Harris, P., Schomberg, H.H., Banks, P.A. and Giddens, J.:** Burning, tillage and herbicide effects on the soil microflora in a wheat-soybean double-crop system. *Soil Biol. Biochem.*, 27: 153-156, 1995.
- Hart, M.R. and Brookes, P.C.:** Soil microbial biomass and mineralisation of soil organic matter after 19 years of cumulative field application of pesticides. *Soil Biol. Biochem.*, 28: 1641-1649, 1996.
- Haziev, F.H. and Gulko, J.M.:** Fermentativnaja aktivnost počv agrocenozov i perspektivi ee izučenija. Počvovedenie, 8: 88-103, 1991.
- Hawkes, T.R.:** Acetylactate synthase: The perfect herbicide target?. *Proc. BCP Conference – Weeds*, Brighton, UK, 2: 723-730, 1993.
- Hodgson, O., Mailnam, R.B., Chambers, J.E. and Dow, R.E.:** Dictionary of toxicology. MacMillan, New York, USA, 1998, p. 504.
- Imberger, K.T. and Chiu, C.Y.:** Topographical and seasonal effects on soil fungal and bacterial activity in subtropical, perhumid, primary and regenerated montane forests. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 711-720, 2002.
- Ismail, B.S., Yapp, K.F. and Omar, O.:** Effects of metsulfuron-metil on amylase, urease and protease activities in two soils. *Aust. J. Soil Res.*, 36: 449-456, 1998.
- Janjić, V., Popović, Lj. i Jevtić, S.:** Uticaj metribizuna i propizamida na intenzitet zemljišnog disanja. *Acta herbol.*, 2: 75-80, 1993a.
- Janjić, V., Popović, Lj., Jevtić, S., Marisavljević, D. i Bogdanović, V.:** Uticaj atrazina, linurona i metolahlor na intenzitet zemljišnog disanja. *Acta herbol.*, 2: 155-162, 1993b.
- Janjić, V., Radivojević, Lj. i Stanković-Kalezić, R.:** Uticaj herbicida na mikrobiološku aktivnost zemljišta. *Acta herbol.*, 5: 5-17, 1996.
- Jarak, M. i Govedarica, M.:** Mikrobiologija. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, 2003.
- Jenkinson, D.S., Brookes, P.C. and Powlson, D.S.:** Measuring soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 39: 5-7, 2004.
- Johansen, K., Jacobsen C.S. and Torsvik, V.:** Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 443-453, 2001.
- Jones, W.J. and Ananyeva, N.D.:** Correlations between pesticides transformation rate and microbial respiration activity in soil of different ecosystems. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 477-483, 2001.
- Junnila, S., Heinonen-Tanski, H., Ervio, L.R. and Laitinen, P.:** Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soil. *Weed Res.*, 34: 413-423, 1999.
- Karacakıl, E.A. and Baglar, C.N.:** Effects of the herbicide on soil microflora. *Biol. Fertil. Soils*, 32: 258-267, 1998.
- Kare, J., Jacobsen, C.S., Torsvik, V. and Sørensen, J.:** Pesticide effects on bacterial diversity in agricultural soils – a review. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 443-453, 2004.
- Kannaiyan, S.:** Effect of certain fungicides on the production of enzymes by *Rhizoctonia solani*. *Plant and Soil*, 108: 299-302, 1988.
- Klose, S. and Ajwa, H.:** Enzyme activities in agricultural soils fumigated with methyl bromide alternatives. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1625-1635, 2004.

- Knight, T.R. and Dick, R.**: Diferentiating microbial and stabilized  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 2086-2096, 2004.
- Kodoma, T., Ding, L., Yoshida, M. and Yajima, M.**: Biodegradation of s-triazine herbicide, simazine. *J. Molecular Catalysis*, 11: 1073-1078, 2001.
- Koskinen, W.C. and Harper, S.S.**: The retention process: Mechanisms. In: *Pesticides in the soil environment: Processes, impacts, and modeling* (H.H. Cheng, ed.). Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1990.
- Ladd, J.N., Amato, M and Veen, H.A.**: Soil microbial biomass: its assay and role in turnover of organic matter C and N. *Soil Biol. Biochem.*, 36: 1369-1372, 2004.
- Lewis, K.A., Newbold, M.J., Hall, A.M. and Broom, C.E.**: Eco-rating system for optimizing pesticide use at farm level - Part I: Theory and development. *J. Agric. Eng. Res.*, 68: 271-279, 1997.
- Lipthay, J.R., Tuxen, N., Johnsen, K., Hansen, L.H., Albrechtsen, H.J., Bjerg, P.L. and Amand, J.**: In situ exposure to low herbicide concentrations affects microbial population composition and catabolic gene frequency in an aerobic shallow aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69: 461-467, 2003.
- Macalady, J.L., Fuller, M.E. and Scow, K.M.**: Effects of metan sodium on soil microbial activity and community structure. *J. Environ. Qual.*, 27: 54-63, 1998.
- Malcolm, R.E.**: Assessment of phosphatase activity in soil. *Soil Biol. Bioch.*, 15: 403-408, 1983.
- Martins, J.M.F., Chevre, N., Soack, L., Tarradellas, J. and Mermound, A.**: Degradation in soil and water and ecotoxicity of rimsulfuron and its metabolites. *Chemosphere*, 45: 515-522, 2001.
- Marx, M.C., Wood, M. and Jarvis, S.C.**: A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 33: 1633-1640, 2001.
- Milošević, N., Govedarica, M., Živanović, M., Jarak, M. and Papić, Đ.**: Uticaj glifosata na brojnost i enzimatsku aktivnost mikroorganizama u zemljištu pod vinovom lozom. *Pesticidi*, 10: 129-133, 1995.
- Milošević, N., Govedarica, M., Jarak, M. i Đorđević, S.**: Pesticidi i mikroorganizmi. U: *Zaštita šećerne repe od bolesti, štetočina i korova* (urednici: Konstantinović, B., Štrbac, P. i Balaž, F.). Stylos, Novi Sad, 2001, str. 109-142.
- Mišković, K., Rašović, B., Sobiesczanski, J. and Brankov, Lj.**: Effect of different doses of Venzar on *Azotobacter chroococcum*. *Roczniki gleboznawcze*, 34: 210-216, 1983.
- Monkiedje, A., Ilbori, M.O. and Spiteller, M.**: Soil quality changes resulting from the application of the fungicides mefenoxam and metalaxyl to a sandy loam soil. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 1939-1948, 2002.
- Moore, M.J., Klose, S. and Tabatabai, M.A.**: Soil microbial biomass carbon and nitrogen as affected by cropping systems. *Biol. Fertil. Soils*, 31: 200-210, 2000.
- Nagaraja, M.S., Ramakrishna-Parama, V.R. and Siddaramappa, R.**: Effects of atrazine on urea-N mineralisation and activity of some soil enzymes. *J. Ind. Soc. Soil Sci.*, 46: 189-192, 1998.
- Nemes-Kosa, S. and Cserhati, T.**: Quantitative structure-activity relationship study on the inhibitory effect of some herbicides on the growth of soil micro-organisms. *J. Appl. Bacter.*, 79: 483-491, 1995.
- Nešković, N.**: Pesticidi i životna sredina. *Zbornik radova Jugoslovenskog simpozijuma (sa međunarodnim učešćem): Pesticidi i njihovo delovanje na zdravlje ljudi i okolinu*, Bečeji, 1988, str. 95-100.
- Nor, Y.M.**: Soil urease activity and kinetics. *Soil Biol. Biochem.*, 14: 63-65, 1982.
- OECD**: Test for testing chemicals. 11th Addendum, Pariz, Francuska, 2000.
- OEPP/EPPO**: Decision marking scheme for the environmental risk assessment of plant protection products. *Soil microflora*. OEPP/EPPO Bulletin, 24, Chapter 7, Blackwell Scientific, Oxford, UK, 1995.
- Park, J., Feng, Y., Ji, P., Voice, T. and Bozd, A.**: Assessment of bioavailability of soil-sorbed atrazine. *Appl. Environ. Microb.*, 69: 3288-3298, 2003.
- Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, T., Moreno, J.L. and Ros, M.**: Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 1877-1883, 2000.
- Perucci, P., Scarponi, L. and Monotti, M.**: Interference with soil phosphatase activity by maize herbicidal treatment and incorporation of maize residus. *Biol. Fertil. Soils*, 6: 286-291, 1988.
- Perucci, P. and Scarponi, L.**: Effects of the herbicide imazetapyr on soil microbial biomass and various soil enzymes. *Biol. Fert. Soils*, 17: 237-240, 1994.
- Perucci, P. and Scarponi, L.**: Side effects of rimsulfuron on the microbial biomass of a clay-loam soil. *J. Environ. Qual.*, 25: 610-613, 1996.
- Perucci, P., Vichetti, C. and Battistoni, F.**: Rimsulfuron in silty clay loam soil: Effects upon microbiological and biochemical properties under varying microcosms conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 31: 195-204, 1999.
- Radivojević, Lj.**: Uticaj alhlora, metolahlora i metribuzina na zemljišnu mikrofloru. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Beograd, 1997.

- Radivojević, Lj., Janjić, V., Cupać, S., Stanković-Kalezić, R., Jovanović, Lj. i Marisavljević, D.*: Uticaj metalohlora na brojnost i aktivnost nekih zemljišnih mikroorganizama u zavisnosti od temperature. *Pesticidi*, 14: 273-280, 1999.
- Radivojević, Lj. i Stanković-Kalezić, R.*: Promena brojnosti i aktivnosti nekih grupa zemljišnih mikroorganizama pod uticajem alahlora. *Pesticidi*, 15: 223-232, 2000.
- Radivojević, Lj. i Stanković-Kalezić, R.*: Uticaj trifluralina i pendimetalina na mikroorganizme u zemljištu. *Acta herbol.*, 9: 77-84, 2000.
- Radivojević, Lj., Đorđević, S. i Stanković-Kalezić, R.*: Uticaj atrazina na biomasu ugljenika i zemljišno disanje. *Zbornik rezimea XI jugoslovenskog simpozijuma o zaštiti bilja*, Zlatibor, 2000, str. 114.
- Radivojević, Lj., Šantrić, Lj., Stanković-Kalezić, R., Brkić, D. i Janjić, V.*: Uticaj metribuzina na brojnost i aktivnost nekih grupa zemljišnih mikroorganizama. *Pesticidi*, 18: 99-107, 2003.
- Radivojević, Lj., Đorđević, S., Gašić, S., Stanković-Kalezić, R. i Elezović, I.*: Effect of Herbicide Atrazine on Soil Biochemical Activity. 41<sup>st</sup> Congress of the European Societies of Toxicology EUROTOX 2003 Science for Safety, Florence, Italy, Abstracts: *Toxicol. Lett.*, 144: 173, 2003.
- Radivojević, Lj., Đorđević, S., Gašić, S., Stanković-Kalezić, R. i Elezović, I.*: Effects of Nicosufuron Herbicide on Soil Biochemical Activity. Proc. of the 15<sup>th</sup> International Plant Protection Congress – Plant Protection Towards the 21<sup>st</sup> Century, Bejing, China, 2004, p. 233.
- Radivojević, Lj., Šantrić, Lj. i Stanković-Kalezić, R.*: Delovanje atrazina na mikroorganizme u zemljištu. *Pestic. fitomed.*, 21: 215-221, 2006.
- Radivojević, Lj.*: Delovanje atrazina i nikosulfurona na mikroorganizme u zemljištu. Doktorska disertacija, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 2006, str. 1-107.
- Rath, A.K., Ramakrishnan, R.B., Rath, A.K., Kusmaramswamy, S., Bharati, K., Singla, P. and Sethunathan, N.*: Effects of pesticides on microbial biomass of flooded soil. *Chemosphere*, 37: 661-667, 1998.
- Regno, V., Arulgnanendran, J. and Nirmalakhandan, N.*: Microbial toxicity in soil medium. *Ecotox. Environ. Saf.*, 39: 48-56, 1998.
- Renella, G., Mench, M., Landi, L. and Nannipieri, P.*: Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 133-139, 2005.
- Rhine, E.D., Fuhrmann, J.J. and Radosevich, M.*: Microbial community responses to atrazine exposure and nutrient availability: Linking degradation capacity to community structure. *Microp. Ecol.*, 46: 145-160, 2003.
- Rojo, M.J., Carcedo, S.G. and Mateos, M.P.*: Distribution and characterisation estimations in soils from tussock grasslands by three biochemical procedures. *Soil Biol. Biochem.*, 22: 169-174, 1990.
- Saring, S. and Steiberger, Y.*: Microbial biomass response to seasonal fluctuation in soil salinity under the canopy of desert halophytes. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 1405-1408, 1994.
- Schuster, E. and Schroeder, D.*: Side-effects of sequence-ly- and simultaneously-applied pesticides on non target soil organisms: laboratory experiments. *Soil. Biol. Biochem.*, 22: 375-384, 1990b.
- Sessitsch, A., Gyamfi, S., Tscherko, D., Gerzabek, M.H. and Kandeler, E.*: Activity of microorganisms in the rhizosphere of herbicide treated and untreated transgenic glufosinate-tolerant and wildtype oilseed rape growth in containment. *Plant and Soil*, 266: 105-116, 2004.
- Singh, B.K., Walker, A. and Wrigh, D.J.*: Degradation of pesticides in combination and their effect on soil microbial acitivity. Proc. of Symposium Pesticide Behavior in Soil and Water, Brighton, Britich Crop Protection Council (BCPC)-UK, 2001, pp. 145-150.
- Skipper, H.D., Wollum, A.G., Turco, R.F. and Wolf, D.C.*: Microbiological Aspect of Environmental Studies of Pesticides. *Weed Tech.*, 10: 174-190, 1996.
- Smith, M.D., Hartnett, D.C. and Rice, C.W.*: Effects of long-term fungicide applications on microbial properties in tallgrass prairie soil. *Soil Biol. Biochem.*, 32: 935-946, 2000.
- Startton, G.W. and Stewart, K.E.*: Glyphosate effects on microbial biomass in a coniferous forest soil. *Environ. Tox. Water Qual.*, 7: 223-236, 1992.
- Stenersen, J.*: Chemical pesticides - mode of action and toxicology. CRC Press, Boca Raton, Fl, USA, 2004.
- Stetter, J.*: Trends in the future development of pest and weed control - an industrial point of view. Workshop on the role of science in pesticide management, Stockholm, Sweden, 1992.
- Struthers, J.K., Jayachandran, K. and Moorman, T.B.*: Biodegradation of atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and use of this atrazine in bioremediation of contaminated soil. *Appl. Environ. Microb.*, 64: 3368-3375, 1998.
- Tabatabai, M.A.*: Soil enzymes. In: Method of soil analysis, Part 2: Chemical and microbiological properties, (Page, L.A., ed.), American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, 1982, pp. 903-943.
- Tamburić, Lj. i Lević, J.*: Uticaj atrazina, EPTC-a i njihove smeše na brojnost mikroorganizama u zemljištu pod usevom kukuruza. *Pesticidi*, 10: 219-230, 1995.
- Tixier, C., Sancelme, M., Ait-Aiss, A., Widehem, P., Bonnemoy, F.B., Cuer, A., Truffaut, N. and Veschambre H.*: Biotransformation of phenylurea herbicides by a soil bacterial strain: Structure, ecotoxicity and fate of diuron with metabolite soil fungi. *Chemosphere*, 46: 519-526, 2002.

- Thompson, I.P., Singer, A.C. and Bailey, M.J.**: Improving the exploitation of microorganisms in environmental clean-up. Proc. of Symposium Pesticide Behavior in Soil and Water, Brighton, British Crop Protection Council (BCPC), UK, 2001, pp. 197-204.
- Trabue, S.L., Ogram, A.V. and Ou, L.T.**: Dynamic of carbofuran-degrading microbial communities in soil during three successive annual applications of carbofuran. *Soil Biol. Biochem.*, 33: 75-81, 2001.
- Šantrić, Lj.**: Uticaj alahlora, linurona i fomesafena na mikrofloru zemljišta pod sojom. Magistarska teza, Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, 1998.
- Šantrić, Lj. i Radivojević, Lj.**: Mikrobiološka aktivnost zemljišta posle primene nikosulfurona. *Pestic. fitomed.*, 19: 55-60, 2004.
- Van Leeuwen, C.J., Griffioen, P.S., Vergouw, W.H.A. and Maas-Diepeveen, H.**: Differences in susceptibility of early life stages of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) to environmental pollutants. *Aquat. Toxicol.*, 7: 59-78, 1985.
- Wardle, D.A. and Parkinson, D.**: Relative importance of the effect of 2,4-D, glyphosate and environmental variables on the soil microbial biomass. *Plant and Soil*, 134: 209-219, 1991.
- Wardle, D.A. and Ghani, A.**: A critique of the microbial metabolic quotient ( $q\text{CO}_2$ ) as bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biol. Biochem.*, 27: 1601-1610, 1995.
- Wardle, D.A., Yeates, G.W., Nocholson, K.S., Bonner, K.I. and Watson, R.N.**: Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decomposition to agricultural intensification over a seven year period. *Soil. Biol. Biochem.*, 31: 1707-1720, 1999.

---

## Pesticides in Soil: Effects on Microorganisms

### SUMMARY

Since their discovery to the present day, pesticides have been an inevitable segment of agricultural production and efforts have been made to synthesize compounds that would share a required efficacy along with selectivity, sufficient persistence on the object of protection and favourable toxicological and ecotoxicological characteristics so as to minimize their effect on the environment.

When a pesticide gets into soil after application, it takes part in a number of physical, chemical and biological processes that depend not only on the compound itself, but a number of other factors as well, such as: physical, chemical and biological characteristics of soil; climatic factors, equipment used, method of application, method of storage, handling and disposal of waste, site characteristics (proximity of ground and underground waters, biodiversity and sensitivity of the environment). Microorganisms play an important role in pesticide degradation as they are able to utilize the biogenic elements from those compounds, as well as energy for their physiological processes. On the other hand, pesticides are more or less toxic substances that can have adverse effect on populations of microorganisms and prevent their development, reduce their abundance, deplete their taxonomic complexity and create communities with a lower level of diversity and reduced physiological activity.

The article discusses complex interactions between pesticides and microorganisms in soil immediately after application and over the ensuing period. Data on changes in the abundance of some systematic and physiological groups of microorganisms, their microbial biomass and enzymatic activity caused under pesticide activity are discussed as indicators of these processes.

**Keywords:** Pesticides; Microorganisms; Enzymes; Microbial biomass; Soil