TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK 1

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK 3

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS 5

2.1. A herbicidekről általában különös tekintettel a klórszulfuronra 5

2.2. A klórszulfuron és a tiokarbamát herbicidek jellemzői 6
2.2.1. A klórszulfuron szerkezete, kémiai, fizikai tulajdonságai és toxikussága 7
2.2.2. A klórszulfuron szelektivitása a gyom- és kultúrnövényekre és a növényi rezisztencia 10
2.2.3. A tiokarbamátok típusai és tulajdonságaik a klórszulfuronhoz hasonlítva 13

2.3. A klórszulfuron és más herbicidek biodegradációja 16
2.3.1. A mikroorganizmusok szerepe *in vitro* 19
2.3.2. A mikroorganizmusok szerepe *in vivo* 26
2.3.3. A környezeti tényezők hatása a herbicidek lebomlására 28

2.4. Herbicid-érzékenység és mikrobiológiai átalakulás 29
2.4.1. A mikroorganizmusok érzékenysége *in vitro* 30
2.4.2. A mikroorganizmusok érzékenysége *in vivo* 32

3. ANYAG ÉS MÓDSZER 37

3.1. Anyagok 37
3.1.1. Mikroorganizmusok 37
3.1.2. Táptalajok, szaporító közegek 37
3.1.3. Herbicidek és alkalmazott herbicid dózisok 38
3.1.4. Talaj és talaj-adalékanyagok 40

3.2. Módszerek 40
3.2.1. Mikroorganizmusok fenntartása, tenyésztése 40
3.2.2. Herbicid-érzékenységi vizsgálatok *in vitro* 41
3.2.3. Herbicid-érzékenységi vizsgálatok *in vivo* 43

3.3. Az eredmények értékelése és bemutatása 44

4. EREDMÉNYEK 46

4.1. A mikroorganizmusok szaporodása klórszulfuronnal szemben *in vitro* 46
4.1.1. A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása 46
4.1.2. A különböző mikroorganizmusok klórszulfuron érzékenysége 47
4.1.3. A klórszulfuron-érzékenység kimutatása más módszerekkel 52

4.2. A mikroorganizmusok szaporodása a tiokarbamátokkal szemben *in vitro* 52
4.2.1. A tiokarbamátok növekvő koncentrációinak hatása 53
4.2.2. A különböző mikroorganizmusok tiokarbamát érzékenysége 56
4.2.3. A tiokarbamát-érzékenység kimutatása más módszerekkel 69
4.2.4. A klórszulfuron és a tiokarbamát érzékenység összehasonlítása 70

4.3. Mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-kezelt talajban *in vivo* 71
4.3.1. Mikroorganizmusok közötti különbségek 71
4.3.2. A vegetációs időszakra vonatkozó hatásértékelés 73

4.4. Mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-szennyvíz kombinációk hatására *in vivo* 76
4.4.1. Mikroorganizmusok kitenyészthető csíraszám értékei.....76
4.4.2. Csíraszám értékek a hatóidő függvényében.....79

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK 83

5.1. A rázatásos, mikrofermentoros *in vitro* módszer eredményeinek értékelése.....83
5.1.1. A különböző mikroorganizmusok klórszulfuron-érzékenységének összehasonlítása.....84
5.1.2. A mikroorganizmusok érzékenysége a tiokarbamát herbicidekre.....87

5.2. Az *in vivo* eredmények értékelése 89
5.2.1. A herbicid növekvő dózisainak hatása 89
5.2.2. A 3 hetes és a vegetációs időszakot modellező 3 hónapos hatások összehasonlító értékelése.....92

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK..... 99

7. ÖSSZEFOGLALÁS 101

8. ABSTRACT..... 103

9. IRODALOMJEGYZÉK..... 105

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS..... 119

MELLÉKLETEK..... I

M-1. Ábrák i

M-2. A statisztikai analízisekhez tartozó variancia táblázatok.....vi

M-3. Ábrák és táblázatok jegyzéke xi

1. BEVEZETÉS ÉS CÉLKITŰZÉSEK

A herbicidek alkalmazása az intenzív növénytermesztés során a mezőgazdasági kultúrák termésátlagának jelentős növekedéséhez vezetett. Ezzel együtt a herbicidek alkalmazásának negatív hatása is van, hiszen ezeknek a vegyületeknek a talajba kerülése a talaj toxikus anyagokkal való elszennyeződéséhez vezethet. Ezért a mezőgazdaság kemizálásának egyik aktuális feladata olyan vegyszerek alkalmazása, amelyek kevésbé mérgezőek a talajban élő mikroorganizmusokra, az adott ökoszisztémára, az emberre és az állatokra. A gyomirtó szerekkel szembeni fő követelmény a gyomokkal szembeni hosszú hatástartam, de az azt követő lebonthatóság, a bomlástermékeik nem toxikus volta és a minél kisebb dózisok alkalmazhatóságának kényszere is.

Az ENSZ Környezetvédelmi Világkonferenciáján (Stockholm 1972) a világ 10 legfontosabb szennyező ágense közé sorolták a peszticideket, amelyek intenzíven szennyezik a levegőt, a felszíni és talajvizeket, valamint a mezőgazdasági termőtalajokat. A peszticidek veszélye az, hogy az ilyen élettereknek a szennyezése folytán veszélyeztetik a világ környezetvédelmi egyensúlyát, stabilitását. A mezőgazdaság kemizálása megváltoztathatja a talajok természetes összetételét, működését, kialakítván ezáltal a „mesterséges, technogén" agro-ökoszisztémákat (Stefanovits 1977).

A talajban élő mikroorganizmusokra számos környezeti tényező hatással lehet. Ezek közül kiemelkedő jelentőségűek és EU stratégiai kutatási irányt is jelentenek azok a növényvédő szerek, melyek az emberi (antropogén) tevékenység során kerülnek oda. A mezőgazdasági kemikáliák között a gyomirtó szerek (herbicidek) alkalmazása terjedt el a leginkább. Az emberi tudás fejlődésével újabb és újabb vegyi anyagokról bizonyosodik be a gyomirtó szerként való alkalmazási lehetőség. A napjainkban bevezetett ún. „új generációs herbicidek" annyira hatásosak lehetnek, hogy mennyiségük akár 10-szer, 100-szor is kevesebb lehet a korábban alkalmazottakhoz viszonyítva, ami tovább növelheti a gyakorlati alkalmazás veszélyét.

Egyes gyomirtó szerek könnyen, még a vegetációs időszak befejeződése előtt lebomlanak, ezért az aktív hatóanyaghoz ún. extendereket adnak, hogy a lebontást mérsékeljék, illetve az arra irányuló mikrobiológiai aktivitást csökkentsék a talajokban. Az egyes mikroorganizmusok érzékenysége ugyanakkor jelentősen különbözhet a talajokban, ami által az eredeti mikrobiológiai összetétel megváltozásával, hosszabb távon akár a talaj funkcionális elváltozásaival is számolni kell. A fenntartható mezőgazdaság és a környezetvédelem szempontjait is figyelembe véve ezért szükséges tanulmányozni a különböző mikroorganizmus csoportok érzékenységét, tolerancia-határait, a mezőgazdasági

kemikáliákhoz való adaptálódás és a működőképességük közötti összefüggéseket, illetve keresni azokat a módszereket, amelyekkel az okozott mikrobiológiai hatások kimutathatók, detektálhatók. A dolgozat egy tipikus, széles körben alkalmazott „új generációs" gyomirtó szer, a klórszulfuron példáján további, nagyobb dózisban alkalmazott herbicidek a tiokarbamátok bevonásával laboratóriumi (*in vitro*) és inkubációs modellkísérletben (*in vivo*) is vizsgálja azok mikroorganizmus fajokra és fajcsoportokra kifejtett hatásait, a mikroorganizmusok szaporodásbeli érzékenysége és a vizsgálati módszerek közötti általános összefüggéseket, valamint a hatóidőnek a talajban a vegetációs időszak során jelentkező esetleges befolyásoló hatásait.

Célkitűzésként a következő alpontokat fogalmaztuk meg:

A gyomirtó szerekkel, illetve azok különböző dózisaival szembeni mikrobiológiai érzékenység vizsgálata laboratóriumi és tenyészedényes kísérletekben, hogy megismerjük a talajokból és/vagy a talaj-növény rendszerekből származó tipikus, jellegzetes **mikroszervezetek és mikroorganizmus csoportok tűrőképességét a szaporodásukra kifejtett hatásokon keresztül** és tanulmányozzuk a:

- a fajokra és fajcsoportokra jellemző azonos és elkülönülő érzékenységi mintázatokat, a szaporodás mértékében bekövetkező változásokat, különbségeket,
- a mikroorganizmusok szaporodására az egy fajcsoporton belül kimutatható érzékenységi különbségeket,
- a gyomirtó szerekkel szembeni érzékenység dózisfüggőségét, a gyakorlatban alkalmazott és az azt meghaladó adagoknak a mikroorganizmusok szaporodására kifejtett hatásait,
- az érzékenység, illetve a mikroorganizmusok szaporodásában jelentkező különbségek kimutatásának módszertani lehetőségeit,
- a rövid idejű és a vegetációs időszak alatt, a mikroorganizmusok számában kimutatható azonosságokat és különbségeket,
- a klórszulfuron fenti hatásainak az egyéb herbicidekkel, a tiokarbamátokkal összehasonlított azonosságait és különbségeit, valamint
- a gyomirtó szerek alkalmazását befolyásoló környezeti tényezők közül, egy ipari szennyvízzel való kölcsönhatásokat, hogy

mindezekről a gyakorlat számára is hasznosítható következtetéseket vonhassunk le.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. A herbicidekről általában különös tekintettel a klórszulfuronra

A nagyüzemi mezőgazdasági termeléssel párhuzamosan a peszticidek, közöttük a gyomirtó szerek (herbicidek) használata is fokozódott. Ezekre általában jellemző a talajban történő gyors lebomlás (Kátai et al. 2002), így hatásuk nem minden esetben terjed ki a teljes vegetációs időszakra. Ismert eljárás, hogy az aktív hatóanyaghoz ún. extendereket is adagolnak, ami kiterjeszti a gyomirtó-képességet, de fokozhatja az ún. „nem célzott" (non-target) mikroorganizmusokra kifejtett káros hatásokat is (Kecskés 1976). Annak ellenére, hogy a gyomirtó szerek a bioszférára potenciálisan veszélyesek, alkalmazásuk mégis elengedhetetlen (Stefanovits 1977). A környezetvédelmi szemlélet ugyanakkor megköveteli, hogy többet tudjunk szerepükről, hatásukról és veszélyeikről.

A gyomirtó szerek hatóanyagainak a kémiai összetétele, s ezen keresztül a hatásmechanizmusa is igen eltérő lehet. Csoportosításuk többféle szempontból is lehetséges, pl. hatásmechanizmus, kémiai összetétel, valamint az alkalmazás módja és ideje szerint. A kísérleteinkhez kiválasztott és felhasznált klórszulfuron a szulfonilkarbamidok más néven szulfonilureák kémiai csoportjába tartozó szelektív hatású herbicid. Hatáskifejtésének módja az acetolaktát-szintetáz (ALS) enzim gátlása. Utóbbi vegyületek az elágazó láncú aminosavak (valin, leucin, izoleucin) képződését gátolják (Loch és Nosticzius 2004, Németh és Blaskó 2005, valamint Ertli 2005). A klórszulfuront posztemergensen (kelés után) és preemergensen (vetés előtt) is használják, az adott növénykultúrától és a művelési módtól is függően. A dolgozatban az „új generációs" klórszulfuron mellett összehasonlítás céljából felhasznált „régi típusú" szelektív gyomirtó szerek a tiokarbamátok. Ezek a vegyületek, a lipidek és ezzel egyidejűleg a kutikula viaszrétegének szintézisét, a kloroplaszt zsírsavainak képződését, továbbá a telítetlen zsírsavak (olajsav, linolénsav) keletkezését gátolják (Stefanovits 1977, Loch és Nosticzius 1983, 2004, valamint Németh és Blaskó 2005). A herbicidek kémiai összetételének és hatásmechanizmusának különbözőségéből adódik, hogy a talajbeli viselkedésük és sorsuk, illetve a talaj-herbicid kölcsönhatások alapján csak fenntartásokkal tehetünk az összes herbicidre nézve is érvényes megállapításokat (Stefanovits 1977), ami tovább növeli az aktuális kutatások szükségességét.

A gyomirtók elsődleges hatásai attól függnek, hogy az élőlények életfolyamataiban részt vevő anyagokkal milyen kémiai reakciók következnek be. A szerek élettelen környezetre kifejtett hatásait részben a molekulák fizikai tulajdonságai (szublimáció, illékonyság, párolgás, fotoredukciós érzékenység), részben pedig a kémiai tulajdonságai (adszorpciós képesség, a víz- vagy lipidoldékonyság, a kémiai affinitás, disszociáció stb.) határozzák meg

(Virág 1981). A gyomirtó szerek hatékonyságát és fennmaradását a talajban például számos tényező befolyásolja, így a hőmérséklet, nedvességtartalom, pH, kationcserélő kapacitás, a túlsúlyban lévő ionok milyensége, a szervesanyag-tartalom, a kilúgzódás, a talaj szerkezete és mechanikai tulajdonságai, a különböző kémiai reakciók, a rhizoszféra, a mikrobiológiai aktivitás, a napfény, a termesztett növényfajta, a csírázási mélység, a növény fejlődési állapota (Helweg 1992). A talajban egy hatóanyagtípus esetén is többféle adszorpciós mechanizmus játszódik le (Stefanovits 1977). Ezek között négyféle mechanizmus (protonasszociáció, molekuláris adszorpció, kationadszorpció, kemoszorpció) különíthető el, amelyek különböző arányban fordulhatnak elő. A talajok herbicid-megkötő képességét a talaj összetétele (szerves- és ásványi anyagtartalom, azok minősége), a talaj tulajdonságai (pH, sótartalom, hőmérséklet) és a herbicidek kémiai szerkezete is jelentősen befolyásolják.

A herbicidek transzformációja fiziko-kémiai tényezők hatására, de legtöbbször biológiai aktivitásra vezethető vissza. Ezek az átalakulások közvetlenül vagy közvetve - beépülve a bomló növényi maradványokkal - kerülnek a talajba. Itt a vegyületek fizikai és/vagy kémiai hatásoknak vannak kitéve: adszorbeálódhatnak a talaj kolloidokon, kimosódhatnak, és/vagy volatilizálódhatnak is (Szabó 1989). Számtalan adat igazolja, hogy a talajban olyan átalakulások is végbemennek, amelyeket nem a mikroorganizmusok és nem az enzimek katalizálnak.

A gyomirtó szereket intenzíven használják a mezőgazdaságban, és nagy erőfeszítéseket tesznek a környezetre gyakorolt káros hatásaik csökkentésére. A kultúrákban preemergensen vagy korai posztemergensen alkalmazott növényvédő szerek sorsára és viselkedésére nagy hatást gyakorol a talajszelvény. A talajban a herbicid molekulák eloszlanak a vizes és szilárd fázisokban, mely a viselkedésük sok más aspektusára is hatással van: a szorpció csökkentheti a volatilizáció arányát, a biológiai hozzáférhetőséget (ennek következtében a hatékonyságot, a biológiai lebomlás arányát) és a felszín alatt történő szállítást. Megérteni egy növényvédő szer sorsát a talajban, alapvető szempont a környezeti viselkedésének pontos értékelésére, és létfontosságú az új és a korábbi termékek biztonságos használatára. Ezért is szükséges fejleszteni és érvényesíteni a környezeti állapot jövőbeni értékelésében eszközként felhasználható számítógépes szimulációs modelleket is (Kah és Brown 2006).

2.2. A klórszulfuron és a tiokarbamát herbicidek jellemzői

A napjainkban, forgalomban lévő ún. „új generációs” gyomirtó szerek szelektivitása kifejezettebb, alkalmazási dózisuk pedig általában lényegesen kisebb lehet a korábbiakhoz viszonyítva (Inui et al. 2001), gyomirtó hatásukat mégis képesek az egész vegetációs időszak alatt megtartani (Nagy 1989). Az egyik ilyen, a kísérleteinkhez kiválasztott szulfonilkarbamid

(más néven szulfonilurea) típusú herbicid, a klórszulfuron (kereskedelmi nevén a Glean 75DF) szintén a gyomirtó szerek új nemzedékéhez tartozik.

A klórszulfuront az amerikai Du Pont cég fejlesztette ki a 80-as években a gabonafélék, a len valamint a szójakultúrák hatékony gyommentesítésére (FAO 2003). A korábbi gyomirtó szerekhez viszonyítva általánosságban feleakkora dózist is elegendő alkalmazni, a herbicid-hatás ennek ellenére akár százszoros is lehet. Az ilyen típusú szulfonilkarbamid vegyületek különböznek a már korábban megismert szerektől a nagyfokú herbicid aktivitásukkal, viszonylag rövid felezési idejükkel és kevésbé veszélyesek az emberekre, valamint a melegvérű állatokra. A rendelkezésre álló tudományos információk alapján a klórszulfuron hatóanyagot tartalmazó gyomirtó szereket nem nyilvánították az emberi egészségre és a környezetre veszélyesnek, amennyiben azokat az utasításoknak megfelelően használják. Ugyanakkor más szerzők szerint a nem célzott vízi szervezetek és szárazföldi növények a környezetben ki lehetnek téve a klórszulfuron káros hatásának (Chlorsulfuron Re-evaluation Decision 2008). A viszonylag rövid (6–8 hét) felezési ideje miatt kísérletek során nem károsította a vetésforgó következő növénykultúráját, pl. a burgonyát, ami már az alkalmazási dózis 1/25-ével szemben is érzékeny lehet (Smith 1986). A szulfonilurea származék herbicideket általában gabonafélékben az úgynevezett széles levelű (kétszikű) gyomok ellen használják. Mind a talajban, mind levélen alkalmazva hatékonyak.

Jelenleg húszféle szulfonilurea engedélyezett a világon, és számos egyéb, ebbe a csoportba tartozó hatóanyag kifejlesztésén jelenleg is dolgoznak. Megállapították, hogy azok a növények toleránsak velük szemben, amelyek jól tudják oxidálni a hatóanyagot. Ebben az oxidációban a citokróm P_{450} vesz részt. A toleranciához az is szükséges, hogy az oxidált terméket a növény jól el tudja különíteni, pl. vakuólumban (Loch és Nosticzius 2004).

2.2.1. A klórszulfuron szerkezete, kémiai, fizikai tulajdonságai és toxikussága

A szulfonil-karbamidok csoportjába tartozó szerek molekuláit általában egy egyszeresen szubsztituált benzolgyűrű (lehet heterociklus is), egy több ligandumot tartalmazó di-, vagy triazin és a kettőt összekötő szulfonilkarbamid híd építi fel (Ertli 2005). A Glean 75DF hatóanyaga 75 % klórszulfuron, kémiailag a szulfonilkarbamidok csoportjába tartozik. Általános elnevezése: klórszulfuron. Képlete: $C_{12}H_{12}ClN_5O_4S$, Kémiai elnevezése: 2-klór-/N/4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il/-aminokarbonil/-benzoszulfonamid („Glean” 1986).

A klórszulfuron szerkezeti képletét az Anyag és módszer fejezetben az 5. számú ábrán láthatjuk, fizikai tulajdonságait és oldhatósági jellemzőit pedig az 1. számú táblázat mutatja be.

1. táblázat: A klórszulfuron legfontosabb fizikai tulajdonságai, lebonthatósága és oldhatósága

Tényezők és lebonthatóság		
Fizikai megjelenés	**Fénylebomlás**	**Egyéb lebomlás**
Szilárd, fehér, szagtalan, kristályos anyag	Napfény hatására 1 hónap alatt a növényi szöveten 30 %, talajon 15 %, vizes oldatban 50 %.	Hidrolízis útján, desztillált vízben 4-8 hetes felezési idő pH=5,7-7,0 mellett 20°C-on.
Oldhatóság		
Oldószerek	**Hőmérséklet (^{o}C)**	**Oldódás (g100 ml^{-1})**
Aceton	22	5,7
Hexán	22	kisebb, mint 0,001
Metanol	22	1,4
Metil-klorid	22	10,5
Toluol	22	0,3
Víz (desztillált)	22	100-125 ppm

A klórszulfuron vízben jól diszpergálható granulátum (DF = dry flowable) formájában kerül forgalomba. A nagy hatóanyag-tartalmú forma megkönnyíti a szállítást, raktározást, mérést és a kezelést („Glean 75DF" 1989).

A klórszulfuronnak mind az akut, mind a krónikus toxicitása igen alacsony. Az akut toxicitási értékeket a 2. számú táblázat mutatja be.

2. táblázat: A klórszulfuron toxicitási értékei

Akut toxicitás (mgkg^{-1})			**Krónikus toxicitás** (mgkg^{-1})		
LD_{50} értékek	**Oral**	**Dermál**	**LD_{50} értékek**	**Inhaláció**	**Etetés**
Hím patkány	5545	-	Patkány, 4 óra (mgl^{-1})	> 5,9	-
Nőstény patkány	6293	-	Patkány, 2 év,	-	1000-2500 hatás nincs
Nyúl	-	> 3400 Enyhe kötő-hártya irritáció	Naphal, szivárványos pisztráng, 96 óra (LC_{50})	-	> 250
Kacsa és fürj	> 5000	-	Kacsa és fürj 8 nap (LC_{50})	-	> 5000

Forrás: „Glean 75DF" 1989, FAO 2003, Ertli 2005

A klórszulfuron toxicitási kísérletek eredményei mutagén és terratogén hatást nem mutattak. Madarakra, halakra, vízi és szárazföldi ízeltlábúakra, a földigilisztákra és a talajlakó baktériumokra irodalmi adatok szerint gyakorlatilag nem toxikus, nagyobb testű állatoknál is csak igen nagy, a gyakorlati adagot többszörösen meghaladó koncentrációban okoz elváltozást. A vízi növények azonban érzékenyek lehetnek („Glean" 1986, „Glean 75DF" 1989, FAO 2003, Ertli 2005).

A DuPont (2007) legújabb technikai tájékoztatója szerint a klórszulfuron mérsékelten kötődik a talaj szerves anyagához, az agyaghoz történő adszorpciója viszont alacsony. Ertli (2005) megállapításai szerint semleges pH-n csernozjom talajon a klórszulfuronnak kicsi az adszorpciója, ami összhangban van azzal, hogy poláris vegyületről van szó, tehát kötődésében

a hidrofób kölcsönhatás kevésbé dominál (Shea 1986). Szabadföldön a fotokémiai degradáció jelentéktelen, a mikrobiológiai lebomlás viszonylag jelentősebb az alkalikus talajokban. A kémiai hidrolízis fontos szerepet játszik a klórszulfuron degradációjában, de 7,5 és 8 pH értéknél lassú lefolyású. A pH érték csökkenésével növekszik a hidrolízis mértéke. A szulfonilurea híd a hidrolízis folyamán inaktív termékekre bomlik. A klórszulfuron felezési ideje a talajban, laboratóriumi körülmények között, 25 ºC-on 46 nap, és függ a talaj pH értékétől. Alacsonyabb (savanyúbb) pH értékű talajokban rövidebb, magasabb (semleges-közeli) pH értéknél pedig hosszabb a felezési idő. Laboratóriumi adszorpciós-deszorpciós kísérletek szerint a klórszulfuron mobilitása is mérsékelt a nagyobb pH értékű talajokban, míg a 6-nál kisebb pH értéknél a mobilitás csökken. A vizsgálatok szerint a semleges közeli pH értékű talajra 20 gha^{-1} dózisban kipermetezett klórszulfuron akár másfél éven át is a talaj szántott rétegében maradhat 30 cm mélységig (DuPont 2007).

Ervio et al. (1994) megállapították, hogy homok-, agyag- és szerves talajon 4 gha^{-1} dózis klórszulfuron fitotoxicitása 0-5 cm mélységben átlagosan egy hónapig megmaradt, míg a 12 gha^{-1} koncentráció legalább 1 hónapig, de általában 1 évig fitotoxikus volt. Thirunarayanan et al. (1985) szerint a klórszulfuron adszorpciója négyféle talajban, különböző pH értékeknél (6,2 és 8,1 között) lassú volt. A felezési idő 20 ^{o}C-os hőmérsékleten, 6,2 pH értéknél 88,5 nap volt, 8,1 pH-nál pedig 144 nap. A nedvességtartalom és a hőmérséklet csökkenésével a klórszulfuron lebomlása lassabbá vált. Sarmah et al. (2000) szerint a csapadék és az öntözés mennyisége is hatással van a szerre. Az elsősorban agyagos talajon végzett vizsgálatok szerint a klórszulfuron aerob körülmények között könnyen lebomlik a talajban (20-70 nap), de anaerob körülmények között (mélyebb talajrétegek) bomlása igen lassú folyamattá válik (Roberts 1998, Ertli 2005). Mások szerint a szulfonilkarbamid herbicidekre csak kevésbé jellemző az illékonyság és a fotodegradáció. Szárazföldi klimatikus viszonyok között néhány komponens perzisztenciája igen hosszú (100 nap körüli), megnövelve ezáltal a kioldódást és a következő kultúra károsodásának kockázatát. A talajban nagyfokú mobilitással rendelkeznek, és lebomlásukat megkönnyítik a savas körülmények, valamint a nedvesség és a talaj szervesanyag-tartalma (Walker és Welch 1989, Blacklow és Phelough 1992, Omer et al. 1992, Hemmanda et al. 1994, Ismail et al. 1996, Pons és Barriuso 1998). Fresno és munkatársainak (2005) kísérletei során a klórszulfuron fotokatalitikus lebomlása hatékonyabb volt az Sn^{4+} iont tartalmazó TiO_2 rácsban, míg az elkülönített SnO_2 fázis a szer lassúbb lebomlását idézte elő a tiszta titán-dioxiddal való összehasonlításakor.

2.2.2. A klórszulfuron szelektivitása a gyom- és kultúrnövényekre és a növényi rezisztencia

A szulfonilurea gyomirtó szerek szelektivitása egyrészt fiziológiai, másrészt a növényi tolerancián alapul, mely a hidrolízis és a glükózhoz való konjugáció útján történő detoxikációs folyamatokból áll (Ray 1984, Rost 1984, Van Dyck és La Rossa 1986, Zanardini 2002). A klórszulfuronra érzékeny fiatal gyomnövények növekedése már a permetezés után 2 órával megáll, melyet a sejtosztódás megszűnése, továbbá a gyökér- és hajtáscsúcsok növekedésének leállása okoz. A látható tünetek megjelenése a körülményektől függően 1-3 hétig tart. Kezdeti tünet az elszíneződés, a legfiatalabb növények enyhe klorózisa. Néhány növényen bíbor elszíneződés lép fel. A későbbi nekrózis a növekedési pontokon kezdődik. A legtöbb érzékeny növény végül elpusztul, míg mások törpék maradnak, s nem hoznak magot. Nedves és meleg körülmények ezt a folyamatot gyorsítják, viszont száraz és hideg időjárás késlelteti azt („Glean 75DF" 1989). A vegyülettel szemben ellenálló búzában a szer felezési ideje 2-3 óra. A növények klórszulfuron ellenállósága azon alapul, hogy a növényi szövetek a herbicidet átalakítják nem mérgező termékké (Eleftherohorinos 1987). Minden ellenálló szövetben végbemegy a klórszulfuron hidroxilezése, ezután a hidroxilezett metabolit a glükóz molekulákkal konjugálódik. A fűfélékben azonban a metabolizmusba bekapcsolódik a fenilgyűrű, vagy a heterociklus oldallánca a szélesebb levelű fajtákban. A növények hormonok által szabályozott növekedési szakasza nem érzékeny a klórszulfuronra, a növényi sejtek osztódási folyamata ugyanakkor rendkívüli szenzitivitást mutat. Megállapították, hogy a herbicid nincs közvetlen hatással a mitózisra és a DNS szintézisre, a gátló hatás a sejtosztódásra egy specifikus RNS blokkolása révén valósul meg. Ez a folyamat nagyon gyorsan lejátszódik, és már nagyon alacsony herbicid koncentrációnál megvalósul. A szokásosnál nagyobb dózisokban a klórszulfuron gátolhatja a fotoszintézist, az osztódó és intenzíven növekvő merisztéma sejtekben. A valin és az izoleucin aminosavak szintéziséért felelős acetolaktát-szintetáz enzim gátlása következtében a sejtosztódás folyamata megáll („Glean 75DF" 1989).

A gabonafélékben és len kultúrában előforduló gyomok klórszulfuronnal történő szelektív irtására a leghatékonyabb módszernek a gabonatáblák vetés utáni kezelése bizonyult két levelestől a növekedési fázisig. A gyomirtó szer alkalmazási dózisa függött a kezelés időpontjától, a gyomnövények fajtáitól és a vetésforgótól. E tényezőktől függően a dózis igen tág határok között mozoghat, 5 gha^{-1}-tól 70 gha^{-1}-ig („Glean 75DF" 1989). Preemergens vagy igen korai posztemergens kezelés esetén 15-20 gha^{-1} hatóanyag-tartalomnál az egyszikű gyomnövények közül érzékenyek az *Apera spica-venti, Lolium multiflorum.* Mérsékelten érzékenyek a *Phalaria* spp., *Alopecurus myosuroides, Poa annua, P. trivialis.* Ellenállóak az

Avena spp., *Bromus* spp. Kétszikű gyomok ellen 15 gha^{-1} hatóanyag dózisban szikleveles kortól 4 leveles korig érzékenyek voltak az *Anthemis arvensis, Capsella bursa-pastoris, Chenopodium album, Galeopsis tetrachit, Matricaria matricoides, Myosotis arvensis, Papaver rhoes, Polygonum persicaria, Sinapis arvensis, Senecio vulgaris, Sonchus asper, Stellaria media, Chrysanthemum segetum, Galium aparine, Lamium amplexicare, L. purpureum, Ranunculus repens, Veronica persica.* Mérsékelten érzékenyek az *Aphanes arvensis, Polygonum aviculare, P. convolvulus, Rumex obtusifolius, Sonchus arvensis, Veronica hederefolia, Cirsium arvense, Viola tricolor, V. arvense.* Ellenállóak a *Fumaria officinalis, Solanum nigrum* („Glean 75DF" 1989, Lefebre et al. 1983). Kozaczenko (1988) szerint is a tavaszi árpában a kétszikű gyomok ellen leghatékonyabb herbicidnek a Glean bizonyult 10 gha^{-1} dózisban. Hasonló jó eredmény mutatott ki Donald (1987) amikor a talajra permetezett klórszulfuron *Cirsium arvense* gyökérhajtásának növekedésére gyakorolt vizsgálata során a szer 9-56 gha^{-1} dózisú alkalmazásánál a *C. arvense* jól fejlett üvegházi példányainak gyökérnövekedése leállt. Ezzel szemben Riebl és Worsham (1987) a *L. multiflorum* gyomnövény szántóföldi és üvegházi irtásánál 0,9 $kgha^{-1}$ dózisú Diklofop 14,8 gha^{-1} és 12,8 gha^{-1} hatóanyag tartalmú klórszulfuronnal kombinációban történő alkalmazásakor megállapították, hogy a *L. multiflorum*-mal szembeni gyomirtó hatás a szántóföldön 27 %-kal lecsökkent, az üvegházi körülmények között pedig a gyomnövény zöldsúlya majdnem a kétszeresére nőtt. Marczewska (2006) szerint a klórszulfuron aktív hatóanyaga az őszi búzára nézve rendkívül szelektívnek bizonyult. A 67,5 gha^{-1} koncentráció nem volt káros az őszi búza növekedésére és hozamára, azonban ez a dózis hatástalannak bizonyult az *Apera spica-venti* gyomnövény irtásában. A szántóföldön az őszi búza hosszú idejű monokultúrájában a klórszulfuron használatával az *A. spica-venti* aktív hatóanyaggal szemben rezisztens biotípusait találták meg. Az üvegházi kísérletekben ezek a biotípusok még a 32-szeres dózis alkalmazásakor sem szenvedtek el károsodást. Ez egyértelműen bizonyította a klórszulfuronnal szembeni rezisztenciát. Ehhez hasonlóan Marczewska et al. (2006) másik tanulmányuk során az aminosav analízisekor igazolták a biotípus rezisztenciáját. A rezisztens növényben a valin, leucin és az izoleucin aminosavak koncentrációjának növekedése következett be összehasonlítva a szerrel nem kezelt gyomnövényekkel, melyek továbbra is érzékenyek voltak a klórszulfuronra. Ezzel szemben más eredményeket kapott Komarov (1987), aki szerint a szer a kétszikű gyomnövények 92-98 %-át elpusztította len kultúrában. Egy növényfaj kétféle módon is rezisztenssé válhat a szulfonilkarbamid herbicidekre: 1) az ALS enzim szerkezete úgy alakul át, hogy a szulfonilurea molekula nem tud hozzá kapcsolódni; 2) a növény citokróm P_{450} nevű oxidáz enzime hatástalanná teszi a hatóanyagot, azaz lebontja (Ertli 2005)

Több szerző is beszámol a diklófop-metil és a klórszulfuron okozta keresztrezisztenciáról (Ashley et al. 1984, Christopher et al. 1991 és Grey et al. 2003, Bond et al. 2005). A *Lolium* spp. gyomnövények azon példányai a diklófop-metilre rezisztenssé váltak, ahol azelőtt a klórszulfuront hosszabb ideig alkalmazták (Kuk Young-In et al. 2000). A vizsgált diklófop-metil rezisztens *Lolium rigidum* biotípusok közül megfigyeltek olyan példányokat, melyek nagyfokú rezisztenciát mutattak a klórszulfuronra is (Matthews et al. 1990, Christopher et al. 1991 és Häusler et al. 1991, valamint Kotoula-Syka et al. 2000). Grey et al. (2003) a *L. multiflorum*-nál észleltek keresztrezisztenciát. Ashley O' Sullivan (1984) az *Avena fatua* irtásának csökkenéséről számolt be a diklófop-metil és a klórszulfuron együttes alkalmazásakor.

A Du Pont cég üvegházi körülmények között meghatározta a szernek azt az aktív hatóanyagtartalmát $kgha^{-1}$ mennyiségben, amely preemergens kezeléskor és a talajba való bedolgozáskor 50 %-ban károsítja a kultúrát. Ezt a mennyiséget GR 50-nel (Growth Reduction = növekedés csökkenés) jelölték. Az értékeket a 3. számú táblázat mutatja be.

3. táblázat: A kultúrnövények viszonylagos klórszulfuron érzékenysége az 50 %-os növekedéscsökkenést (GR 50) okozó dózisokkal

Kultúrnövény	**GR 50 - a klórszulfuron aktív hatóanyaga** gha^{-1}
Lencse	0,25
Cukorrépa	0,38
Kukorica	0,94
Cirok	1,10
Napraforgó	2,10
Repce	2,50

A kultúrnövények közül a legérzékenyebbek voltak a lencse és a cukorrépa, míg a kukorica és a cirok közepesen érzékenynek bizonyult. A napraforgó és a repce pedig a felsorolt növényekhez viszonyítva kevésbé szenzitív („Glean 75DF” 1989). Anderson (1987) szerint a klórszulfuron 18 gha^{-1} dózisa 13 cm-nél magasabb növekedési fázisban nem károsította a *Carthamus tinctorius* kultúrnövényt. Szintén Anderson (1986) a klórszulfuron tavaszi búza *(Triticum aestivum)* magokra gyakorolt hatásának vizsgálatakor megállapította, hogy a tavasszal vetés után alkalmazott szer 18-, 35-, 70 gha^{-1} hatóanyag koncentrációban az egyik búzafajtánál csökkentette a termésátlagot, ugyanakkor nem gátolta a magok csírázását. Más eredményekkel szolgált Mayer és Bergen (1989), akik szerint a 125 gha^{-1} dózisban kijuttatott klórszulfuron 25 gha^{-1} szermaradványa még 4 évvel a kezelés után is toxikusnak bizonyult a lucernára nézve, a növény 50 %-os gyökérsúly csökkenését okozva. A szer már

0,1 ngg^{-1} alatti koncentrációban csökkentette a lucerna és a lencse növekedését. Szintén károsító hatásról számolt be Eleftherohorinos (1987), aki szerint a klórszulfuron perzisztenciája, mobilitása és fitotoxicitása a dózis emelésével megnő. Coyner et al. (2001) hínáron végzett négyhetes kísérleteik során is megállapították a klórszulfuron krónikus toxicitását.

2.2.3. A tiokarbamátok típusai és tulajdonságaik a klórszulfuronhoz hasonlítva

Az első tiokarbamát herbicidet, az EPTC-t 1954-ben az USA-ban szintetizálták, és 1962-ben már széles körben alkalmazták is, tehát jóval korábban mint az 1980-as évek közepétől elterjedt szulfonilkarbamid származékokat, köztük a klórszulfuront („Glean 75 DF" 1989).

Az EPTC nagyfokú oldhatósággal rendelkezik, alkalmazását jól előkészített és megművelt aprószemcsés talajba, száraz földfelszínre kijuttatva és azonnal beledolgozva javasolják. Ezzel a kezeléssel együtt is jól fejlődik a napraforgó, burgonya, bab, lucerna, lóhere cukorrépa, mogyoró és a len, ugyanakkor körülbelül negyvenféle egynyári fűféle és kétszikű gyom és néhány évelő fűféle is, jellemző hajtás deformáció után elpusztul. Ugyanakkor a klórszulfuront elsősorban a gabonafélék, a len, valamint a szója gyommentesítésére fejlesztették ki, a burgonya, cukorrépa vetemények kifejezetten érzékenyek e szerrel szemben, a kukorica közepesen, a napraforgó pedig kevésbé szenzitívek („Glean 75DF" 1989). A lucernára nézve a szermaradvány még 4 évvel a kezelés után is toxikusnak bizonyult (Mayer és Bergen 1989).

A 21°C-nál magasabb hőmérsékleten az EPTC sokáig ártalmas volt a kukorica kultúrákban, de ezt az igen nagy hátrányát 1964-ben antidótumok hozzákapcsolásával sikerült kiküszöbölni. Eleinte a kukoricára *(Zea mays L.)* gyakorolt fitotoxikus hatása miatt elsősorban lucerna *(Medicago sativa L),* bab *(Phaseolus vulgaris L.)* és a burgonya *(Solanum tuberosum L.)* kultúrákban alkalmazták. A vernolát és a cikloát ezek mellett a szója (*Glycine max L./Merr.)* és a cukorrépa *(Beta vulgaris L.)* kultúrák gyomirtására szolgált. 1972-ben már sikerült olyan vegyületeket előállítani, amelyek megszüntették az EPTC kukoricára gyakorolt fitotoxikus hatását, ezért a tiokarbamátok alkalmazása egyre inkább elterjedt a kukorica gyomirtásában is, főleg olyan gyomnövények ellen, amelyek más herbicidekkel szemben ellenállóknak bizonyultak, (pl. *Panicum miliaceum*, *Cyperus esculentus*).

A tiokarbamát származékok a kutikula viaszrétegének szintézisét, a kloroplaszt zsírsavainak képződését, a telítetlen zsírsavak (olajsav, linolsav) keletkezését egyidejűleg gátolják. Ezzel szemben a klórszulfuron az acetolaktát-szintetáz enzim gátlásáért felelős. Az EPTC gyomirtó szer ellenszere nagyon hasonló, bár nem tiokarbamát származék. A

kultúrnövényre gyakorolt hatását csökkenti, de a gyomok elleni toxicitást fokozza az R-25788 jelű, N,N-diallil-2.2-diklór-acetamid kémiai elnevezésű adalékanyag (antidótum). Az EPTC a kultúrnövényt is károsítaná, a fenti antidótum nélkül. A herbicid és az antidótum (az EPTC esetében 12:1 arányú) keverékét juttatva ki, azonban jó gyomirtó hatást lehet elérni a kukorica károsodása nélkül. A szulfonilurea származékoknál köztük a klórszulfuron esetében nem alkalmaznak antidótumokat az egyes kultúrákban okozott fitotoxikus hatás mérséklésére. Az EPTC-hez hasonló, gyűrűs alkotórészt nem tartalmazó két herbicid a vernolát és a butilát. A vernolátot és a butilátot is a kukorica gyomirtására alkalmazzák, a vernoláttal együtt az R-25788 antidótumot szintén szokták alkalmazni. A gyűrűs származékokat más kultúrnövény védelmére használják. A molinátot a rizs vegyszeres gyommentesítésére alkalmazzák. A cikloát a cukorrépa vetés előtti gyommentesítésére használatos. Az EPTC-hez hasonló, nyílt láncú, gyűrűs alkotórészt nem tartalmazó két herbicid a vernolát és a butilát. A vernolát kémiai elnevezése: S-n-propil-N,N-di-n-propil-tiokarbamát, a butiláté S-etil-N,N-diizobutil-tiokarbamát A vernolátot és a butilátot is a kukorica gyomirtására alkalmazzák, a vernoláttal együtt az R-25788 antidótumot szintén alkalmazzák. A gyűrűs származékokat más kultúrnövény védelmére használják. A molinátot a rizs vegyszeres gyomirtására alkalmazzák. A molinát kémiai elnevezése: S-etil-N,N-hexametilén-tiokarbamát. A cikloát a cukorrépa vetés előtti gyomirtására használatos. A tiokarbamát herbicidek adatait és szerkezeti képleteit az Anyag és Módszer fejezet 5. számú táblázata mutatja be.

A fentiekből is látszik, hogy a szulfonilkarbamidok, köztük a klórszulfuron kémiailag alapvetően különböznek a tiokarbamátoktól, méghozzá abban, hogy a klórszulfuron vegyülete benzol- és triazingyűrűt is tartalmaz szulfonilkarbamid híddal összekötve, míg utóbbi herbicidekre ez nem jellemző. A molinát és a cikloát egyaránt tartalmaz gyűrűs szerkezetű részt, de ezek közül egyik sem aromás gyűrűs szénhidrogén. Ugyanakkor a szulfonilurea gyomirtó szereknek is számtalan szerkezeti módosulata van, melyeket szintén gyommentesítésre használnak (Loch és Nosticzius 2004). Egy-egy szerkezeti eltérés más-más újabb, a többi herbicidétől eltérő tulajdonságot rejt. Éppen az indokolta a tiokarbamátok kísérletekbe történő bevonását, hogy a szulfonilkarbamidokkal szemben régi, korszerűtlen gyomirtó szerek, mind kémiai szerkezetükben, mind pedig alkalmazásukban jelentősen különböznek az új generációs herbicideknek számító szulfonilureáktól. Vizsgálataink elvégzését követően az Európai Uniós csatlakozás követelményeinek eleget téve a tiokarbamát származékokat a molinát kivételével Magyarországon 2006. után fokozatosan kivonták a forgalomból (89/2004. (V. 15.) FVM rendelet). Ez a tény azonban nem zárja ki, hogy a szermaradványok még hosszú ideig megtalálhatók legyenek a talajainkban és hatást gyakoroljanak az élőlényekre. A klórszulfuron a többi szulfoniulurea herbiciddel együtt

napjainkban is forgalomban van Magyarországon és az Európai Uniós országokban (89/2004. (V. 15.) FVM rendelet).

Gray és Wierich (1968) a talajfelszínre kipermetezett tiokarbamátok 24 óra alatti párolgási sebességét hasonlította össze, melynek eredményeképpen a párolgás miatti veszteség a következő sorrendben csökkent: EPTC, vernolát, molinát, pebulát, cikloát. A párolgás alacsony hőmérsékleten jelentéktelen volt. Hasonló eredményekről számolt be Wilson (1984), aki a következő párolgási sorrendet állapította meg: butilát, EPTC, vernolát, cikloát. A tiokarbamátokkal összehasonlítva a szulfonilkarbamid herbicidekre csak kevésbé jellemző az illékonyság (Gray és Nohynek 1978, valamint Walker és Welch 1989, Blacklow és Phelough 1992, Omer et al. 1992, Hemmanda et al. 1994, Ismail et al. 1996, Pons és Barriuso 1998).

Nalewaya et al. (1964) a ^{14}C izotóppal megjelölt EPTC megkötésének és transzlokációjának lucerna kultúrában történő tanulmányozása során a fiatal szövetekben, növényekből kivont aminosavakban és cukorkivonatokban a 14-es szénizotóp tartalom növekedését állapították meg. Yamaguchi (1961) megfigyelései szerint az EPTC a gyökéren való felszívódás után a levelek minden részébe eljutott. Az árpa ez esetek nagy többségében csak a gyökerén keresztül vette fel a herbicidet, de a levélen való felszívódás korlátozott volt. Más növények a gyökéren és a hajtásokon keresztül is egyforma mértékben kötötték meg a szert. Ezeknél a növényeknél a gyökéren és a levélen keresztül való felvételt mind felfelé, mind lefelé a klórszulfuron transzlokációja követi (Lefebre et al. 1983).

Az EPTC-re a legérzékenyebbnek bizonyult az árpa, a búza pedig érzékenyebb volt a zabnál. Dawson (1963) az *Echinocheoa crus galli* morfológiai változásainak tanulmányozásakor bebizonyította, hogy az EPTC kis dózisa a sziklevelek felcsavarodását okozza, a nagyobb dózis pedig minden levélnél deformációt vált ki. Ashton (1963) megállapította, hogy ez a herbicid tipikus növekedésgátló, amelynél már a növekedés korai szakaszában megfigyelhető a toxikus hatás, amikor a fotoszintézis még nagyon gyenge. Gentner (1966) szerint az EPTC a koncentrációtól függően gátolja a káposzta leveleinek felszínén lévő viaszréteg kialakulását. A herbicid csak azokat a leveleket károsította, amelyek a permetezés után fejlődtek ki. Still et al. (1970) a borsó epikutikuláris viaszréteg képződésének EPTC okozta nagymértékű gátlásáról számoltak be. A klórszulfuronnál már a kezelést követően 2 órával megáll a szerre érzékeny fiatal gyomnövények növekedése. A sejtosztódás, továbbá a gyökér- és hajtáscsúcsok növekedése is leáll. A legtöbb érzékeny gyom végül elpusztul, míg mások nem fejlődnek tovább, s nem hoznak magot. Nedves és meleg körülmények ezt a folyamatot gyorsítják, míg a száraz és hideg időjárás késleltetik („Glean 75DF” 1989).

A tiokarbamát származékok alkalmazására erősen hatnak olyan tényezők, mint a gyomirtó hatásideje, a herbicid 21,5 ^{o}C-os hőmérséklet felett jelentkező fitotoxikus hatása. Gray és Nohynek (1978) szerint a tiokarbamátok inaktiválódását idézhetik elő olyan tényezők, mint a talaj nagy mikrobiológiai aktivitása, a trágyázás, a túl magas vagy túl alacsony talajnedvesség tartalom, a levegő alacsony páratartalma, a talajba történő rossz bedolgozás és végül az alacsony herbicid dózis. A szulfonilureák savas, nedves és szerves anyagban gazdag körülmények között bomlanak le könnyebben (Walker és Welch 1989, Blacklow és Phelough 1992, valamint Omer et al. 1992, Hemmanda et al. 1994, Ismail et al. 1996, Pons és Barriuso 1998). Fang et al. (1961) az elvégzett kísérletek eredményeiből megállapították, hogy az EPTC jól adszorbeálódik száraz talajon és egyenes arányosság van a talaj szerves anyag tartalma és a párolgás között. Ugyanakkor a klórszulfuron mérsékelten kötődik a talaj szerves anyagához, az agyaghoz történő adszorpciója pedig alacsony (DuPont 2007) a talajban könnyen mobilizálódhatnak. Danielson et al. (1961) a rozs kultúrát felhasználva olyan következtetésekre jutottak, hogy a viszonylag magas szerves anyag tartalom és a száraz idő megnövelik az EPTC perzisztenciáját. Koren et al. (1968) és Danielson (1964) rámutattak arra, hogy a perzisztenciában fontos szerepet játszik a talaj mikrobiológiai aktivitása. Az EPTC ajánlott dózisának a talajban való átlagos tartózkodási ideje 4-6 hét. Számos kísérlet folyt, hogy ezeket a vegyületeket ne párolgó alakban, hanem granulátum formájában állítsák elő. A különböző butilát és EPTC formátumok hatásidejének és aktivitásának összehasonlításakor megállapították, hogy a butilát granulátum alkalmazásakor 95 Lha^{-1} vízzel kijuttatva a hatásidő lecsökkent. Ezzel szemben szárazföldi klimatikus körülmények között a klórszulfuron igen hosszú perzisztenciával rendelkezik (100 nap körüli), megnövelve ezáltal a kioldódást és a következő kultúra károsodásának kockázatát (Walker és Welch 1989, Blacklow és Phelough 1992, Omer et al. 1992, valamint Hemmanda et al. 1994, Ismail et al. 1996, Pons és Barriuso 1998).

2.3. A klórszulfuron és más herbicidek biodegradációja

A herbicidek mikroorganizmusokra gyakorolt hatását és ezen belül a mikroszervezetek herbicid-érzékenységét döntően befolyásolja, hogy az adott mikroorganizmus törzs, faj vagy csoport képes-e transzformálni, ill. lebontani a gyomirtó szert, tudja-e tápanyag- és energiaforrásként hasznosítani. Az értekezésben ezért fordítottunk nagy hangsúlyt a mikrobiológiai lebontó folyamatok részletes tárgyalásának. Kísérleteink során feltételeztük, hogy azon mikroorganizmusok, melyek képesek a megadott herbicidet degradálni, kevésbé érzékenyek az adott szerre. Az alábbiakban részletesen elemezzük a herbicidek, azon belül a klórszulfuron transzformációját és lebomlási folyamatait.

A herbicidek transzformációja részben tisztán fiziko-kémiai tényezők hatására, de legtöbbször a biológiai aktivitásra vezethető vissza. Ezek az átalakulások főleg a talajokban mennek végbe, ahová vagy közvetlenül, vagy a bomló növényi maradványokkal, azokba beépülve, közvetve kerülnek. Itt a peszticid molekulák a talaj kolloidális komplexumában adszorbeálódhatnak, kimosódhatnak, volatizálódhatnak vagy fotodekompenzáción eshetnek át (Szabó 1989, 2008). A gyomirtó szerek metabolizmusa a talajokban rendkívül bonyolult, és e folyamatban szinte lehetetlen a biológiai és fiziko-kémiai tényezőket egymástól elválasztani, mivel ezek egymással összefonódva, és együttes hatásukban mindig változó arányokkal jellemezhető dinamikával hatnak (Bollag 1974, Szabó 1989, 2008). A herbicidek mikrobiológiai transzformációjának vagy inaktiválásának Bollag (1974) szerint négy lehetősége van: i) a gyomirtó szer szubsztrátként szolgál, ii.) kometabolizmusnak lehet alávetve, vagyis a mikroszervezet ugyan transzformálja, de abból energiát nem merít, iii.) a teljes herbicidmolekula vagy annak egy köztiterméke valamely természetesen előforduló vegyület molekulájával konjugálhat, iv.) a gyomirtó szer beépül és felhalmozódik a szervezetben.

A herbicidmolekulák megváltoztatásának számtalan lehetősége van, és hogy az adott körülmények között melyik megy majd végbe, az attól is függ, hogy milyen faj vagy változat melyik törzsének hatására valósul meg. Az egyes peszticidek transzformációja valójában még ugyanannál a törzsnél sem mindig egy- és ugyanazon mechanizmus szerint történik és különösen nem akkor, ha az átalakítás a sokfajú, összetett talajmikrobióta részvételével megy végbe. Ugyanaz a vegyület különböző utakon metabolizálódhat és ennek megfelelően eltérő produktumok jöhetnek létre belőle. A potenciálisan veszélyt jelentő anyag teljes eliminálásánál a lebontás kivitelezésében elsősorban azok a mikroorganizmusok jöhetnek számításba, amelyek a kérdéses anyagot képesek egyedüli szén- és energiaforrásként hasznosítani. Ily módon a herbicidek alkotórészeikre bontva az ismert oxidatív ciklusokba kerülhetnek, és mind energetikai kihasználásuk, mind ásványosításuk megvalósul. A kometabolizmus során a mikroszervezetek által kiváltott reakciók hatására a herbicidmolekula megbontása nem megy végbe, azonban toxicitása csökkenhet, megszűnhet, vagy még növekedhet is, és esetleg további degradálásra már alkalmassá válik (Szabó 1989, 2008).

A herbicid-anyagcsere enzimreakciói közé az oxidációs folyamatok (hidroxilezés, dealkilezés, az éterkötés hasítása, az aromás gyűrű oxidációja, β-oxidáció, epoxidáció és szulfoxidáció), redukciós reakciók, hidrolízis, dehalogénezés és a szintetikus reakciók tartoznak (Bollag 1974). Ezek közül csak az értekezésben felhasznált herbicidek lebontása szempontjából döntő fontosságú reakciókat részletezzük.

A herbicidek gyakori elsődleges átalakulásai közé tartozik, amikor a vegyületbe egy hidroxilcsoport beépül, és így biológiailag még aktívabb, polárisabb, vízben még oldékonyabb vegyület jön létre. Az aromás gyomirtó szerek esetében a hidroxilezés fontos lépés ahhoz, hogy a molekulába poláros csoport épülhessen be és előfeltétele a gyűrűhasítással végbemenő további degradációnak (Szabó 1989, 2008, Zanardini et al. 2002).

Számos herbicid alkil szerkezeti elemeket tartalmaz, melyek egyúttal a kívánt toxikus hatásért felelős aktív csoport szerepét tölthetik be. A folyamat a gyomirtó szerek detoxikációja felé az első lépést jelentheti, ezért kiemelkedő fontosságú. Az oldalláncok alkilcsoportjai gyakran a mikrobiológiai reakciók első célpontjai. Sok ciklusos gyomirtó szernek a teljes lebomlása csak az aromás gyűrű hasításával következhet be. Számos mikroszervezet az aromás vegyületek oxidációja során létrejött alifás vegyületet intermedier anyagcseréjében hasznosítja.

A benzolgyűrű enzimatikus hasításának az előfeltétele a dehidroxilezés. A szulfonil-karbamid herbicideknél a hidrolízis fontos szerepet játszik azok eliminációjában. Hidrolízis enzimatikus és kémiai úton is kezdeményeződhet, mely során a lipofil vegyület hidrofillé, vízoldékony vegyületté alakul. A peszticidek mikrobiológiai lebontásában részt vevő hidrolitikus enzimek szerepében amidázok, észterázok, nitrilázok és foszfatázok működnek közre, melyek egyrészt savat, másrészt alkoholt vagy amint hoznak létre (Bollag 1974). Az egyidejűleg észtereknek és amidoknak is tekinthető karbamátok különös esetet képviselnek, mivel az intermedier karbinsav és szénsav nem stabil vegyületek, hanem szén-dioxid felszabadulása mellett spontán degradálódnak (Szabó 1989, 2008, Bollag 1974).

A herbicidek biológiai lebomlásának mértéke függ azok sajátos molekuláris szerkezetétől. Azok a szerek, melyek hidrolitikus reakcióknak közvetlenül alávethetők, a talajokban viszonylag rövid életűek, míg azok, amelyek az első reakció alkalmával dealkileződnek, sokkal ellenállóbbak. A herbicidekben bizonyos kötések hasítása viszonylag könnyebben kivitelezhető, és a hasítás általában bárhol történik, a molekula egyéb jellemvonásaitól, sőt még a környezeti feltételektől is függ. Előfordul, hogy a molekulaszerkezet jelentéktelennek tűnő megváltozása nagy eltéréseket idézhet elő a biotranszformációval szembeni érzékenységben (Berger et al. 1998, Brashi et al. 2000, Zanardini et al. 2002) .

Poláris csoportok beépülése a mikrobiológiai rendszereknek nagymértékű támadáspontot biztosíthat, míg a halogén vagy alkilszubsztitúciók a molekulát nagyon ellenállóvá tehetik. A szerves vegyületek lebontásának mértéke függ a szubsztitúciók helyzetétől, számától és típusától. A vegyület molekulaszerkezete határozza meg, hogy melyik tényező kerül előtérbe a fenti három közül. Szubsztituensek bevezetése a

benzolgyűrűre ugyancsak erősen befolyásolja a biodegradálhatóságot. A szubsztituenseknek az aromás gyűrűn elfoglalt pozíciója, kémiai tulajdonságai és a molekula lebonthatósága között szoros összefüggések vannak (Berger és Wolfe 1996, Brashi et al. 2000, Zanardini et al. 2002). Arra is van példa, hogy a herbicidmolekula egyik része könnyen bontható, míg a másik nagyon ellenálló. A gyomirtó szereknek ellenállása az ásványosítással szemben függ a környezeti tényezőktől, melyek a mikroszervezeteket aktivitásuk kifejtésében gátolhatják, vagy serkenthetik. Erősen savanyú vagy szélsőségesen alkalikus talajokban pl. a biodegradációs folyamatok lelassulnak, vagy esetleg teljesen le is állhatnak. Az egyes herbicidek lebonthatósága talajtípusonként is nagyon eltérő lehet (Joshi et al. 1985, Berger és Wolfe 1996, Szabó 1989, 2008, Zanardini et al. 2002, Boschin 2003).

Racskó és Budai (2004) szerint ma már számos olyan mikroorganizmust ismerünk, amely aerob vagy anaerob úton képes a talajba juttatott herbicidmolekulák teljes vagy részleges lebontására, s ezzel inaktiválására. A folyamatban résztvevő élő szervezetek első sorban az algák, baktériumok, gombák, valamint az *Actinomyces*-ek és ezen belül a *Streptomyces*-ek (pl. *Micoplana* spp., *Nocardia* spp., *Streptomyces* spp.) törzséből kerülnek ki. Tevékenységük eredményeképpen többnyire a herbicidmolekula nem teljes degradációja, hanem annak csak bizonyos mértékű átalakítása következik be. Ezzel egyidőben a hatóanyag molekula biológiai hatása megszűnik, vagy új, az előbbitől lényegesen eltérő biológiai hatás jön létre.

A biodegradáció felgyorsulhat a herbicidek ismételt alkalmazása következtében is. Tapasztalatok alapján elmondható, hogy egy-egy mikroorganizmus faj általában csak egyféle gyomirtószer-molekula elbontására specializálódik. Előfordulhatnak azonban olyan mikroorganizmusok is, amelyek több, egymástól szerkezetileg különböző növényvédő szer-hatóanyag inaktiválásában is részt vesznek. Nagy a valószínűsége annak is, hogy egyes peszticideket több mikroorganizmus faj szinergista módon lépésről-lépésre képes lebontani (Racskó és Budai 2004).

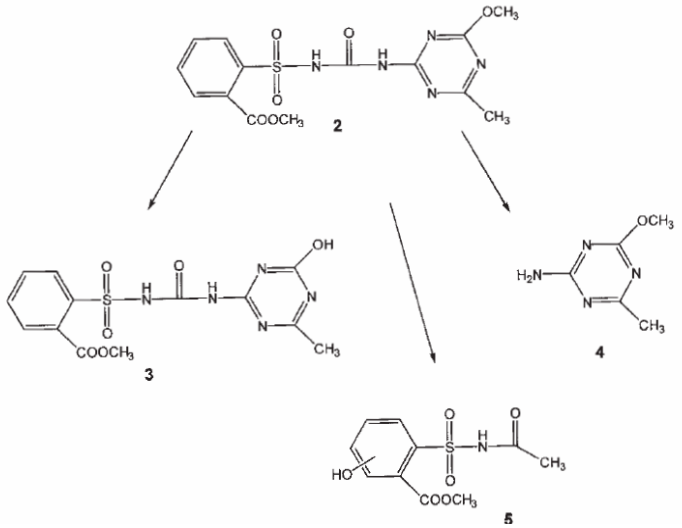
2.3.1. A mikroorganizmusok szerepe *in vitro*

Zanardini et al. (2002) a klórszulfuron és a metszulfuron-metil biológiai és kémiai lebomlásának vizsgálatakor a szereken szaporodni képes, a herbicidekkel kezelt talajmintákból izolált, két mikroorganizmusból álló konzorciumot elemezték. A B2 jelű *Pseudomonas fluorescens* törzs kometabolizmusban a metszulfuron-metil 21 %-át, a klórszulfuronnak pedig a 32 %-át képes volt bontani a dúsított táptalajban. Mindegyik herbicidnél - a két lebomlási útnak megfelelően a szulfonilurea híd szakadásában szerepet játszó - háromféle metabolitot tártak fel. A kémiai hidrolízis savas közegben ment végbe, a

biológiai degradáció során keletkező különböző komponensek azonosítását HPLC módszerrel végezték el. Megállapították, hogy a lebomlás során valójában a triazin gyűrű hasítása történt. Ezek az eredmények azt igazolják, hogy a mikrobiológiai és a kémiai degradáció különböző módon megy végbe. Az is beigazolódott, hogy a szulfonilureák lebomlása nem sterilizált talajban gyorsabb és hatékonyabb, mint sterilizáltban. Ez azt mutatja, hogy a degradációjuk erősen függ a talaj mikroflórájától (Joshi et al. 1985, Walker et al. 1989, Ismail és Lee 1995, Brown 1990, Brown et al. 1997, Miller et al. 1997, Li et al. 1999). E gyomirtó szerek biológiai lebomlását modellező kísérletek többségét a talajban végezték el, különböző kultúrakeverékekkel kometabolizmusban, és a szántóföldi dózisnak megfelelő herbicid koncentrációkat használtak. Csupán néhány jelentés szól tiszta kultúrák felhasználásáról a biológiai lebomlási folyamatok során (Joshi et al. 1985, Berger és Wolfe 1996, Berger et al. 1998, Braschi et al. 2000, Boschin 2003).

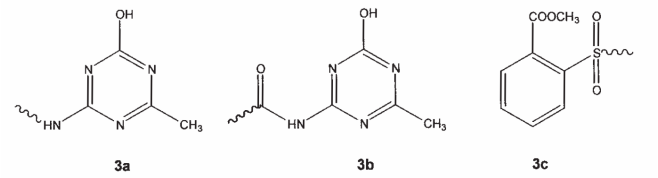
Mások arra a megállapításra jutottak, hogy a klórszulfuron és a metszulfuron-metil a talajban bizonyos körülmények között nagy perzisztenciával rendelkezik, és ez problémát okozhat egyes kultúrákban (Blair és Martin 1988). Zanardini et al. (2002) kísérleteik során a szulfonilkarbamid gyomirtó szerekkel kezelt talajmintákból izolált, dúsított kultúrák felhasználásával két konzorciumot szelektáltak. A dúsítást követően a klórszulfuron néhány éves alkalmazásakor egy kevert kultúrához jutottak. Ezekből a konzorciumokból számos baktériumtörzset izoláltak, melyek legtöbbje a *Pseudomonas genus* (*P. fluorescens, P. putida*) tagja volt. A 9 izolált törzsön végzett előkísérletek azt mutatták, hogy a legjobb lebontó képessége a *P. fluorescens* B2 törzsnek volt. Elsőként a *P. fluorescens* B2 törzset oltották be olyan táptalajba, melyhez egyedüli szén- és energiaforrásként hozzáadták a két gyomirtó szer 100 mgL^{-1} koncentrációját. Semleges pH-n történő egyhónapos inkubáció után a klórszulfuronnál 26 %-os teljes degradációt észleltek, lassú, de szignifikáns 15 %-os biológiai lebomlással. Ugyanakkor a metszulfuron-metilnél 25 %-os teljes és 11 %-os biológiai degradációt figyeltek meg. Ezek az eredmények hasonlóak más szerzők baktérium és gomba törzseknél végzett megfigyeléseivel, amikor is egyedüli szén- és energiaforrásként szulfonilkarbamidokat adtak a táptalajokhoz (Berger et al. 1998, Braschi et al. 2000). Kometabolizmusban, semleges pH értéknél, 2 ‰ nátrium acetát valamint a herbicidek 100 mgL^{-1} koncentrációjának hozzáadásával már egy hét inkubáció után nagyobb degradációt észleltek. A metszulfuron-metilnél a koncentráció 32 %-kal csökkent, mely 23 %-os biológiai lebomlással volt egyenértékű. A klórszulfuron esetében szignifikáns lebomlást nem mutattak ki. Két hét elteltével a metszulfuron-metilnél kometabolizmusban a 23 %-os lebomlás 21 %-os biológiai degradációval párosult, míg a klórszulfuronnál a teljes lebomlás 36 %-ot, a biológiai pedig 32 %-ot mutatott 500 mgL^{-1} kiindulási herbicid-koncentráció mellett. Az

eredmények azt bizonyítják, hogy a herbicidek biológiai lebomlása a *Pseudomonas* törzsekkel sokkal hatékonyabb kometabolitikus körülmények között, különösen a dúsított táptalaj felhasználásával. A köztes metabolitok meghatározására a húsleves táptalajon kivitelezett bontási tesztből kivont mintákat használták a *P. fluorescens* B2 törzs általi degradációs metabolitok elkülönítésére és azonosítására. A metszulfuron-metil esetében három bomlási terméket lehetett meghatározni, melyek szerkezetét a 1. ábra mutatja be.



1. ábra: A metszulfuron-metil lebomlásának lépései (Zanardini et al. 2002)

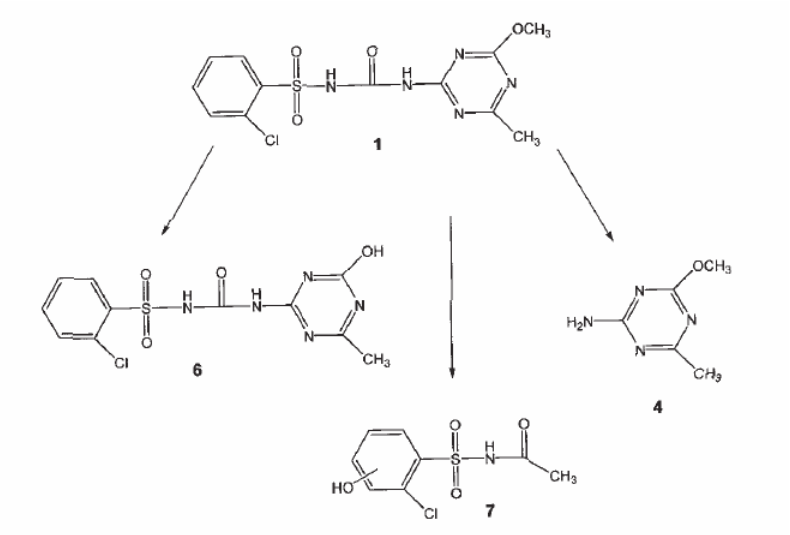
A 2. ábrán lévő 3b és a 3c alstruktúrák azt mutatják, hogy a benzolgyűrűn a $COOCH_3$ csoport jelenléte mellett a 3. termék a triazingyűrű metoxicsoportjának demetilezésével jön létre.



2. ábra: A klórszulfuron és metszulfuron-metil köztes bomlástermékei (Zanardini et al. 2002)

A 2-amino-4-metoxi-6-metiltriazinnal konzisztens termékhez (4. képlet a 1. ábrán) a szulfonilurea híd hasításával jutottak. A LC-MS pozitív ion analízise egy átmeneti 5. szerkezetet eredményezett (1. ábra). Lehetséges, hogy ezt a terméket az aromás gyűrű hidroxilációja és a szulfonamid maradék acetilezése során kapták a szulfonil-karbamid híd hasítását követően. A klórszulfuronnal végzett kísérletek során három hasonló termékhez jutottak (3. ábra), a 4. komponens egy közös metabolit volt, míg a másik kettő (a 6. és a 7. termék a 3. ábrán) a 3. és 5. számúval azonos szerkezetű termék volt, az aromás gyűrűn lévő

szubsztituensek kivételével. A fentiek alapján bebizonyosodott, hogy a benzolgyűrű meta pozíciójú hidroxilezése a talajban a legfőbb lebomlási út (Strek 1998).

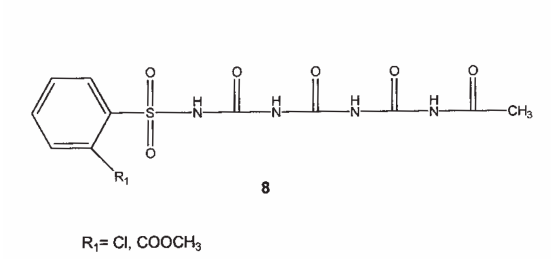


3. ábra: A klórszulfuron lebomlásának lépései (Zanardini et al. 2002)

Néhány szerző szerint a *Streptomyces griseolus* a fenilcsoport hidroxilációjával számos szulfonilkarbamid herbicidet metabolizál a citokróm P450 monooxigenázok segítségével (Romesser és O'Keefe 1986, O'Keefe et al. 1987, 1988, Omer et al. 1992). A növényi metabolizmussal megegyezően az aromás gyűrű hidroxilációja jelenti a fő lebomlási út első lépését, például Anderson et al. (1989) izolált egy metszulfuron-metil bomlásterméket, mely ugyanolyan volt, mint a búzában és az árpában. Ezek az eredmények ahhoz a hipotézishez vezettek, hogy a *P. fluorescens* B2 törzs általi metszulfuron-metil és klórszulfuron degradáció két, egymástól elkülönülő, független folyamatból áll. Az egyik fajta folyamat a triazin gyűrű demetilációja, a másik pedig a szulfonilkarbamid híd hasítása (1. és 2. ábra), egyetértve más szerzők által jelentett munkákkal (Brusa és Del Puppo 1995, Braschi et al. 1997, Li et al. 2004). Tekintettel a mikrobiológiai lebomlásra, a legtöbb kísérletet a herbicid alacsony koncentrációinak (10-15 mgL^{-1}) alkalmazásával végezték el a talajban vagy kevert kultúrákkal. Ezzel ellentétben Zanardini et al. (2002) munkájában a herbicidek nagyobb koncentrációit (100 és 500 mgL^{-1}) és a *P. fluorescens* B2 jelű törzsének tiszta kultúráit használták.

Csupán néhány szerző számolt be tiszta kultúrákkal végzett kísérletekről, Joshi et al. (1985) a klórszulfuron talajban élő *Streptomyces*-ekkel nevezetesen a *Streptomyces griseolus*, valamint két gomba fajjal (*Aspergillus niger* és *Penicillium* sp.) történő lebontásáról. Ezen okok miatt a mikrobiológiai lebontást bemutató tesztek kometabolikus körülmények között tápanyagban gazdag közegben, semleges pH alkalmazásával történtek azért, hogy kizárják a

savasodás okozta kémiai degradáció bekövetkezését. A kémiai lebomlás tanulmányozása során a klórszulfuron és metszulfuron-metil oldatok (koncentráció 1000 mgL^{-1}) teljes hidrolízisét szobahőmérsékleten, erősen savas (pH = 1) körülmények között csak az 5 napot követően figyelhették meg. Ebből arra lehetett következtetni, hogy ennek a folyamatnak normál esetben kicsi a valószínűsége. Mindegyik gyomirtó szernél csak egyetlen terméket lehetett izolálni és beazonosítani, mely teljesen különbözött a mikrobiológiai lebomlásnál kapott vegyületektől. Ezeket a komponenseket a 8. szerkezettel azonosították, mely az 4. ábrán található 1-[2X-benzol-1- szulfonil]-7-acetiltriuret, ahol az X a metszulfuron-metil $COOCH_3$ -csoportját és a klórszulfuron Cl atomját jelöli. Ezek a triazin gyűrű hasadásából származnak.



4. ábra: A klórszulfuron kémiai lebomlásának egyik terméke (Zanardini et al. 2002)

A metszulfuron-metilből nyert termékekről már korábban is beszámoltak a szakirodalomban (Badon et al. 1990, Sabadie 1990, Vega et al. 1992), és steril talajban azonosították egy másik tanulmányban metszulfuron-metil lebontása során (Li et al. 1999). Míg ugyanaz a klórszulfuronnál kapott termék csak hipotézis maradt (Reiser et al. 1991). Hasonló termékeket azonosítottak be a szulfonilkarbamidok kémiai bomlása során, olyanokat, mint a proszulfuron (Bray et al. 1997) és a tifenszulfuron-metil (Cambon és Bastide 1992). A fentiekből következik, hogy a metszulfuron-metil és a klórszulfuron *P. fluorescens* B2 törzs általi biológiai lebomlása főként tápanyagban gazdag közegben és kometabolizmusban megy végbe. A herbicid egyedüli szén- és energiaforrásként történő adagolásakor alacsonyabb mértékű lebomlást észleltek (a klórszulfuronnál 15 %-os, a metszulfuron-metilnél pedig 11 %-os), mint kometabolizmusban (32 %-os a klórszulfuron, 21 %-os a metszulfuron-metil esetében). Korábbi munkákban azt is megfigyelték, hogy egyes tiokarbamát herbicidek, mint például a molinát *Streptomyces* sp. okozta biológiai degradációja főként kometabolizmusban megy végbe, és a lebomlás intenzitása magasabb mértékű szójaliszt jelenlétében. Valóban e feltételek mellett a sejttömeg bőségesebb volt, elősegítve az enzimek nem specifikus úton történő támadását (Daffonchio et al. 1999). A metszulfuron-metil és klórszulfuron gyomirtó szerek lebomlása két jól elkülönülő, különböző módon végbemenő folyamat, az egyik a triazin gyűrű demetileződéséhez vezet, a másik pedig a szulfonilkarbamid híd hasadásához.

Szintén a lebontó folyamatot igazolták, amikor Stevens és Duxbury (1992) a kísérletei során az *Aspergillus niger*-t és a *Penicillium* spp.-t klórszulfuront tartalmazó burgonya dextróz húslevesen tenyésztették, és így a herbicid koncentráció 78-96 óra alatt 97-99 %-kal lecsökkent. Amikor a kitenyésztés alatt a pH-t semlegesre vagy semleges közeli értékre állították be, a herbicid koncentrációban nem állt be csökkenés. Abban az esetben, amikor a gomba kitenyésztése alatt a klórszulfuront tartalmazó steril táptalajt savvá alakították, a herbicid koncentrációja ismét lecsökkent. Joshi et al. (1985) kísérleteik során hasonló eredményeket értek el, melyek szerint a *Streptomyces griseolus, Aspergillus niger* és a *Penicillium* spp. tiszta kultúrái képesek bontani a ^{14}C klórszulfuront. Megállapították, hogy a *S. griseolus* fontos szerepet játszik a szer eliminációjában. Harder et al. (1991) bizonyították, hogy a szulfonilkarbamid herbicidek *S. griseolus* általi metabolizmusa két citokróm, a P-450, P-450 sub(SU1) és P-450 sub(SU2), segítségével megy végbe. A fenti vizsgálatok folytatásaként bebizonyosodott, hogy a P450SU1 és a P450SU2 gyomirtást indukáló bakteriális P-450 citokróm enzimek, és a *Streptomyces griseolus*-ból származnak. Braatz és munkatársai (1994) ezekből a fehérjékből két modellt építettek fel, hogy megvizsgálják a szerkezetekben a variabilitást, ami a különböző modellező folyamatok során végbemehet.

Miszczyk és Pyka (2006) kísérletei eredményeképpen a tifenszulfuron metil, triaszulfuron, klórszulfuron, rimszulfuron, amidoszulfuron és tribenuron metil herbicidek 75-100 %-os lebomlása 168 óra után következett be. Ezzel bizonyították, hogy ezek a szulfonilurea származékok vizes közegben instabil vegyületek. Berger és Wolfe (1996) 12-féle szintén szulfonilkarbamid herbicid lebomlását vizsgálták anaerob üledékekben különböző pH-értékeknél. Míg a természetes üledékben semleges pH-nál a mikrobiológiai lebomlás dominált, addig az alacsonyabb pH-értéknél a kémiai hidrolízis bizonyult jelentősnek. Néhány szerző (Berger et al. 1998, Braschi et al. 2000) is igazolta, hogy a laboratóriumi körülmények között tiszta kultúrákkal megfigyelt mikrobiológiai lebomlást a mikrobiológiai metabolizmus által okozott pH csökkenés következtében kémiai degradáció váltja fel. Sarmah et al. (1999) szerint a talaj felszínén a klórszulfuron és a triaszulfuron lebomlási ideje 19 és 42, illetve 3 és 24 nap között váltakozott. Mindkét szulfonilkarbamid degradációja gyorsabb volt nem steril talajban, mely a mikrobiológiai lebontó folyamatokat bizonyítja. A klórszulfuron perzisztenciája a mélységgel megnövekedett, mely azt mutatja, hogy a talajszelvény hosszában a mikroorganizmus populáció a mélységgel lecsökkent. A DT_{50} érték a klórszulfuron esetében 30-40 cm mélységben majdnem négyszer magasabb volt, mint a talaj tetején.

Gu Li-feng et al. (2007) gyomirtó szert gyártó üzem alatti talajból izoláltak etametszulfuron-metilt (ESM) lebontani képes SW4 *Pseudomonas* talajbaktériumot. Az ESM

teljes degradációja 6 nappal a beoltást követően meghaladta a 84,6 %-ot. Az SW4 törzzsel beoltott, ESM-el kezelt talajban nagyobb fokú lebomlást figyeltek meg mint az oltatlanban. Bebizonyosodott, hogy az SW4 törzs két egymástól különböző úton képes az ESM bontására: az egyik a szulfonilurea híd hasítása, a másik pedig a triazin gyűrű dealkilezése és felnyitása. A metabolitok tekintetében hasonló eredményt értek el Youbin et al. (2005), akik szintén az etametszulfuron-metil herbicid mozgását és lebomlását vizsgálták laboratóriumi körülmények között háromféle talajban. Megállapították, hogy a szer a lúgos homoktalajban rendelkezik nagyobb mobilitással, a degradációja pedig pH függő. A herbicid perzisztensebbnek bizonyult semleges vagy gyengén lúgos talajban, mint a savasban. Öt metabolitot különítettek el és határoztak meg. A lebomlási útvonalak tartalmazták a szulfonilurea híd hasítását, az N és O-dealkilezést és a triazingyűrű felnyitását.

A tiokarbamátok tekintetében 1987-ig nem sikerült olyan mikroorganizmusokat izolálni, amelyek az EPTC-t egyedüli szén- és energiaforrásként képesek hasznosítani. Lee (1984) beszámolt olyan baktériumok izolálásáról - *Micrococcus, Bacillus, Pseudomonas alcaligenes,* a gombák közül a *Fusarium, Penicillium, Trichoderma, Paecilomyces,* amelyek Nutrient és Czapek-Dox agar táptalajon az EPTC-t kiegészítő tápanyagforrásként hasznosítják. Tam et al. (1987) olyan *Arthrobacter* sp.-t izoláltak, amely lebontja az EPTC-t és 4 plazmidot tartalmaz. Nagy et al. (1987) olyan Gram pozitív baktériumok izolálásáról számoltak be, amelyek bontják az EPTC-t. Tam et al. (1988) megállapították, hogy az *Arthrobacter* sp. képes metabolizálni az EPTC-t, butilátot, vernolátot, cikloátot és az R-33865 antidótumot. Nagy et al. (1988) ugyanebben az évben arról számoltak be, hogy az általuk izolált *Arthrobacter* sp. NI 86/21. törzs képes az EPTC-t, butilátot, vernolátot és cikloátot tápanyagforrásként hasznosítani, de a cikloát esetében a metebolizmus lényegesen lassabban megy végbe, mint a másik három herbicidnél. Subba-Rao et al. (1987) cikkükben olyan feltételezésre jutottak, hogy nem lehetséges olyan törzsek izolálása, amelyeknek egyedüli szén- és energiaforrást a tiokarbamátok jelentenek. Ők olyan mikroorganizmusokat izoláltak, amelyek bontják az EPTC-t és a butilátot, de olyan táptalajon is képesek szaporodni, amelyet glükózzal egészítettek ki és hiányzott belőle az EPTC. Kísérletei alapján Moorman (1988) megállapította, hogy az EPTC felgyorsult lebomlása nem a lebontásban résztvevő mikroorganizmusok számának növekedésével magyarázható, hanem a herbicidek metabolizmusához adaptálódott mikrobák aktivizálódásával.

Daffonchio et al. (1996) a molinát herbicid kometabolitikus lebontását tesztelték két mikroorganizmus, az *Arthrobacter* sp. M3, valamint a *Streptomyces griseus* M2 törzsének felhasználásával. Az M3 és M2 törzsek 36 nap alatt a gyomirtó szer 35 és 51 %-át bontották le. Balicka et al. (1984) izoláltak egy olyan *Pseudomonas aureofaciens* törzset, amelynek

sejtes formája és etilacetátos kivonata ugyanúgy csökkentette a cikloát hatását és a fitotoxicitását a búzára nézve.

2.3.2. A mikroorganizmusok szerepe *in vivo*

Martinez et al. (2008) *in vivo* vizsgálatai szerint a *Rhizobium radiobacter* képes volt bontani a szulfentrazon gyomirtó szert. A tiokarbamát származékok a talajban viszonylag gyorsan lebomlanak a különféle mikroorganizmusok tevékenysége által, aminek következtében a tényleges herbicidhatás lényegesen lerövidült. A lebomlási sebesség csökkentésére és a gyomirtás növelésére ily módon a gyártók inhibitor-extendereket alkalmaztak. Gray és Weierich (1968), Gray (1971) kísérleteikben felfigyeltek arra, hogy a butilát, cikloát, molinát, vernolát herbicidek sokkal hamarabb eliminálódnak olyan talajból, amelyet nem sterilizáltak autoklávban. Ez bizonyítékul szolgált arra, hogy a talaj mikroflórája nagyon fontos szerepet játszik a tiokarbamátok lebomlásában. Igazolták azt is, hogy a lebomlás sebessége erősen változik a talajtípus és a környezeti tényezők függvényében (Danielson et al. 1961, 1964, Kaufman 1967), ahol is a legfontosabb tényezőként a talaj biológiai aktivitása játszik fontos szerepet. A fiziko-klimatikus tulajdonságok is kiemelkedő fontosságúak ebben a folyamatban, de mindenképpen előnyt élveznek a biológiai aktivitás tényezői (Danielson et al. 1964, Smith és Fitzpatrich 1970, Mac Rae és Alexander 1965).

Yong et al. (2006) a metszulfuron-metilt egyedüli szén- és energiaforrásként hasznosítani képes baktérium-, gomba- és *Actinomyces* törzseket izoláltak metszulfuron-metillel kezelt talajból, és a herbicidek degradációját vízbe áztatott komposzttal növelték. Az eredmények szerint az izolált *Penicillium* sp. hozzáadása növelte a metszulfuron-metil vízben és talajban történő lebontását. Szintén a nagy szervesanyag-tartalom herbicid-lebontást segítő hatását bizonyították be James et al. (1999), akik kísérleteik során a klórszulfuron és a triaszulfuron lebomlásának mértékét elemezték kétféle dózis (15 és 30 gha^{-1}) alkalmazásával vulkanikus eredetű homokos agyag talajban. Mindkét gyomirtó szer gyorsan lebomlott a savas talajban (pH = 5,7), nagy szerves anyag tartalomnál (7,3 %). A klórszulfuron felezési ideje 22-től 38 napig változott, hatása pedig 8 hét alatt tűnt el.

Chiellini et al. (2007) szerint szabványos respirometrikus eljárásokat kellene alkalmazni a lassan bomló makromolekulák biológiai lebonthatóságának mérésére, mert a különböző szén-szubsztrátok metabolizmusának vizsgálatakor az erősen oxidált anyagok átalakulásakor a szén-dioxid értéke túlbecsült lehet. Szükséges egy teljes szénmérleg, ami számításba veszi a szén mindkét formáját, mégpedig a biomasszaként beépülőt, illetve szén-dioxidként felszabadulót is. Ezért Li Jun-hong et al. (2004) a dinamikus, mennyiségi, szerkezetbiológiai lebontás-kapcsolat kutatás (QSBR) módszerével matematikai modellt állítottak fel, mely

megmutatta, hogy szignifikáns összefüggések vannak a klórszulfuron biológiai lebontása és a szerkezeti paraméterei között.

Kísérletek bizonyították, hogy a tiokarbamátok (pl. EPTC) rendszeres használata során, főként monokultúrás kukoricatermesztésnél számottevően csökkenhet hatékonyságuk. Így pl. az első évi kezelés 3-3,5 hónapig gyommentesíti az állományt, míg a 3-4. évben – folyamatos alkalmazás mellett – már kevesebb mint 1 hónap lesz a szer hatástartama. Ekkor ugyanis a mikroorganizmusok herbicid bontó biotípusai (rasszai) felszaporodnak, és ezután „ráállnak" a növényvédő szer teljes lebontására. A degradációs folyamatok visszaszorítására manapság a növényvédő szer gyártó cégek speciális adalékanyagokkal – ún. extenderekkel – egészítik ki a herbicid hatóanyagokat. Ilyen pl. a Tadam segédanyag is, amely a tiokarbamátok talajbeli degradációját késlelteti, a gyomirtó szer hatástartalmát meghosszabbítja (Racskó és Budai 2004). A fentieket támasztották alá Rachman et al. (1979), amikor egy három éves kísérletsorozat utolsó évében felfigyeltek arra, hogy olyan talajokban ahol hosszú évekig szünet nélkül alkalmazták az EPTC-t, a gyomirtó hatás jelentősen csökkent vagy teljesen megszűnt. Schuman és Harvey (1980) laboratóriumi kísérletek során szintén megállapították, hogy a kontroll talajhoz viszonyítva, azokban a talajokban ahol néhány évig használták az EPTC-t, a gyomirtó hatás az EPTC esetében 14 napról 3 napra, a butilát esetében 42 napról 14 napra, a vernolát esetében pedig 24 napról 8 napra csökkent. A fentieket igazolták Obrigawitch et al. (1983), miután az EPTC metabolizmusát figyelték meg különböző talajokban, ahol azelőtt ezt a herbicidet alkalmazták és olyan helyeken is, ahol ezt a szert még nem használták. A különböző hőmérsékleteken (5-; 15- és 25 ^{o}C) végzett kísérletek során megállapították, hogy az adaptálódott talajban volt a leggyorsabb az EPTC lebomlása (9 nap), viszonylag magas hőmérséklet (25 ^{o}C) és talajnedvesség esetén. Schuman és Harvey (1980) megfigyelték, hogy 10-; 18- és 4 ^{o}C-on is nagyon gyorsan, mindössze 3-4 nap alatt lebomlott az EPTC olyan talajban, ahol korábban azt alkalmazták. Harvey és Kozak (1984) is hasonló eredményeket kaptak. Megfigyelték, hogy azokból a mintákból, amelyet 25 ^{o}C-on tároltak 2 hónap alatt, azoknál pedig amelyeket 5 ^{o}C-on tartottak, még 12 hónap alatt sem tűnt el a mikroorganizmusok EPTC lebontó képessége. Harvey és Kozak (1984) szerint kétheti 55 ^{o}C-on történő szárítás pedig a jelenség megszűnéséhez vezet. Ezzel egyetértve Lee et al. (1984) is arról számoltak be, hogy ott ahol az EPTC-t korábban alkalmazták, a mikroorganizmusok gyorsabban képesek a szert lebontani. A hőmérséklet és a mikroorganizmusok EPTC lebontó képessége között is összefüggés van. Ez a tulajdonság megfigyelhető volt egy másik tiokarbamát származék, a butilát esetében is. Bean et al. (1984), valamint Harvey és Kozak (1984) szerint a butilát hatása olyan talajokban lecsökkent, ahol azt korábban hosszú évekig alkalmazták (Skipper et al. 1986). Ezzel ellentétben Dorst (1984) valamint Wilson (1984)

kísérleteikben azt észlelték, hogy a cikloát lebomlási sebessége nem növekszik meg a szer újbóli alkalmazása esetén. Ugyanakkor ez a herbicid jól hatott olyan talajokon, ahol az EPTC nem volt hatékony (Harvey 1982). Néhány eredmény viszont arra mutatott rá, hogy a cikloát lebomlási sebessége is megnövekedhet. Harvey (1985) megállapította, hogy a különböző tiokarbamát származékok kombinációi: EPTC+butilát, EPTC+cikloát, EPTC+vernolát nem hatékonyabb, mint ezek a szerek egyenként. Harvey és Kozák (1984) szerint a két komponens együtt gyorsabban lebomlik, mint egyenként. Wilson (1984) bebizonyította, hogy az EPTC lebomlási sebessége szintén megnő olyan talajokban, ahol néhány évig alkalmazták a butilátot, EPTC-t és a vernolátot. A vernolát lebomlása gyorsabban ment végbe olyan talajokban, ahol korábban használták a vernolátot és az EPTC-t. Az EPTC pedig gyorsabban bomlott le azokban a mintákban, ahol korábban alkalmazták az EPTC-t és a vernolátot. A butilát bomlása padig azokban a mintákban volt a leggyorsabb, ahol korábban együtt permetezték ki a butilátot a cikloáttal (Skipper et al. 1986). A cikloát lebomlása egy mintában sem gyorsult fel, mert korábban egyedül nem alkalmazták. Megállapították, hogy azokban a talajokban, ahol korábban nem használták ezeket a herbicideket, a butilát sokkal lassabban bomlott le, mint a többi három vegyület. Lode és Skuterud (1983) szerint a baromfitrágya alkalmazása után a talajban gyorsabban ment végbe az EPTC lebomlása.

2.3.3. A környezeti tényezők hatása a herbicidek lebomlására

A nagy szervesanyag-tartalommal rendelkező, de toxikus anyagokat is tartalmazó szennyvíziszapok, szennyvizek mezőgazdasági területekre való kihelyezése, vagy azok elszennyeződése során, napjainkban egyre inkább számolni kell a talajéletre kifejtett speciális káros hatásokkal, valamint arra a tényre is, hogy ezek befolyásolhatják a különféle növényvédő szerek talajban való lebomlását is. A különféle növényvédő szerek, antibiotikumok, műtrágyák, detergensek és kémiai vivőanyagok *Rhizobium*-ok és *Pseudomonas*-ok esetében észlelt szaporodás-gátlását illetően számos irodalmi hivatkozás ismert (Bayoumi et al. 1988, Bayoumi és Kecskés 1992, Bayoumi et al. 1995, 1999, Biró et al. Biró és Kecskés 1984, Biró 1988, Jevcsák et al. 2000). Több vizsgálati adat található a szennyvíziszapok rendszeres alkalmazását követően a nehézfémek hasznos talaj-mikroszervezetekre gyakorolt kedvezőtlen hatásáról is (Chaudri et al. 1992, Märtensson 1992, McGrath et al. és 1988, Reddy et al. 1983, valamint Smith 1992). A nitrogénkötésnek, mint az egyik legfontosabb mikrobiológiai kulcsfolyamatnak a nehézfémekkel szembeni érzékenységét Coppola és szerzőtársai (1988) is említik, a szimbionta *Rhizobiumok*-ra való kedvezőtlen változásokról pedig El-Aziz et al. (1991) számolnak be elsőként. Giller és szerzőtársai (1989) szerint a szimbionta *Rhizobium*-ok védve vannak a gyökérgümőben a talaj

fémszennyezettségétől, de a natív mikroorganizmus populáció és/vagy a gazdanövény annál inkább érintett. Kimutatták, hogy a gyorsan szaporodó *Rhizobium*-ok a nehézfémekkel szemben érzékenyebbeknek bizonyultak, mint a lassú szaporodású *Bradyrhizobium*-ok fajreprezentánsai (Cowles et al. 1969). Biró et al. (1993) megállapították, hogy a Cu^{2+}- és Zn^{2+}-ionok valamennyi növényoltásra felhasználható, biológiai N_2-kötésre képes baktérium törzs szaporodását gátolták az alkalmazott, a talajokban is kialakuló koncentrációkban. A *Rhizobium*-ok szaporodására a Cu^{2+}, az asszociatív *Azospirillum* baktériumok esetében pedig a Zn^{2+}-ion volt erősebben gátló hatású. Hasonló eredményeket kaptak Köves-Péchy et al. (1996), akik tenyészedényekben végzett kísérleteik során megállapították, hogy a nehézfémek toxikus hatást fejtenek ki a mikroszimbiontákra.

Delgado-Moreno és Arnzazu (2007) szerint a talajhoz hozzáadott többlet olíva takarmány stimulálja a talaj mikrobiológiai aktivitását, ugyanakkor nincs hatással a szulfonilkarbamidok lebomlására. Más szerzők kimutatták, hogy az alacsony szervesanyag-tartalmú talajok gazdagítására használt szerves talajjavítók a gyomirtó szerek talajban történő szorpcióját és mozgását okozhatják. Cox et al. (1998) kísérletei szerint az olívaolaj üzem szennyvize a talaj szerves széntartalmának növekedését eredményezte, és csökkentette a talaj porozitását. Ezért javasolják az olívaolaj-gyártásból származó és más hasonló szennyvizek talajjavításra történő használatát a talajvíz herbicidek általi szennyezésének csökkentése céljából. Napjainkban kiemelt figyelmet fordítanak a talajhoz adott szerves hulladékok hatásának felmérésére a herbicidek viselkedését illetően. A témában megjelent tanulmányok azt mutatták, hogy a szerves- és tápanyagok hozzáadása többnyire hatással van a növényvédő szerek adszorpciójára, talajban való mozgására és a biológiai lebomlásukra. Briceno és szerzőtársai (2007) szemlecikkükben ellentmondó tendenciákat mutatnak be a kemikáliák sorsáról, mivel a talajtípusok különbözőek, a peszticidek tulajdonságai és a talajjavítás forrásai túl bonyolultak ahhoz, hogy tendenciákat állítsanak fel, és szignifikáns következtetéseket vonjanak le a növényvédő szerek viselkedéséről. A talajok biológiai állapotának tesztelése azonban különösen fontos a kemikáliákkal terhelt mezőgazdasági területeken, illetve a talajok javítását célzó eljárásoknál is (Zsuposné 2002, Zsuposné és Csubák, 2005).

2.4. Herbicid-érzékenység és mikrobiológiai átalakulás

A mikroorganizmusok és a herbicidek kapcsolata két egymástól el nem választható kérdést vet fel. Milyen formában és hogyan érvényesül a herbicidek hatása a talaj mikroszervezeteire? Képesek-e ártalmatlanítani a mikroszervezetek a talajba került herbicidet? Az köztudott ugyanis, hogy bár a herbicidek mikrobiológiai úton többnyire

lebomlanak, a kezelést követően a talajélet részlegesen inaktiválódik, és a mikroorganizmus populációban eltolódás következhet be. A gyomirtó szerek használata befolyásolhatja a mikrobiológiai közösségek struktúráját és működőképességét (Junnila et al. 1996), de a toxikusságuk vagy a metabolizmusuk a kémiai szerkezettől, az alkalmazási mennyiségtől, gyakoriságtól és a mikroszervezetek faji, törzsi, élettani tulajdonságaitól is erősen függ. A növényvédő szerek leginkább a fototróf mikroorganizmusokra fejtik ki a legkárosabb hatást a fotoszintézises folyamatok károsítása révén (De Lorenzo et al. 2000).

2.4.1. A mikroorganizmusok érzékenysége *in vitro*

Junnila és munkatársai (1996) szerint a klórszulfuron gátolta az *Escherichia coli* és a *Salmonella tiphymurium* szaporodását, de a folyamatot az izoleucin aminosav hozzáadásával meg lehetett állítani. Azt feltételezték, hogy a klórszulfuron hatását az *Escherichia coli* törzsre a herbicid izoleucin-szintézis gátlása okozza. La Rossa és Schloss (1984) kísérletekkel is igazolták, hogy a szulfometuron-metil a baktériumokban gátolja az acetolaktát-szintetáz enzimet, amely felelős az izoleucin bioszintéziséért. Mayer et al. (1989) szerint a klórszulfuron blokkolja a specifikus hidroxi-ecetsav szintézisét a növényi sejtekben, baktériumokban és élesztőgombákban. A vegyület hatását a *Claviceps purpurea* növekedésére és alkaloid termelésére vizsgálták. A nagy koncentrációjú klórszulfuron ugyanakkor nem gátolta teljes mértékben a *C. purpurea* hidroxi-ecetsav szintézisét. Burnet és Hodgson (1991) a klórszulfuron és a metszulfuron-metil herbicidek mikroszervezetekre gyakorolt hatását elemzésekor megállapították, hogy az összesen 11-féle tesztelt talajbaktérium és gomba közül egyedül a *Micrococcus roseus* és az *Azotobacter agilis* szenvedett el szaporodásgátlást 24 órával a 2,8 mM-os klórszulfuronnal illetve a 2,1 mM-os metszulfuron-metillel kezelt papírkorongokkal történő érintkezés után. További 3 törzsnek (*Pseudomonas aeruginosa, Bacillus cereus, Saccharomyces cerevisiae*) csak a metszulfuron-metil gátolta a szaporodását. 0,1 mM-os valin hozzáadása után a klórszulfuron fékezte a *P. aeruginosa* növekedését, és ez a törzs a metszulfuron-metilre is érzékenyebbé vált. A *Bacillus polymyxa, P. fluorescens, Streptomyces albus, Rhizobium trifolii* és az *A. niger* törzsekre nézve a szerek nem hatottak. A kétféle gyomirtó szer hatása az acetolaktát-szintetáz enzim aktivitására az összes mikroorganizmusra nézve hasonló volt (1-3 %-os gátlás a *Proteus vulgaris,* 21-33 %-os a *B. polymyxa, P. fluorescens* és 74-100 % a *S. cerevisiae, P. aeruginosa, Aspergillus agilis* és a *Micrococcus roseus*-ra nézve), bár a szulfometuron-metil minden esetben károsabb hatást fejtett ki.

Csitári és munkatársai (2001) megállapították, hogy a szántóföldi dózisnak és tízszeresének megfelelő koncentrációban alkalmazott szulfonilurea vegyületek nem

befolyásolják jelentősen a dehidrogenáz aktivitást és a mikrobiológiai biomassza tömegét, ugyanakkor az elágazó láncú aminosavak mennyisége a tízszeres dózisú herbicid-kezelés után a rhizoszféra mikroorganizmusaiban jelentősen csökkent, az aminosav összetétele is megváltozott a kezelés hatására.

Forlani et al. (1995) arról számoltak be, hogy a klórszulfuron és a rimszulfuron gátolta az *Azospirillum* és a *Pseudomona*s baktériumok szaporodását. Az *Azospirillum* kivételével a rhizobaktériumok toleranciája összefüggésben volt acetolaktát-szintetáz bioszintézisének gátlásával. Hasonló témában Siew et al. (2003) kísérleteik során megállapították, hogy az acetolaktát-szintetáz katalizálja az elágazó láncú aminosavak szintézisének első lépését, mely a szulfonilurea herbicidek célmechanizmusa. Hardy és Giaquinta (2005) szintén igazolták, hogy a szulfonilkarbamidok gátolják az acetolaktát-szintetáz enzimet (ALS) a baktériumokban, élesztőgombákban és a magasabb rendű növényekben. Ugyanakkor Allievi és Gigliotti (2001) 1 és 4 hetes inkubációs kísérletei azt mutatták, hogy a cinoszulfuron 42 μgkg^{-1} (szántóföldi dózis) és 4200 μgkg^{-1} dózisával kezelt talajokban az első hét után csak a nitrifikáció szenvedett el kismértékű gátlást a gyomirtó szer szántóföldi koncentrációinál. A toxicitási tesztek csupán a cinoszulfuron nagyon magas koncentrációinál (100 mgL^{-1}) mutattak negatív hatást egyes heterotróf mikroorganizmusokra nézve. Konklúzióként megállapították, hogy a cinoszulfuron csak néhány mikroorganizmus közösségre gyakorolt negatív hatást a talaj-ökoszisztémában, de csak a szokásosnál nagyobb dózisoknál. Más kísérletek azt mutatták, hogy néhány szulfonilkarbamid herbicid a talajban csökkentheti a mikroorganizmusok biomasszáját és a metabolikus aktivitását, különösen a nitrifikáció folyamatát, valamint a szimbionta nitrogénkötő baktériumoknál a nitrogénkötést (Märtensson és Nilsson 1989, Malkomes 1989, 1990, Burnet és Hodgson 1991, Märtensson 1992, Perucci et al. 1993 és Thompson et al. 1993, Allievi et al. 1994, valamint Boldt és Jacobsen 1998). Ehhez hasonlóan más tanulmányok is jelezték a mezőgazdasági kemikáliáknak a hasznos mikroorganizmus csoportokra, így például a szimbionta nitrogénkötő *Rhizobium*-okra, „növénynövekedést-serkentő" *Pseudomonas*-okra kifejtett káros, vagy dózisfüggően akár serkentő hatásait is (Biró és Kecskés 1984, Bayoumi et al. 1988, Biró et al. 1995, valamint Köves-Péchy et al. 1996). A tapasztalatok azt mutatják, hogy a különböző mikroorganizmusok herbicid-érzékenysége függ az alkalmazott szer összetételétől, koncentrációjától és a mikroszervezettől is. Ezt támasztotta alá Durgesha (2008), amikor négyféle *Rhizobium* törzs herbicid-érzékenységének *in vitro* tesztelésekor a felhasznált benefin, dinitramin és nitralin gyomirtó szerekre a különböző törzsek eltérő érzékenységgel reagáltak és a hatás függött a vegyületek koncentrációitól is. Kisnievsky et al. (2009) ugyancsak négy *Rhizobium* törzs vizsgálatakor hasonló eredményt kapott. Kísérleteiben a

különböző *Rhizobium* törzsek eltérően reagáltak a különböző herbicidek 94 $\mu g g^{-1}$ dózisára, és sorrendben a dinitramin>alaklór>etilfluralin>terbutrin szerekre voltak a legszenzitívebbek. Szintén a fentieket támasztotta alá Cserháti et al. (2008), amikor néhány benzonitril-észter herbicidnek a *Bacillus cereus* var. *mycoides, B. subtilis, Pseudomonas fluorescens* és az *Azotobacter chroococcum* baktériumokra gyakorolt hatását vizsgálták 20-640 ppm koncentrációk alkalmazásával. A kísérletek során legellenállóbbnak az *A. chroococcum* bizonyult, ugyanakkor más baktériumoknál gátlás és stimulálás is előfordult. A baktériumok szaporodására gyakorolt hatások függtek a baktériumfajoktól és a herbicidek kémiai szerkezetétől. Carrasco és Sabater (1997) az atrazin és a klórszulfuron alkalmazásánál az algákra nézve szintén toxikus hatásáról számoltak be. Wei et al. (1998) három szulfonilkarbamid származék gyomirtó szer bomlástermékeinek zöldalgákra gyakorolt hatásait vizsgálták és a klórszulfuron esetében szintén toxikus hatást észleltek a *Chlorella pyrenoidosa* zöldalgáknál. Ehhez hasonlóan Kristufek és Blumauerová (1983) az *Actinomyces* szám 50 %-os csökkenéséről számoltak be a Labuctril 25 herbicid kétéves alkalmazását követően. Tu (1992) ugyancsak jelentős károsító hatást jelentett, amikor kísérletei során az atrazin, butilát, etalfluralin, imazetapir, linuron, metolaklór, metribuzin és trifluralin herbicideknek a mikrobiológiai- és enzimaktivitásra, nitrifikációra, szulfát oxidációra és oxigén felhasználásra gyakorolt negatív hatásait mutatta ki. Ezzel szemben a tarka koronafürt nitrogén-kötő *Rhizobium* baktériumainak aziprotrin herbicid-lebontó képessége is igazolást nyert, mellyel a káposztafélék gyommentesítésének környezetvédelmi kockázata csökkenthető (Jozepovits et al. 1980).

A mikroorganizmusok különböző mértékű herbicid-toleranciája a *Trichoderma* gombák elterjedésére és gyakoriságára is hatással van, és a *T. longibrachiatum* 144 (TL144) érzékenynek bizonyult a klórtoluron, flufenacet és pendimetalin herbicidekre. A legtöbb antagonista a herbicidek hatására nem szenvedett el konídium csírázás-gátlást (Naár et al. 1997 Roberti et al 2006).

2.4.2. A mikroorganizmusok érzékenysége *in vivo*

El-Ghamryj et al. (2000) a klórszulfuron és benszulfuron-metil herbicidekkel végzett kísérletei azt mutatták, hogy a szerek kombinált alkalmazása szignifikáns hatást gyakorol a talaj szén és nitrogén biomasszájára, különösen az inkubációs periódus első 15 napjában. A dózis emelése a talajban élő mikroorganizmusok biomasszájának gátlását tovább növelte, és a herbicidek kombinált adagolása negatívabb hatást gyakorolt mint az egyedüli alkalmazás. Pampulha és Oliveira (2006) gyomfajok széles spektrumának irtására szolgáló kombinációk (60 %-os bromoxinil + 3 %-os proszulfuron) talaj mikroszervezeteinek szaporodására és

aktivitására gyakorolt hatásainak vizsgálatakor megállapították, hogy ezek a szerek a talaj mikroorganizmus populációjában jelentős változásokat idéznek elő. Ezért a herbicidek alkalmazásakor mindig meg kell fontolni a lehetséges környezeti kockázatokat. A fentiekhez hasonlóan Pampulha et al. (2008) szintén bebizonyították, hogy a glufozinát-ammónium herbicid a koncentrációtól függően stimuláló és gátló hatású is lehet, és negyven napot meghaladó inkubációs idő után a mikroorganizmusok mennyiségére és aktivitására is káros hatást gyakorol. A szer okozta toxicitás a mikroorganizmus közösség megváltozásához vezethet, mely során a funkcionális diverzitás szignifikánsan sérülhet. Más herbicid vonatkozásában is károsító hatásról számoltak be Sapundjieva et al. (2003), akik tenyészedényes kísérleteik során bizonyították, hogy az acetoklór legmagasabb dózisai 90 nap után csökkentették a baktériumok és az *Actinomyces*-ek számát. Breazeale és Camper (1970) tenyészedényes kísérleteik során ugyanakkor kimutatták, hogy a trifluralin a kontrollhoz képest 89 %-kal stimulálta az *Actinomyces*-ek szaporodását, a 2,4 D-nél viszont nem volt szignifikáns különbség a szerekkel kezelt talajból vett mintákban. Ez azt mutatja, hogy az *Actinomyces*-ek képesek lehetnek a trifluralint metabolizálni. A baktériumszámot viszont a trifluralin 50 %-kal, a 2,4 D pedig 46 %-kal csökkentette. Martinez et al. (2008) *in vivo* vizsgálatai szerint a szulfentrazon stimulálta az *Actinomyces*-ek szaporodását, viszont a szer a baktériumokra nem volt hatással. Martinez-Toledo et al. (1996) a 10-, 50-, 100-, 200- és 300 $\mu g g^{-1}$ simazin használatakor szintén nem tapasztaltak változásokat a baktérium-populációban, a gombák, aerob nitrogénkötő és denitrifikáló baktériumok számában, valamint nitrogenáz aktivitásban. A simazin 50- és 300 $\mu g g^{-1}$ közötti koncentrációi a nitrifikáló baktériumok szaporodását viszont csökkentették. Valle et al. (2006) szerint az azimszulfuron kezelés szintén változást okoz a baktérium közösségek struktúrájában. Milosevic és Govedarica (2002) szerint a herbicidek lebontására képes mikroorganizmusokat pedig a talajban végbemenő változások bioindikátoraként lehet használni a szerek alkalmazását követően. Tanulmányaikban kimutatták, hogy a herbicidekre a legérzékenyebb az *Azotobacter*, ezért reális indikátora a talaj biológiai állapotának. A szabadon élő nitrogénkötők száma a gyomirtó szerek alkalmazásának 7-14 napján lecsökkent. Ezzel egyidejűleg az *Actinomyces*-ek száma megnövekedett, jelezve, hogy ezek a mikroszervezetek biogén elem forrásként hasznosítják a herbicideket. A szerek lebontásának mértéke függ az alkalmazott szerek fajtájától, fizikai, kémiai tulajdonságaitól, a dózisaiktól, nedvességtől és a hőmérséklettől és az alkalmazott agrotechnikától.

Kallqvist et al. (1994), valamint Kallqvist és Romstad (1994) fitoplanktonnal végzett 16 napos kísérletek során a klórszulfuron toxicitását, valamint az algáknak és cianobaktériumoknak a szerrel szembeni érzékenységét állapították meg. Ezzel ellentétes

eredményt kaptak Ahtiainen et al. (2003), szerintük ugyanis a klórszulfuron, MCPA, bentazon szerek nem gyakoroltak szignifikáns hatást a *Pseudomonas putida* és a *Vibrio fischeri* baktériumok mikrobiológiai folyamataira. A klórszulfuron kezelést követően a kísérletek első időszakában a nitrifikációs potenciál megnövekedett. A lumineszcens baktérium tesztnél a klórszulfuron a toxicitásának csökkenése gyorsabb volt, mint más szereké. A herbicideknek a talaj-mikroszervezetekre gyakorolt statisztikailag szignifikáns hatását nehéz volt kimutatni. Jeffery et al. (1988) is hasonló eredményt kaptak, szerintük ugyanis a klórszulfuron gyakorlati dózisa nem befolyásolja a *Fusarium graminearum* szaprofita növekedését.

Ervio et al. (1994) ugyanakkor megállapították, hogy homok-, agyag- és szerves talajban a klórszulfuron és a metszulfuron általában csak nagyon kicsi hatást gyakorol a dehidrogenáz és nitrifikációs aktivitásra. Ezzel szemben Girvan és munkatársai (2004), Boddington et al. (2000) és Hawking et al. (2000), valamint Hodge et al. (2001) a talajban lévő baktériumok számának csökkenését figyelték meg a szulfonilureák csoportjába tartozó metszulfuron-metil magas koncentrációjánál (>10 μgkg^{-1}), ugyanakkor az ajánlott szántóföldi dózis (0,34 μgkg^{-1}) nem okozott gátlást. A herbicid kezelések nem váltottak ki szignifikáns hatást a baktériumok számában és heterogenitásában, de komoly változást okoztak a baktérium populáció struktúrájában. Ayansina és Oso (2006) az atrazin és atrazin+metolaklór mikroflórára gyakorolt hatásainak 8 hétig tartó vizsgálatakor ugyanakkor megállapították, hogy a szokásos dózisok és azok másfélszerese csökkentették a baktériumok számát. A nagyobb koncentrációk sokkal kisebb sejtszámot eredményeztek, mint a szántóföldön szokásosak. A herbicid-kezelések olyan genuszok eliminációjához vezettek, mint például a *Pseudomonas* sp. és a *Bacillus* sp. Hasonló eredményeket kaptak Whitelaw-Weckert et al. (2004) amikor a glifozát, diquat, paraquat és a carfentrazon-etil által okozott mikrobiológiai változásokról számoltak be. A herbicidek ismételt alkalmazása ugyanis a cellulózbontók, a *Pseudomonas* spp. és a gombák számának jelentős csökkenését eredményezte. Santris et al. (2004) kísérletei azt igazolták, hogy a nikoszulfuron 3-, 7-, 14-, 30- és 45 napos kezelést követően serkentőleg hatott az *Actinomyces*- és összcsíraszámra, ugyanakkor gátló hatásúnak bizonyult az amino-heterotrófok, valamint az aerob nitrogénkötő baktériumok számára.

Több szerző a baktériumközösségek jelentős időbeli variabilitását is megfigyelte a talajokban (Buckley et al. 2003, Girvan et al. 2004, Smalla et al. 1998 és McCaig et al. 1999). Egyes vélemények szerint ezek a növényvédő szerek csak extrém nagy dózisok alkalmazásánál fejtenek ki hatást a mikroorganizmus közösségek számszerű alakulására (Ghani et al. 2001, Gigliotti et al. 1998 és Rebecchi et al. 2000). Más kísérletekben a herbicidek alkalmazása nem gyakorolt számottevő hatást sem a baktériumszámra, sem pedig a baktériumközösség heterogenitására. Ez lehet, hogy a mikrobiológiai degradáció

következménye, és ezeknek a termékeknek a hasznosítása különbségeket okozott a közösségen belül (Bromilow et al. 1996). A metszulfuron mikrobiológiai lebomlását a *Pseudomonas* baktériumok közreműködésével, dúsított kultúrában is megfigyelték, de a szulfonilkarbamidok kivételével a többi peszticid esetében a legtöbb kutatás a fizikai, fotokémiai degradációról szól (Berger et al. 2002, Boldt et al. 1998 és Koskinen et al. 2001, valamint Malato et al. 2002). A szezonális változás az aktív gombaközösségeknél eredményezte a legjelentősebb eltérést, hasonlóan a baktériumközösségeknél megfigyeltekhez. A kísérletek során kihangsúlyozták az aktív baktérium- és gombaközösségek szerkezeti, szezonális változékonyságának a fontosságát, valamint a gombaközösség minták közötti variabilitását, melyeket a kutatóknak meg kell fontolniuk, amikor eltérő módszereket vizsgálnak, és mintavételi stratégiákat alakítanak ki. A különböző tápanyag-utánpótlási módszerek gyakorolják a legnagyobb hatást a baktérium és gombaközösségek összetételére, rövid távú növekedést okozva ezzel a teljes baktériumszámban (El Fantroussi et al. 1999).

Vieira et al. (2007) szerint a szulfentrazon használata szója kultúrában a mikorrhizás és a rhizobiális teljesítmény csökkenéséhez vezetett. Yong et al. (2006) szerint a tűrőképes mikroorganizmusok képesek 500 μgg^{-1} koncentrációjú metszulfuron-metilt is tolerálni. Ezt speciális telepszámlálásos módszerrel állapították meg. A szer gátolta az aerob heterotróf baktériumok szaporodását, ugyanakkor az *Actinomyces*-ekre gyakorolt hatása nem volt egyértelmű. A herbicid alkalmazása után a rhizoszférában a toleráns *Actinomyces*-ek száma szignifikánsan lecsökkent, jelezve, hogy a szulfonilkarbamid maradvánnyal szennyezett talajokban érzékenyek lehetnek. Az aromás komponenseket bontó baktérium populáció, az aerob *Azotobacter* és a nitrifikáló baktériumok mennyisége a korai szakaszban megnőtt, de 30 nappal később az *Azotobacter*-ek száma lecsökkent, ezt követő 15 nappal később pedig a nitrifikálók mennyisége is időleges csökkenést mutatott.

Ami a tiokarbamát származékokat illeti Novogrudszkaja et al. (1965) megfigyelték, hogy az EPTC 1,5-2-szeresére növelte a mikroorganizmusok számát a talajban, stimulálta a nitrifikáló és denitrifikáló baktériumok számát, valamint gátolta a cellulózbontó baktériumok szaporodását. Balkova és Szemikatova (1967) szerint az EPTC 6 $kgha^{-1}$ dózisban csökkentette a baktériumok és a gombák szaporodását 3-4 héttel a kezelés után. Mac Rae és Alexander (1965) megfigyelték, hogy az EPTC 10 mgL^{-1}-nél nagyobb koncentrációban gátolja a *Bacillus* sp. baktériumok szaporodását. A szer 3 $kgha^{-1}$ dózisú használata lecsökkentette a talajban élő *Actinomyces*-ek számát (Rakimov et al. 1963), 4 $kgha^{-1}$ pedig gátolta a gomba és *Actinomyces* populációk szaporodását. Krezel et al. (1984) szerint a méret, morfológia pigmentáció és az antibiotikum szintetizáló képesség nem változott 1 és 100 mgL^{-1} EPTC koncentráció esetén.

Wyse et al. (1976) arról számoltak be, hogy az EPTC alkalmazása után a *Fusarium solani* jobban károsította a bab kultúrát.

Számos irodalmi adat említhető még további gyomirtó szerek szelektív és specifikus hatásairól. A szabadföldön való alkalmazásnál a befolyásoló tényezők sokfélesége miatt nehéz az általánosítható következtetések levonása. A vizsgálatok egy része nehezen összehasonlítható a szerek, az alkalmazási dózisok, a talaj-növény művelési módok különbözőségei, de a kimutatási tesztmódszerek laboratóriumok közötti eltérései miatt is. Az összes mikrobiológiai aktivitás-vizsgálatok mellett hiányosak az egyes, specifikus funkciókkal rendelkező mikroorganizmus csoportokra vonatkozó „minőségi" eredmények is. A téma kutatása ezért továbbra is igen aktuális.

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Anyagok

3.1.1. Mikroorganizmusok

A laboratóriumi körülmények között tesztelt mikroorganizmusokat a 4. számú táblázat tartalmazza. A törzsek többsége a Gödöllői Agrártudományi Egyetem (SZIE) törzsgyűjteményéből származik, illetve korábban került oda, ismert helyről. A kiválasztás szempontját az az elv képviselte, hogy legyenek különböző mikroorganizmus csoportok, elsősorban olyanok, amelyek valamilyen funkciót (pl. nitrogénkötés, sziderofor termelés, degradációs képesség stb.) töltenek be a talajokban. További szempont volt, hogy lehetőség szerint egy adott csoporton belül különböző fajok, vagy törzsek is előforduljanak. A talajeredetű vagy a potenciális humán patogén baktériumok bevonását az indokolta, hogy a talajokban ezek is kiemelt szerepet töltenek be, és az élelmiszer-minőség vagy -biztonság kérdései miatt a tanulmányozásuk indokolt.

4. táblázat: Az in vitro kísérletekben vizsgált mikroorganizmusok

Mikroorganizmus csoport	**Mikroorganizmus név**	**Laboratóriumi jelzés és eredet**	**Megjegyzés**
1. Nitrogénkötők	*Azotobacter* spp.	-	szabadon élők
	Rhizobium leguminosarum bv. *viciae* *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. *Sinorhizobium meliloti*	Bük-75/4 - bükköny Ló-73/3 - lóhere Csf-75/1 - csillagfürt Lu-K - lucerna	Szimbionták, különböző gazdanövények és genusok
2. Spórások	*Bacillus cereus* var. *mycoides* *Bacillus subtilis*	Talajból izolált	
3. *Pseudomonas*-ok	*Pseudomonas aeruginosa* * *Pseudomonas alcaligenes* *Pseudomonas fluorescens*	- - Burgonya rhizoszféra	Növény-növekedést serkentő hatás
4. *Actinomyces*-ek	*Streptomyces griseus* *Streptomyces griseolus* *Streptomyces liquor* *Streptomyces* sp.	- - - S-IX -talajból	Autentikus törzsek Saját izolátum
5. Kórokozók, potenciális patogének	*Agrobacterium tumefaciens* *Erwinia carotovora*[+] *Xanthomonas campestris*[+] *Micrococcus luteus* *Escherichia coli*	- Krizantén levél Babhüvely - -	Talajeredetű növényi- Enterális eredetű humán-

* a *P. aeruginosa* is ismert potenciális kórokozó;
[+] az MTA Növényvédelmi Kutatóintézetből származó törzsek.

3.1.2. Táptalajok, szaporító közegek

A laboratóriumi és tenyészedényes kísérleteink során az alábbi táptalajokat és tápoldatokat használtuk a mikroorganizmusok fenntartására, szaporítására, vagy a különböző herbicid-érzékenységi vizsgálatok kivitelezésére:

Nutrient (N) tápagar baktériumok számára - 1 liter

Húskivonat (Lab lemco powder): 2g, Bacto pepton: 5g, Élesztőkivonat: 2g, NaCl: 5g, agar: 20g, desztillált víz: 1000 ml, pH=7. Sterilezés autoklávban, 1 atm nyomáson, 20 perc.

AG (arginin-glicerin) tápagar Actinomyces*-ek *tenyésztéséhez - 1 liter

Arginin-monohidroklorid: 1g, Glicerin: 12,5g, K_2HPO_4: 1g, NaCl: 1g, $MgSO_4x6H_2O$: 0,5g, $Fe_2(SO_4)_3x6H_2O$: 0,01g, $CuSO_4x5H_2O$: 0,001g, $ZnSO_4x7H_2O$: 0,001g, $MnSO_4xH_2O$: 0,001g, agar: 15g, desztillált víz: 1000ml. Sterilezés után hozzáadandó: Nistatin: 100mg/1000ml, Aktidion: 100mg/1000ml. Sterilezés autoklávban 1atm nyomáson 20 perc.

YEM (Élesztő-mannit-agar) Rhizobium baktériumok tenyésztéséhez - 1 liter

K_2HPO_4: 0,5g, $MgSO_4x7H_2O$: 0,2g, NaCl: 0,1g, mannit: 10g, Élesztőkivonat: 0,4g, agar: 15g, desztillált víz: 1000ml, pH=6,8-7. Sterilezés autoklávban 1atm nyomáson 20 perc.

Kongóvörös agar (KA) Rhizobium baktériumok tenyésztéséhez - 1 liter

Szacharóz: 10 g, K_2HPO_4: 0,5g, $MgSO_4x7H_2O$: 0,2g, NaCl: 0,1g, $CaCO_3$: 1g, Élesztőkivonat: 1g, Kongóvörös: 10ml, agar: 20g, desztillált víz: 1000 ml, pH=7. Sterilezés autoklávban 1 atm nyomáson 20 perc.

Zabagar (ZA) Actinomycesek fenntartásához - 1 liter

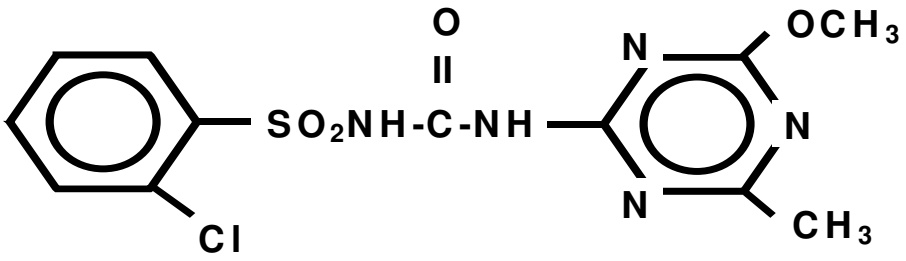
Zabpehely: 40g, agar: 18g, desztillált víz: 1000 ml, elkészítés ideje: kb. 30 perc, pH=7. Sterilezés: autoklávban 1 atm nyomáson 20 perc.

Táplevesek rázatott kultúrák tenyésztéséhez:

Nutrient leves (nutrient broth, NB), YEM leves (YEMB), AG leves (AGB): Elkészítésük módja ugyanaz, mint a megfelelő szilárd (N, YEM, AG) táptalajoké, de agar hozzáadása nélkül.

3.1.3. Herbicidek és alkalmazott herbicid dózisok

Kísérleteink során a klórszulfuron herbicid, a tiokarbamát származékok közül pedig a butilát, cikloát, EPTC, molinát és a vernolát tiszta hatóanyagait használtuk fel. A klórszulfuron kémiai szerkezetét az 5. ábra, a tiokarbamátok adatait és szerkezeti képleteit pedig az 5. számú táblázat mutatja be.



5. ábra: A szulfonil-karbamidok csoportjába tartozó klórszulfuron
(2-klór-/N/4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazin-2-il/-aminokarbonil/-benzoszulfonamid) kémiai szerkezete

5. táblázat: A tiokarbamát típusú herbicidek adatai

A hatóanyag neve	Kereskedelmi elnevezés	Kémiai elnevezés	Szerkezeti képlet
Butilát	Anelda 72EC	S-etil-N,N-diizobutil-tiokarbamát	
Cikloát	Sabet 72EC	S-etil-N-etil-N-ciklohexil-tiokarbamát	
EPTC	Witox 72EC	N,N-di-n-propil-S-etil-tiokarbamát	
Molinát	Molinát	S-etil-N,N-hexametilén-tiokarbamát	
Vernolát	Vernolát	S-n-propil-N,N-di-n-propil-tiokarbamát	

Az *in vitro* kísérletsorozatnál a klórszulfuronnál 0,001-; 0,01-; 0,1-; 1-; 10 mgL^{-1}, tiokarbamát származékoknál pedig 50-; 100-; 250-; 500- és 1000 mgL^{-1} végső koncentrációikat alkalmaztuk. A klórszulfuronnál a szántóföldön alkalmazott dózisnak a 0,001 mgL^{-1}, a tiokarbamátoknál pedig 50 mgL^{-1} végső koncentráció felelt meg. A kísérlet elrendezését és az alkalmazott herbicid dózisokat a 6. számú táblázat mutatja be.

6. táblázat: Az in vitro kísérletek elrendezése

Az *in vitro* kísérletekben alkalmazott herbicidek és dózisaik jelölései (mgL^{-1})				
0,001 KSz	0,01 KSz	0,1 KSz	1 KSz	10 KSz
50 B	100 B	250 B	500 B	1000 B
50 E	100 E	250 E	500 E	1000 E
50 M	100 M	250 M	500 M	1000 M
50 C	100 C	250 C	500 C	1000 C
50 V	100 V	250 V	500 V	1000 V

Jelölések: KSz = klórszulfuron, B = butilát, E = EPTC, M = molinát, C= cikloát, V = vernolát

Az *in vivo* vizsgálatoknál a tiszta hatóanyagú klórszulfuron 0,001-; 0,01-; 1,0-, valamint 10 $mgkg^{-1}$ talaj dózisait használtuk.

3.1.4. Talaj és talaj-adalékanyagok

A mikrokozmosz talajinkubációs modellkísérlet során talajmintaként Nagyhörcsökről származó mészlepedékes csernozjom talajt használtunk, melynek jellemző kémiai tulajdonságait a 7. számú táblázatban láthatjuk:

7. táblázat: A mészlepedékes csernozjom talaj főbb kémiai tulajdonságai

pH (H_2O)	**pH** (KCl)	**$CaCO_3$** %	**Szerves anyag** %	**Összes N** $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Ca** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$
7,71	7,00	3,27	3,60	1690	5958
Összes P $mg \cdot kg^{-1}$	**Összes K** $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető NH_4N** Bremner $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető NO_3N** Bremner $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Al-P_2O_5** $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Mg** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$
1190	11600	3,6	32,0	123	140
Felvehető Al-K_2O $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Cu** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Zn** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Mn** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$	**Felvehető Fe** EDTA $mg \cdot kg^{-1}$	
194	1,87	0,73	71,3	1993	

A mészlepedékes csernozjom talajhoz a különböző klórszulfuron dózisok mellett kokszolói szennyvizet is adtunk, hogy megvizsgáljuk a talajokban potenciálisan kialakuló esetleges kölcsönhatásokat, a kétféle toxikus anyag szinergista módon történő együtthatását, illetve, hogy a rövidebb és hosszabb-távú hatásokról is információval rendelkezzünk. A Dunaújvárosban üzemelő vasmű kokszolójából származó szennyvíznek laboratóriumban mért fontosabb kémiai tulajdonságait a 8. számú táblázat mutatja be.

8. A felhasznált kokszolói szennyvíz vízvizsgálati eredményei

pH	**KOI** mgL^{-1}	**Fenol** mgL^{-1}	**PAH** μL^{-1}	**BTEX** μL^{-1}	**Rodanid** mgL^{-1}	**Szabad cianid** mgL^{-1}
7,5	3690	546,7	10	-	346,6	3,4
Összcianid mgL^{-1}	**Kjeldahl-N** mgL^{-1}	**Szerves N** mgL^{-1}	**NO_3^-N** mgL^{-1}	**NH_4^+** mgL^{-1}	**Összes N** mgL^{-1}	**H_2S** mgL^{-1}
9,5	350	200	400	480	1000	115,6

3.2. Módszerek

3.2.1. Mikroorganizmusok fenntartása, tenyésztése

A laboratóriumi *in vitro* kísérletekhez a 4. táblázatban bemutatott, a GATE (SZIE) törzsgyűjteményéből kiválasztott, a gyomirtó szerekkel szemben feltételezésünk szerint még intakt, nem adaptált mikroorganizmus törzseket a 3.1.2. pontban ismertetett táptalajokon

tenyésztettük és tartottuk fenn hűtőszekrényben, 5 ^{o}C hőmérsékleten a vizsgálatok megkezdéséig.

3.2.2. Herbicid-érzékenységi vizsgálatok *in vitro*

Mikrofermentoros eljárás

Laboratóriumi körülmények között különböző mikroorganizmusok herbicid-érzékenységét tanulmányoztuk rázatásos, mikrofermentoros módszerrel, folyékony táptalajokban. Ennek során a vizsgált baktériumok megfelelő törzseit (4. táblázat) Nutrient (N), élesztő-kivonat-mannit (YEM), vagy arginin-glicerin (AG) ferde agarra leoltottuk és 24 óráig inkubáltuk. A mikroorganizmusok többsége Nutrient agaron szaporodik, a nitrogénkötők és az *Actinomyces*-ek kivételével, ahol sorrendben YEM-et vagy AG-táptalajt alkalmaztunk. A felszaporított törzseket steril fiziológiás sóoldat (0,8 % NaCl) 5 ml-es mennyiségeivel mostuk le. A Nutrient vagy a YEM táptalajokból 5 ml-es steril csöveket készítettünk. Sterilezés (121 ^{o}C, 20 perc) után a megfelelő gyomirtó-szereket adagoltuk a táptalajokhoz steril körülmények között, az esetleges hőbomlás elkerülése végett. Ehhez vízlégszivattyút használtunk és sterilizált szűrőt, amibe Jena G5-ös szűrőlapot tettünk. Így roncsolás-, elbomlás-mentesen tudtuk biztosítani a herbicid-oldatok sterilitását. A mikroorganizmusok színtenyészeteiből készült szuszpenziókkal oltottuk be a megfelelő, gyomirtó szert tartalmazó folyékony tápoldatokat [Nutrient (N), arginin-glicerin (AG)- vagy élesztő-mannit tápleves (YEM)] három-három ismétlésben. A beoltást megelőzően a 24 óra alatt felszaporodott és 5 ml sóoldattal lemosott baktérium szuszpenziók sejtszámát Bürker kamrában számoltuk 4 %-os szublimát ($HgCl_2$) oldat segítségével, ami a sejtek mozgását a számolhatóságig lelassította. A megállapított csíraszámot ismerve, a beadagolt mennyiséget a szuszpenzióból úgy kalkuláltuk, hogy az 5 ml-es csövekben $1x10^6$ kiinduló csíraszámot kapjunk milliliterenként mindegyik törzs esetében. Az ismétléseknél és az egyes mikroorganizmus izolátumoknál így biztosítottuk az azonos kiinduló csíraszám-értékeket.

Az inkubációs idő 25 ^{o}C-on intenzív rázatás mellett (150 rpm) általában 24 óra volt, ettől eltérés csak néhány lassan szaporodó törzsnél fordult elő. A kísérlet során a semleges közeli 6,8-7,2-es pH érték beállítására törekedtünk a táptalajokban, a gyomirtó szerek lebomlása ugyanis erősen pH függő. A táplevesek pontos összetételét fentebb részleteztük. A táptalajok 5–5 ml-eihez előzetesen a klórszulfuron megfelelő dózisait adagoltuk a beoltás előtt, hogy a végső koncentráció 0,001-; 0,01-; 0,1-; 1-; 10 mgL^{-1} legyen. A tiokarbamát származékoknál magasabb koncentrációk alkalmazására volt szükség, mivel azoknak a szántóföldi dózisai nagyságrenddel nagyobbak, mint a klórszulfuroné. Ezért a butilát, EPTC, molinát, cikloát és vernolát herbicideknél rendre 50-; 100-; 250-; 500- és 1000 mgL^{-1} dózisokat alkalmaztunk. Negatív kontrollként azok a kultúrák szolgáltak, amelyeket herbicid

bevitele nélkül tenyésztettünk ki. A spektrofotometriás mérés kivitelezéséhez szükség volt olyan „vak” kontroll csövekre is, amelyek csak az adott herbicid-koncentrációt tartalmazták. A mérés során a fotométert ehhez kalibráltuk, hogy a herbicid-dózis esetleg jelentkező színhatását a felszaporodó sejtek okozta denzitás értékektől biztonságosan el lehessen különíteni. Az inkubálást követően a szaporodás mértékét Spekol típusú spektrofotométerrel állapítottuk meg a „vak” segítségével történő bekalibrálást követően a herbicid nélküli kontroll csövekkel való összehasonlításban. A méréseket három-három ismétlésben végeztük. A különböző tápoldatok fotometrálásának hullámhossztartományát egyedileg határoztuk meg az egyes táptalajoknál, amelyeknek alapszíne befolyásolta a fotométer érzékenységét. A kiválasztott hullámhossz elsősorban az adott táptalajtól függött, így az arginin-glicerin levesnél (AG) λ=530-, az élesztőkivonat-mannit levesnél (YEM) λ=560-, a folyékony nutrient (N) táptalajnál pedig λ=640 nm hullámhossz-t alkalmaztunk. Ettől plusz-mínusz irányban lehettek eltérések a herbicidek különböző koncentrációi szerint, amit egyedileg előzetesen a fotométeren megállapítottunk.

Kitenyészthető telepszám-meghatározás

A szilárd táptalajon történő csíraszám-meghatározási módszernél a herbicidek különböző koncentrációi kerültek bevitelre az előzőekben már ismertetett táptalajokba. Az alkalmazott dózisok ugyanazok voltak, mint a rázatásos, mikrofermentoros módszer esetén. A mikroorganizmusok az adott „szelektív” táptalajokon Petri csészékben kerültek kitenyésztésre (Nutrient agar a baktériumok, AG táptalaj az *Actinomyces*-ek, és YEM a *Rhizobium* törzsek vizsgálatára). A herbicidek megfelelő koncentrációit a lemezöntés előtt adagoltuk a Petri-csészébe. A baktérium törzseket termosztátban fénytől védve inkubáltuk. A legtöbb mikroorganizmusnál az inkubációs hőmérséklet 28 ^{o}C volt. Ez alól kivételt képeztek az enterális eredetűek és a potenciális humán kórokozóként ismert *E. coli* baktérium, melyet 37 ^{o}C-on inkubáltunk. A 24-48 órás (24 óra – *Pseudomonas*-ok, 48 óra – a legtöbb baktérium és/vagy 72 órás – *Actinomyces*-ek) tenyésztést követően kifejlődött telepeket megszámoltuk a herbicid nélküli kontroll-lal összehasonlítottuk, és az eredményt a kontroll százalékában fejeztük ki. A kísérletet három ismétlésben végeztük el, néhány baktériumnál.

Biomasszatömeg-mérés

Az adott, herbicid-kezelt mikroorganizmus száraz tömegét a *Streptomyces griseus* törzsnél határoztuk meg. Ez a törzs hajlamos volt a flokkulálódásra, azaz sejtaggregátumok alakultak ki, így a szuszpenzió nem volt homogén, ami miatt nem lehetett fotométerrel megbízhatóan mérni. Az aggregálódás a klórszulfuron 10 mgL^{-1} dózisainál fordult elő, ami indokolta az egyéb csíraszám-meghatározási módszer keresését a herbicid-hatások

vizsgálatánál. A törzs leoltása, inkubációja és a herbicidek adagolása ugyanúgy történt, mint a korábbiakban ismertetett mikrofermentoros módszer során. A megfelelő inkubáció után a herbicideket is tartalmazó csöveket és a kontrollt külön-külön centrifugáltuk, az így kapott mikroorganizmus tömeget szárító szekrénybe helyeztük, és súlyállandóságig szárítottuk. A légszáraz sejttömeget analitikai mérlegen megmértük és összevetettük a kontroll, herbicidet nem kapott csövekben felszaporodott mikroorganizmusok sejttömegével.

3.2.3. Herbicid-érzékenységi vizsgálatok *in vivo*

Tenyészedényes kísérleti háttér kialakítása

A szulfonilkarbamidok csoportjába tartozó klórszulfuron ($C_{12}H_{12}Cl\text{-}N_5O_4S$ – 5. ábra) és egy ipari szennyvíz, mint abiotikus antropogén környezeti tényező és talaj-adalékanyag mikroorganizmusokra kifejtett egyedi és kombinált hatását mikrokozmosz talajinkubációs modellkísérletben elemeztük nagyhörcsöki mészlepedékes csernozjom talajjal.

A tenyészedényekbe 200 g légszáraz talajmintát mértünk be, majd a tiszta hatóanyag-tartalmú klórszulfuront a kontroll mellett négy koncentrációban alkalmaztuk. Alapkoncentrációként az egyszikűek gyomirtására a szántóföldön javasolt 20 gha^{-1} dózis szolgált, ami a 20 cm-es ásónyomnyi talajréteggel és a 10.000 m^2 felülettel számolva 0,001 $mgkg^{-1}$ talaj-mennyiségnek felelt meg. Az ezt követő koncentrációk: 0,01 $mgkg^{-1}$ és 1,0-, valamint 10 $mgkg^{-1}$ talaj dózisok voltak, azaz az alkalmazási gyakorlat 1-, 10-, 1000- és 10.000-szeres mennyiségei. A szerből a fenti koncentrációkhoz steril desztillált vízzel hígítási sorozatot készítettünk, majd a megfelelő dózisokat és steril desztillált vizet (vagy az alkalmazott szennyvizet) a talajba egyenletesen bekevertük. Kontrollként olyan talajmintát használtunk, amelybe csak klórszulfuron-mentes desztillált vizet vagy azonos mennyiségű szennyvizet juttattunk, a szárazföldi vízkapacitás 60 %-áig. Kísérleteink során a toxikus szennyezőanyagok, ill. a tápanyag utánpótlás mikrobiológiai hatásának elemzésére nagy szerves anyag tartalmú, viszont toxikus vegyületeket is tartalmazó ipari szennyvíz-kombinációkkal szintén elvégeztük az *in vivo* tesztelést. Ezért az egyik mintasorozatot a klórszulfuron 4-féle koncentrációjával kezeltük, a másikat kokszolóból származó szennyvízzel, a harmadik sorozatot pedig a herbicid és a szennyvíz együttes kombinációival A megfelelő herbicid dózisokat 60 ml desztillált vízzel (illetve a kombinált kezelésekben szennyvízzel) egyenletesen juttattuk be a talajba, majd az így kialakított víztartalmat a kísérlet befejezéséig súlyra-öntözéssel azonos szinten tartottuk.

Inkubálási körülmények, mintázási idők és módszerek

A kezelés után a tenyészedényeket lemértük, majd 28 ^{o}C-os termosztátba helyeztük. Az inkubáció ideje alatt az elpárolgott nedvességet minden edénynél hetente kétszer folyamatosan pótoltuk a szabadföldi vízkapacitás 60 %-áig. A mintákat 3 hétig, majd további

3 hónapig inkubáltuk. A mintavételezésre a harmadik hét-, illetve a harmadik hónap végén került sor. A talajmintákból ezt követően hígítási sorozatokat készítettünk a heterotróf összcsíraszám, az *Actinomyces*-ek és a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok, valamint a *Bacillus cereus* var. *mycoides* számának meghatározásához.

A hígítási sorokból pipettával 20-20 µl-t az általunk kifejlesztett cseppmódszerrel (Angerer et al. 1998, 2006, 2007, Biró és Angerer 1997) juttattunk a megfelelő szelektív táptalajokra három-három ismétlésben. Az eredmények igazolásához és a módszerek összehasonlítása céljából a hagyományos lemezöntéses, szélesztéses módszerrel is elvégeztük a tesztet.

A talaj kiindulási $pH_{(KCl)}$=7,0 értéke az inkubáció előtt és után is azonosnak bizonyult, ezért a klórszulfuron inkubációs ideje alatt a 7 pH értékre vonatkozó degradációs értékekkel számoltunk. A 3-hónapos időszak alatt bekövetkezett klórszulfuron lebomlást az irodalomban szereplő adatok alapján kalkuláltuk Thirunarayanan et al. (1985) javaslatai alapján.

A kitenyészthető mikroorganizmus csoportok száma

Az *in vivo* vizsgálat során a talajmintákat 10^{-8} értékig hígítottuk, majd az adott hígítási értéket a megfelelő szelektív táplemezeken használtuk fel.

- A heterotróf csíraszám és a *Bacillus cereus* var. *mycoides* meghatározásához Nutrient (N) táptalajt,
- az *Actinomyces*-ek számlálásához Arginin-glicerin (AG) agart,
- a szabadon élő nitrogén-kötők meghatározásához pedig Kongóvörös indikátort is tartalmazó Ashby agart (KA) használtunk (Szegi 1979, Vincent 1970).

A Nutrient táptalajon jól kifejlődött *B. cereus* var. *mycoides* baktérium számát mikroszkóp segítségével is ellenőriztük. Az inkubáció letelte után a kifejlődött telepeket megszámoltuk, és a telepképző egységeket („colony-forming units”, CFU) 1 g légszáraz talajra vonatkoztatva adtuk meg.

3.3. Az eredmények értékelése és bemutatása

Az *in vitro* kísérletek eredményeit egy- és kéttényezős variancia-analízissel vizsgáltuk, a különbségeket p=0,05 szignifikancia szinten állapítottuk meg (Reichart 2005). A mikrofermentoros módszernél az egyedi mikrobák különböző herbicid-koncentrációkra való érzékenységét a fotométeren kapott optikai denzitás értékeit a kontroll százalékában adtuk meg és oszlopdiagramokon, valamint táblázatosan ábrázoltuk, az oszlopok felett megjelenítve az adott eredményre vonatkozó egyedi számszerű értékeket is. Az oszlopok színezése az alkalmazott herbicid-dózis arányában a világostól a sötétig halad. A legkisebb herbicid dózis oszlopát fehérrel, a legnagyobb koncentrációt pedig feketével jelöltük. Az oszlopokon

megjelenítettük az átlagszórást is. A szignifikáns eredményeket az oszlopok felett csillaggal (*) jelöltük meg.

A szilárd táptalajon történő csíraszám-meghatározási módszernél a folyékony kultúra száraz mikroorganizmus tömegének meghatározásakor az eredményeket szintén a kontroll százalékában fejeztük ki. Az *in vitro* kísérletek során a herbicidek mikroorganizmusokra kifejtett összesített hatásait kéttényezős variancia-analízissel (VA) értékeltük ki, a különbségek (LSD) p=0,05 szignifikancia szinten történő megállapításával, és a kontroll százalékában fejeztük ki. A kapott eredményeket oszlopdiagramon ábrázoltuk.

A tenyészedényes *in vivo* kísérletek eredményeit egytényezős varianciaanalízissel értékeltük, majd az átlagadatok log_{10}-transzformált adatait ábrázoltuk az $SZD_{5\%}$ szignifikancia-érték megjelölésével, oszlopdiagramok alkalmazásával.

Az alapadatok kiértékelésénél kapott variancia-analízis táblákat rendre a függelékben mutatjuk be. Ide kerültek azok a grafikonok is, amelyeknél a vizsgálatokkal nem, vagy tendenciájában nem eltérő hatásokat tudtunk regisztrálni.

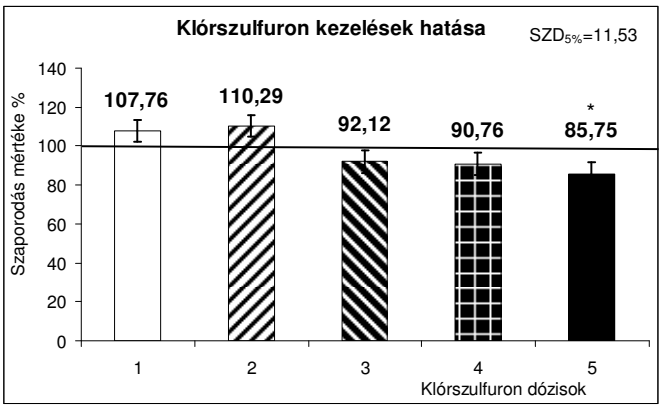
4. EREDMÉNYEK

4.1. A mikroorganizmusok szaporodása klórszulfuronnal szemben *in vitro*

Az *in vitro* kísérletek során a klórszulfuron herbicid különböző dózisainak alkalmazásánál kapott eredményeket különböző szempontok szerint a következő pontokban mutatjuk be.

4.1.1. A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása

A klórszulfuron különböző, növekvő dózisú koncentrációinak hatásait az általunk kiválasztott mikroorganizmusokra a 6., 7., 8., 9., 10. és 11. számú ábrákon mutatjuk be.

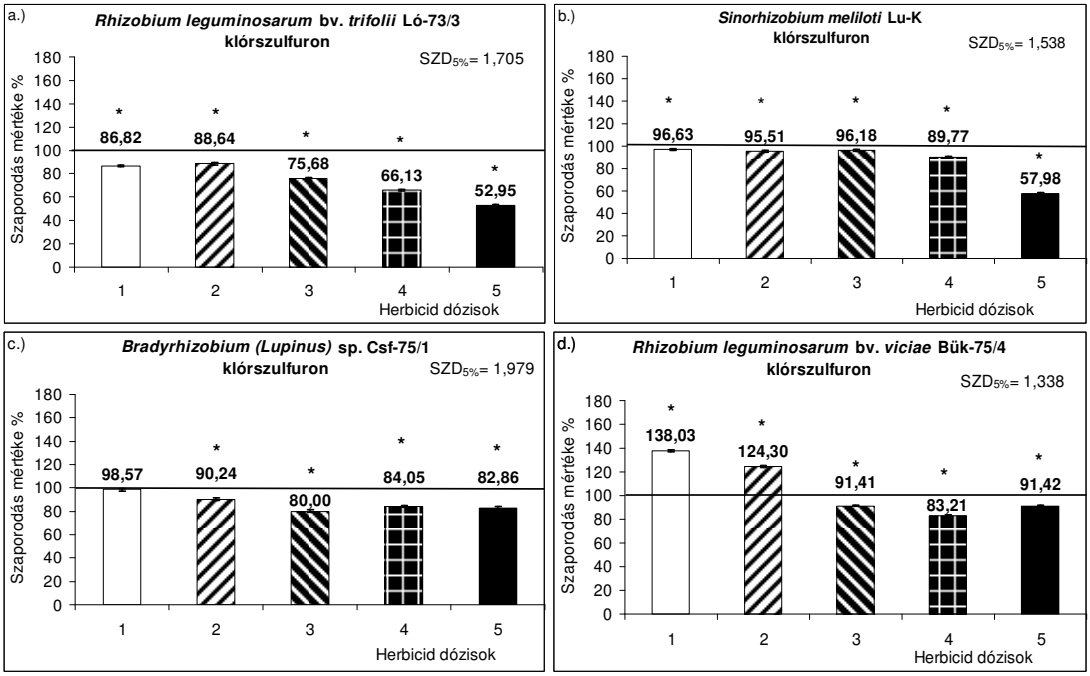


6. ábra: A klórszulfuron növekvő koncentrációinak összesített, kumulatív hatása 17 mikroorganizmus-törzs szaporodására (a szaporodás mértéke az egyenes vonallal jelölt kontroll %-ában kifejezve). Jelölések: 1.) 0,001-, 2.) 0,01-, 3.) 0,1-, 4.) 1-, 5.) 10 mgL^{-1}

A vizsgálatokba bevont mikroorganizmusoknál a klórszulfuron kis dózisai (0,001-; 0,01 mgL^{-1} tendenciájában serkentették a szaporodást, ám a különbség a 100 %-os kontrollhoz viszonyítva nem volt szignifikáns. A 0,1 mgL^{-1} és az azt meghaladó herbicid-koncentrációknál a vizsgált baktériumtörzsek szaporodása csökkent, de összességében szignifikáns gátlást csak a legnagyobb 10 mgL^{-1} dózisnál tapasztaltunk (6. ábra).

Ettől jelentősen eltért a klórszulfuron különböző dózisainak kumulatív hatása a *Bacillus subtilis* (9.b. ábra), *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf-75/1. (7.c. ábra), *Sinorhizobium meliloti* Lu-K (7.b. ábra), *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. (7.a. ábra), *Xanthomonas campestris* (10.d. ábra), *Pseudomonas alcaligenes* (9.b. ábra), *P. fluroescens* (9.c. ábra) és a *Streptomyces griseolus* (11.b. ábra) baktériumokra. A fentiek közül a *B. subtilis, Azotobacter* spp., *B. (Lupinus)* sp., *S. meliloti* és a *X. campestris* törzsekre minden koncentráció szignifikánsan gátló hatással volt, míg a *P. alcaligenes, P. fluorescens* és a *S. griseolus* törzseknél minden koncentráció szignifikánsan stimulált.

4.1.2. A különböző mikroorganizmusok klórszulfuron érzékenysége

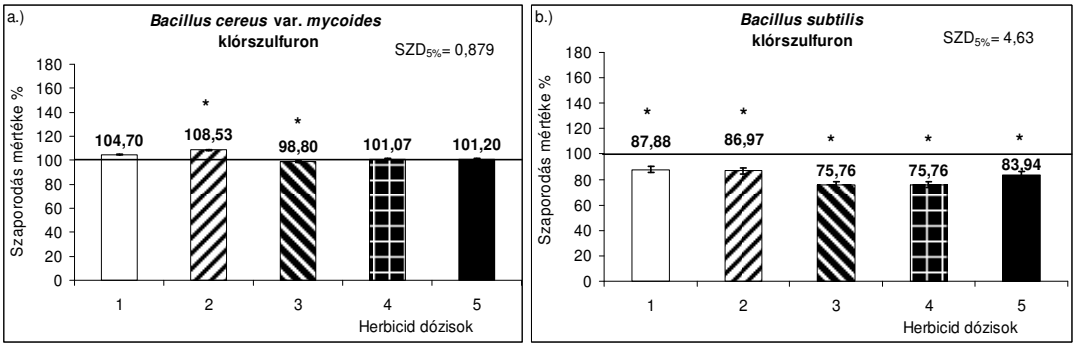


7. ábra: A klórszulfuron herbicid növekvő koncentrációinak hatása az a.) *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3, b.) *Sinorhizobium meliloti* Lu-K, c.) *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf. 75/1, d.) *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. baktériumtörzsek szaporodásának mértékére mikrofermentoros módszerrel. A klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

A *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3 baktériumtörzs szaporodását a klórszulfuron minden dózisa szignifikánsan gátolta (7.a. ábra). A *Sinorhizobium meliloti* Lu-K törzsnél csak a legnagyobb koncentráció okozott jelentős, mintegy 40 %-os gátlást. A szaporodás ennél a herbicidnél, a fokozatos csökkenés ellenére, a legnagyobb dózisnál is kimutatható volt (7.a-d. ábra). A fenti két szimbionta nitrogén-kötő baktérium között lényeges különbség adódott, mivel a *S. meliloti* Lu-K szaporodását csak a legnagyobb herbicid-dózis gátolta (7.b. ábra) szemben a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3 törzsnél tapasztalt egyenletes csökkenéssel (7.a. ábra). A gyomirtó szer minden alkalmazott koncentrációja a *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf. 75/1. törzs szignifikáns szaporodás-gátlását okozta (7.c. ábra). A *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bükköny 75/4. baktérium szaporodását a herbicid szántóföldi (0,001 mgL^{-1}) és 10-szeres (0,01 mgL^{-1}) dózisa serkentette, a többi koncentráció pedig szignifikánsan gátolta (7.d. ábra).

Az *in vitro* kísérletek során teszteltük a szabadon élő nitrogén-kötők közé tartozó *Azotobacter* spp. herbicid-érzékenységét is, mely során megállapítottuk, hogy a klórszulfuron nem volt szignifikáns hatással e baktérium szaporodására.

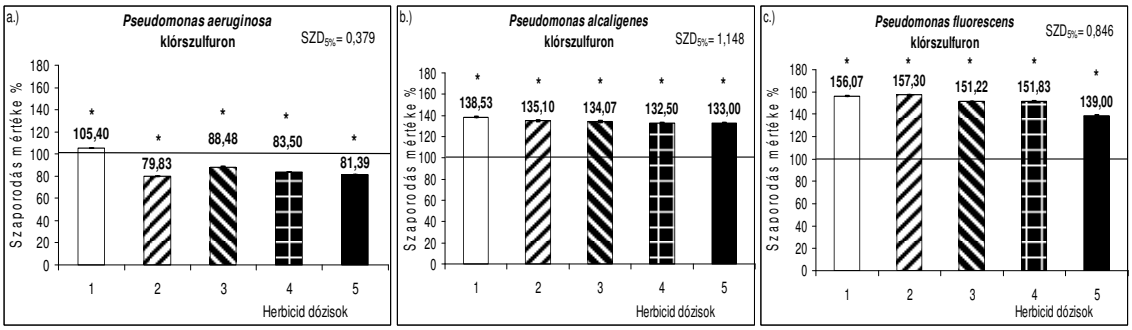
Két jellegzetes spórás, irodalmi adatok alapján növénynövekedést serkentő *Bacillus* törzs – a *Bacillus cereus* var. *mycoides* és a *B. subtilis* klórszulfuron érzékenységét is vizsgáltuk.



8. ábra: A klórszulfuron herbicid növekvő koncentrációinak hatása az a.) *Bacillus cereus* var. *mycoides,* b.) *Bacillus subtilis* spórás, növénynövekedést serkentő baktériumok szaporodásának mértékére mikrofermentoros módszerrel. A klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

A klórszulfuron a 0,1 mgL^{-1} dózis kivételével szignifikánsan stimulálta a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktérium szaporodásának mértékét (8.a. ábra). A *B. cereus* var. *mycoides* spórás baktérium a 0,01 mgL^{-1} herbicid koncentrációra a szaporodóképesség növekedésével reagált (8.b. ábra). Ennek mértéke megközelítőleg 20 %-os volt, a herbicid nélküli kontrollhoz viszonyítva.

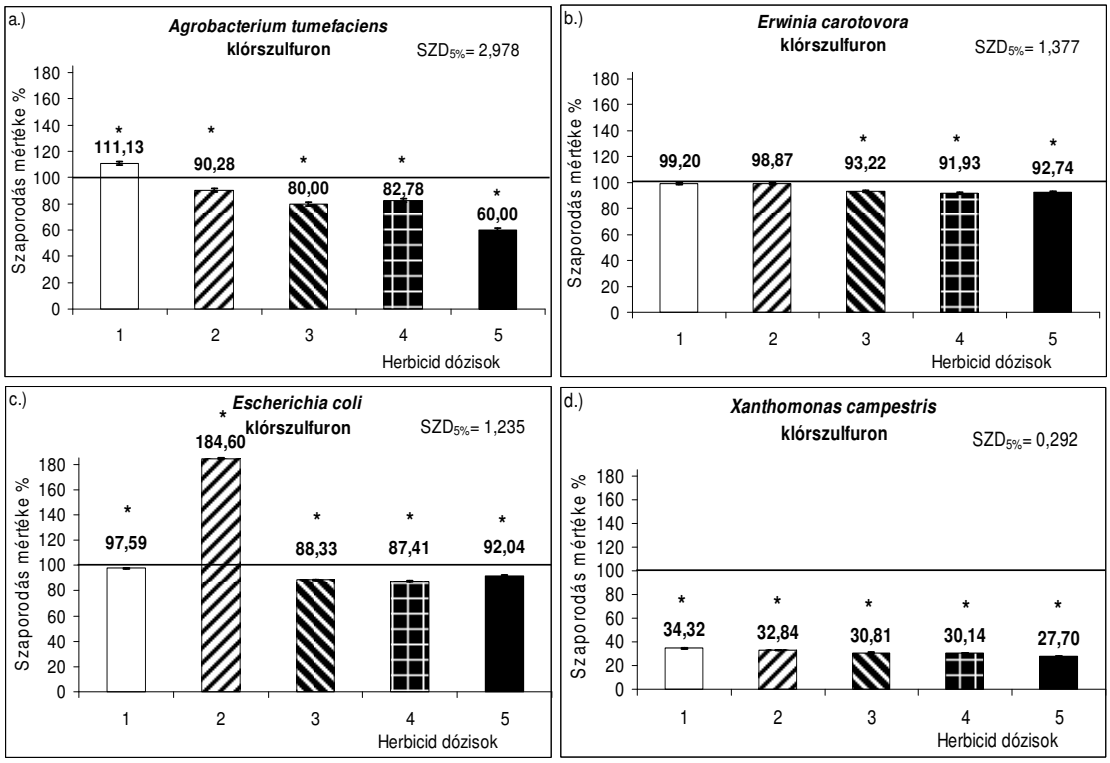
A herbicidek eliminációjában ismert irodalmi adatok alapján szerepet játszó, növénynövekedést serkentő *Pseudomonas*-ok faj-reprezentásainak herbicid-érzékenységét szintén ellenőriztük.



9. ábra: A klórszulfuron herbicid növekvő koncentrációinak hatása az a.) *Pseudomonas aeruginosa,* b.) *P. alcaligenes* és a c.) *P. fluorescens* növénynövekedést serkentő baktériumok szaporodásának mértékére mikrofermentoros módszerrel. A klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

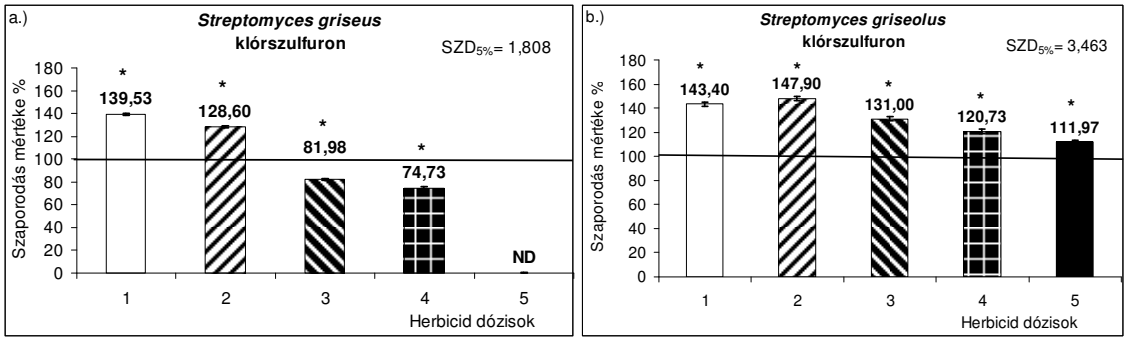
A klórszulfuron legkisebb koncentrációja, mely a szántóföldön alkalmazott dózisnak felelt meg, szignifikánsan serkentő hatással bírt a *P. aeruginosa* baktérium szaporodására a kontrollhoz viszonyítva (9.a. ábra). Ugyanakkor a többi alkalmazott koncentrációra a baktérium érzékenynek bizonyult, szignifikáns szaporodás-gátlást szenvedett. A szer minden

alkalmazott dózisa a *P. alcaligenes* szignifikáns szaporodás-növekedését eredményezte, mintegy 35-38 %-ban megnövelve a szaporodás mértékét a kontrollhoz viszonyítva (9.b. ábra). A *P. fluorescens* szaporodását szintén minden felhasznált dózis szignifikánsan serkentette (9.c. ábra).



10. ábra: A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása az a.) *Agrobacterium tumefaciens,* b.) *Erwinia carotovora,* c.) *Escherichia coli,* d.) *Xanthomonas campestris* potenciális növényi és humán patogén baktériumok szaporodásának mértékére mikrofermentoros módszerrel. A klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

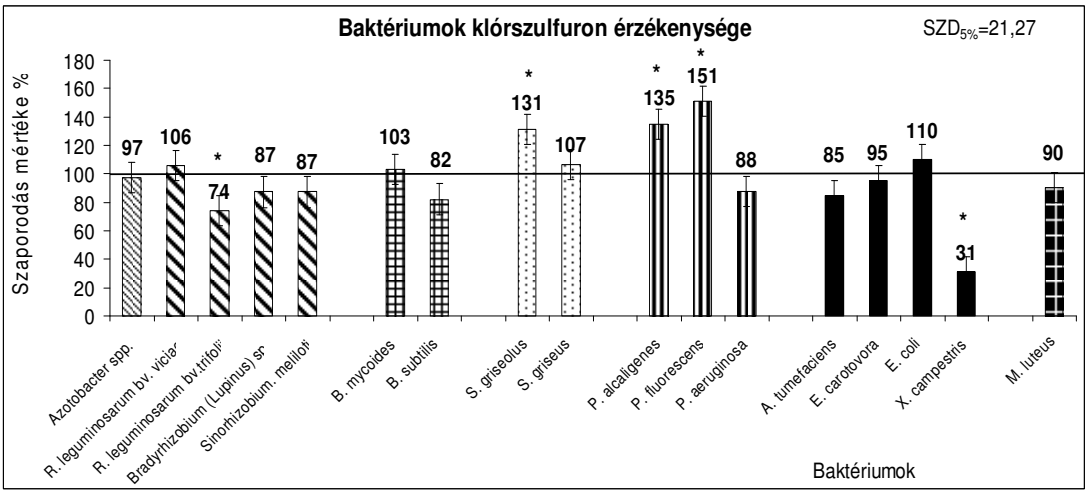
A klórszulfuron szántóföldi koncentrációja az *A. tumefaciens* baktériumnak kismértékű, de szignifikáns szaporodás-növekedését, a többi dózis viszont egyértelmű, szignifikáns csökkenését idézte elő (10.a. ábra). Az *E. carotovora* szaporodására a szer legkisebb dózisa hatástalan maradt, ugyanakkor az összes ennél nagyobb herbicid-koncentráció szignifikáns gátlást eredményezett (10.b. ábra). Az *E. coli* baktériumot csupán a 0,01 mgL^{-1} stimulálta, a többi dózisnál azonban szignifikáns, de nem jelentős gátlást mértünk (10.c. ábra). A *X. campestris* növényi patogén baktérium igen érzékenynek bizonyult a klórszulfuronra (10.d. ábra). A herbicid minden alkalmazott koncentrációja nagymértékű, szignifikáns szaporodás-gátláshoz vezetett.



11. ábra: A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása az a.) *Streptomyces griseus,* b.) *S. griseolus* szaporodásának mértékére mikrofermentoros módszerrel. A klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

A klórszulfuron 0,001- és 0,01 mgL^{-1} koncentrációi szignifikánsan stimulálták a *Streptomyces griseus* szaporodását (11.a. ábra). Ennél a törzsnél a dózisfüggés nagy szélsőségeket eredményezett. Ugyanakkor ezzel a módszerrel a *S. griseus* törzs szaporodása nehezen volt mérhető, mert a nagyobb koncentrációknál jelentkező poliszacharid termelés miatt a sejtek flokkulálódtak (aggregátumok képződtek), ezért a 10 mgL^{-1} koncentrációnál a szaporodás mértékét nem lehetett pontosan meghatározni. A herbicid 0,1-; 1- és 10 mgL^{-1} dózisainak a *S. griseus* szaporodására kifejtett kedvezőtlen hatásai a *Rhizobium* baktériumokhoz hasonlóan megnyilvánultak. A szer minden alkalmazott dózisa jelentős mértékben, szignifikánsan stimulálta a *S. griseolus* szaporodását (11.b. ábra). A szántóföldön szokásos koncentráció majdnem kétszeresére növelte a szaporodás mértékét.

A *Micrococcus luteus* baktérium szaporodását a klórszulfuron 0,01 mgL^{-1} dózisa szignifikánsan serkentette, míg a többi (0,001-; 0,1-, 1- és 10 mgL^{-1}) koncentráció szignifikánsan gátolta (M-1 melléklet m-1. ábra).



12. ábra: A klórszulfuron összesített hatása a vizsgált mikroorganizmusok egyes csoportjainak és törzseinek szaporodására *in vitro*. A szaporodás mértéke az egyenes vonallal jelölt kontroll %-ában kifejezve.

A tesztelt baktériumok közül a klórszulfuronra a legérzékenyebbnek a növényi patogén *X. campestris* (31 %) bizonyult, de a szer a szimbionta nitrogénkötő *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. törzsnek is jelentősen gátolta a szaporodását (74 %, 12. ábra). E két baktériumnál az átlagos szaporodás-gátlás szignifikáns volt a kontroll 100 %-hoz viszonyítva. Nem szignifikáns szaporodás csökkenést észleltünk a *B. subtilis* (82 %), *A. tumefaciens* (85 %), *Sinorhizobium. meliloti* (87 %), *Bradyrhizobium. (Lupinus)* sp. (87 %), *P. aeruginosa* (88 %), *M. luteus* (90 %) *Azotobacter* spp. (97 %), *E. carotovora* (95 %) törzsek esetében. A szer szignifikánsan stimulálta a *P. fluorescens* (151 %), *P. alcaligenes* (135 %) *és a S. griseolus* (131 %) szaporodását. Nem szignifikánsan, de tendenciájában serkentette még az *E. coli* (110 %) *S. griseus* (107 %) *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. (106 %), *B. cereus* var. *mycoides* (103 %) szaporodását is (12. ábra). Az érzékenységi mintázatok értékelésével készített eredményeket a klórszulfuron általunk vizsgált növekvő koncentrációival szemben a 9. számú összesítő táblázat mutatja be. Az átlagolt eredmények szerint a különböző tesztelt mikroorganizmus törzs közül a klórszulfuronra a legérzékenyebbnek a növényi patogén *Xanthomonas campestris* bizonyult. Emellett nagyfokú szenzitivitást mutattak a szimbionta nitrogénkötő *Rhizobium*-ok, ezek között is a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. sz. törzse.

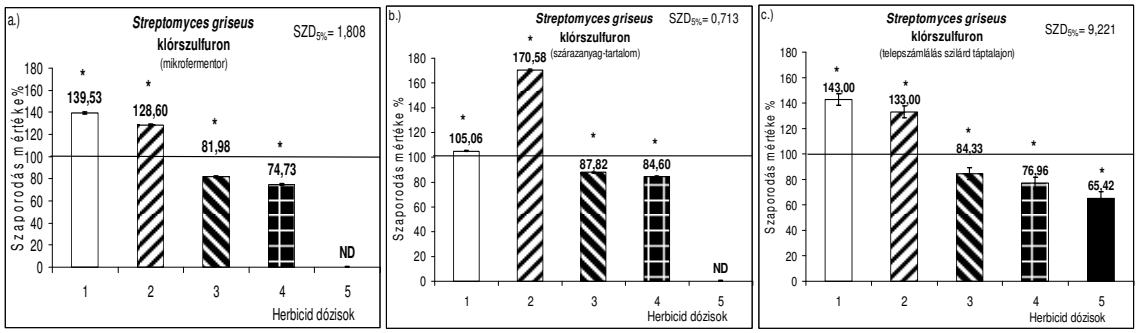
9. táblázat: Mikroorganizmusok klórszulfuron-érzékenységének összehasonlító értékelése

Mikroorganizmusok	**Klórszulfuron koncentrációk**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
Nitrogénkötő baktériumok					
Azotobacter spp.	+	+	-	0	-
Rhizobium *leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4	+	+	-	-	-
R. *leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3	-	-	-	-	-
Sinorhizobium *meliloti* Lu-K	-	-	-	-	-
Bradyrhizobium *(Lupinus)* Csf-75/1	-	-	-	-	-
Spórások					
Bacillus. *cereus* var. *mycoides*	+	+	-	+	+
B. *subtilis*	-	-	-	-	-
Streptomycesek					
Streptomyces *griseolus*	+	+	+	+	+
S. *griseus*	+	+	-	-	ND
Pseudomonasok					
Pseudomonas. *alcaligenes*	+	+	+	+	+
P. *fluorescens*	+	+	+	+	+
P. *aeruginosa* *	+	-	-	-	-
Potenciális kórokozók					
Agrobacterium *tumefaciens*	+	-	-	-	-
Erwinia *carotovora*	0	0/-	-	-	-
Escherichia *coli*	-	+	-	-	-
Xanthomonas *campestris*	-	-	-	-	-
Micrococcus *luteus*	-	+	-	-	-

* **a *P.*** *aeruginosa* is potenciális kórokozó, Jelmagyarázat: 0: nincs hatás, 0/-: nincs hatás/nem szignifikáns gátlás, 0/+: nincs hatás/nem szignifikáns stimulálás, +: szignifikáns stimulálás, -: szignifikáns gátlás, -/0: nincs szaporodás. ND: nincs adat. Klórszulfuron koncentrációk: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1,0-; 5.) 10 mgL^{-1}

4.1.3. A klórszulfuron-érzékenység kimutatása más módszerekkel

Mivel a *S. griseus* törzsnél a klórszulfuron általunk alkalmazott legmagasabb dózisánál (10 mgL^{-1}) aggregátumok képződése miatt fotometrálási nehézségek adódtak, a vizsgálatot szárazanyag-tartalom meghatározással és lemezöntéses telepszámlálási módszerrel is elvégeztük.



13. ábra: A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodásának mértékére a.) mikrofermentoros, b.) folyékony kultúra száraz mikroorganizmus tömegének meghatározása, c.) szilárd táptalajon történő telepszámlálás módszerekkel, klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1}

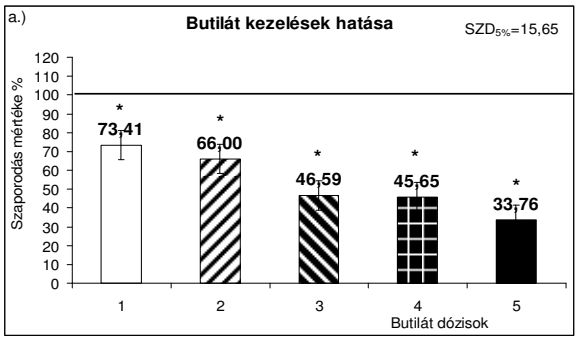
A folyékony kultúra száraz mikroorganizmus tömegének meghatározásával is tesztelt *S. griseus* klórszulfuron-érzékenysége hasonlóképpen alakult, mint ahogy azt a mikrofermentoros módszernél is tapasztaltuk (13.a. ábra). A 0,001 és a 0,01 mgL^{-1} dózisok szignifikánsan stimulálták a *S. griseus* szaporodását, míg az ennél magasabb koncentrációk szignifikáns gátlást eredményeztek. A legnagyobb 10 mgL^{-1} dózisnál a sejtek aggregálódása miatt nem lehetett egzakt módon meghatározni a száraz sejttömeget sem, hasonlóképpen a mikrofermentoros módszerhez, a fotometrálási nehézségek miatt (13.b. ábra).

A szilárd táptalajon történő telepszámlálás gyakorlatilag hasonló eredményt hozott, mint a két másik tesztelési módszer, a legnagyobb általunk alkalmazott herbicid-koncentráció kivételével, ahol is a *S. griseus* törzsnél szignifikáns szaporodás-gátlást tapasztaltunk. Ennél az utóbbi módszernél is a 0,001- és a 0,01 mgL^{-1} dózisok szignifikáns stimulációt okoztak, az 1 és a 10 mgL^{-1} koncentrációk pedig sejtszám-csökkenést (13.c. ábra).

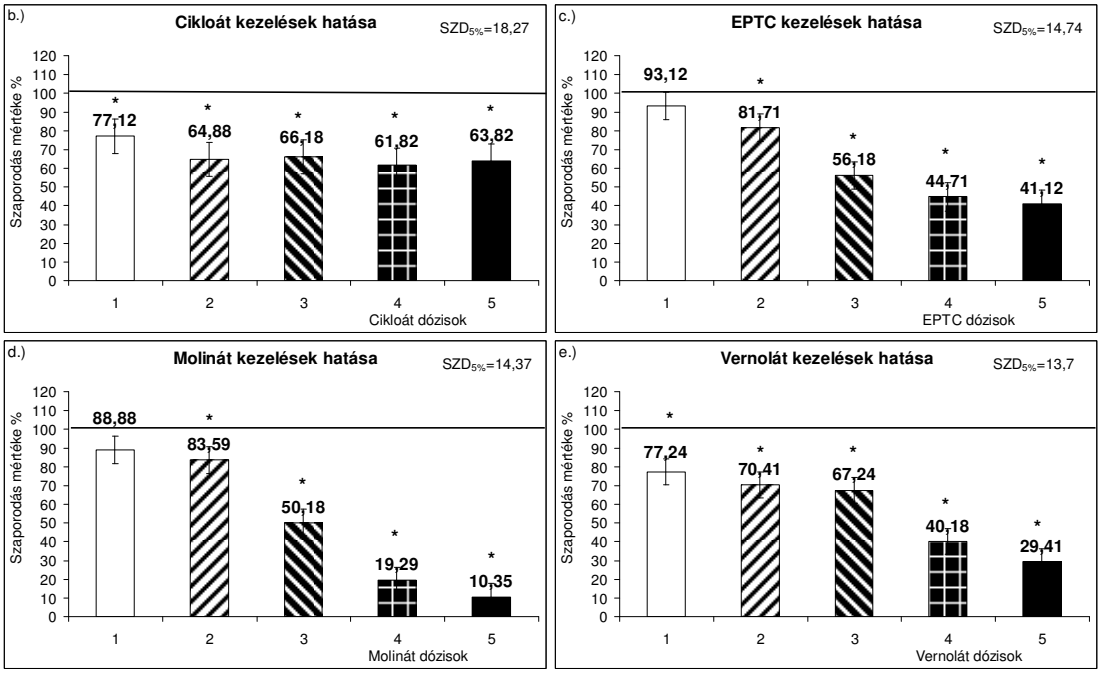
4.2. A mikroorganizmusok szaporodása a tiokarbamátokkal szemben *in vitro*

Az új generációs gyomirtó szernek számító szulfonilureák csoportjába tartozó klórszulfuronnal szemben összehasonlítás céljából egy régi generációs herbicid csoportot – a tiokarbamátokat is bevontuk az *in vitro* kísérletsorozatba. A butilát, cikloát, EPTC, molinát és vernolát hatóanyagú vegyületek hatásait az alábbiakban mutatjuk be.

4.2.1. A tiokarbamátok növekvő koncentrációinak hatása



14. a. ábra: A butilát, tiokarbamát-típusú herbicid növekvő dózisainak kumulatív hatása az összes vizsgált mikroorganizmusra. A szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve. A koncentrációk jelölései: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



14. b. ábra: A cikloát, az EPTC, a molinát és a vernolát tiokarbamát-típusú herbicidek különböző általunk alkalmazott dózisainak kumulatív hatása az összes vizsgált mikroorganizmusra. A szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve. A herbicidek sorrendje: b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát. A koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A tiokarbamátok mindegyik dózisa a kontollhoz viszonyítva összességében gátolta a vizsgált mikroorganizmusok szaporodását. A butilát és a vernolát esetében már a legkisebb dózis is szignifikáns gátlást okozott az összes vizsgált baktériumtörzsre nézve. Az 50 mgL^{-1} feletti koncentrációk kivétel nélkül minden tiokarbamátnál szignifikáns szaporodás-csökkenést eredményeztek. A tiokarbamátok különböző dózisainak kumulált hatása nem okozott stimulációt (14. a-b. ábra). Ettől jelentősen eltért a *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. és az *Azotobacter* spp., ahol is a tiokarbamátok összességében stimulálták a szaporodást

a kontrollhoz viszonyítva. A *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. jelű törzsnél a molinát és a vernolát kivételével minden dózis serkentette a szaporodást, a molinátnál a kisebb koncentrációk stimuláltak. Az *Azotobacter* spp. baktériumnál a cikloát, az EPTC és a vernolát mindegyik dózisa serkentett, a butilát és a molinát esetében csak az 50- és a 100 mgL^{-1} dózisok. A *X. campestris, B. subtilis, S. griseolus és S. griseus* vizsgált törzseinél a tiokarbamátok legtöbb koncentrációja nagymértékű szaporodás-csökkenést eredményezett. A *S. griseus* baktériumnál az EPTC és a molinát 100 mgL^{-1} koncentrációja szignifikáns stimulációt okozott.

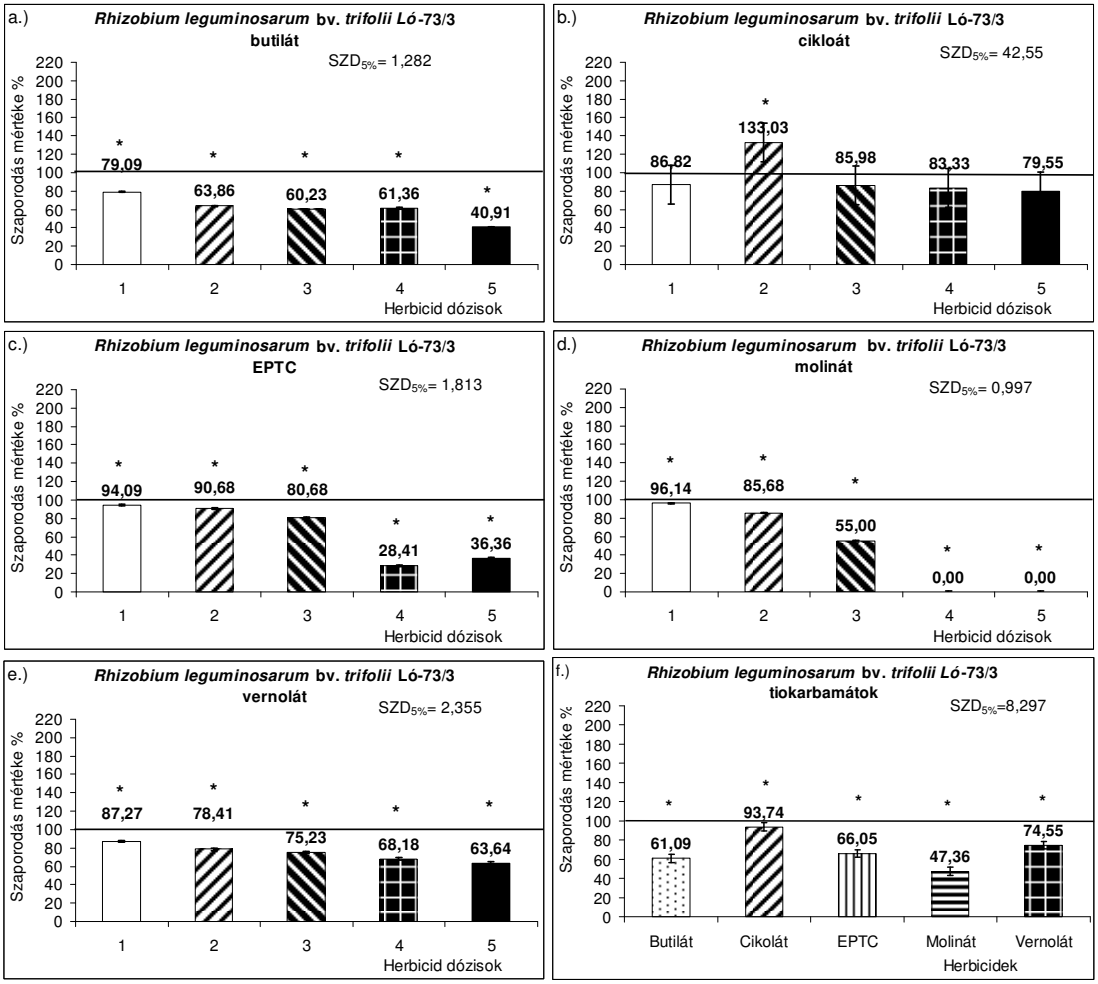
A tiokarbamát származékok hatásait a 10. számú összesítő táblázat mutatja be.

10. táblázat: A vizsgált mikroorganizmusok érzékenysége a tiokarbamát herbicidek különböző koncentrációira in vitro

Mikro-organizmusok	Butilát					Cikloát					EPTC					Molinát					Vernolát				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Nitrogén-kötők																									
Azotobacter spp.	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Rhizobium *leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-/0%	+	+	+	-	+
R. *leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-
Bradyrhizobium. *(Lupinus)* sp. Csf-75/1.	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	0	0	-	-	-	+	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-
Sinorhizobium. *meliloti* Lu-K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%
Spórások																									
Bacillus. *cereus* var. *mycoides*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	0/-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	0/+	0/+	0/-	0/+	0/+
B. *subtilis*	-	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	+	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-	-/0%	-/0%	-/0%	-	-	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%
Streptomyces *griseolus*	-	-	-/0%	-/0%	-/0%	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%	-	-	-	-	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%
S. *griseus*	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-	+	-	-/0%	-/0%	0	+	+	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%	-/0%
Pseudomonasok																									
Pseudomonas. *alcaligenes*	+	0	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-/0%	-/0%	+	+	-	-	-
P. *fluorescens*	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-
P. *aeruginosa**	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0/-	-	0/-	0/-	-
Potenciális kórokozók																									
Agrobacterium *tumefaciens*	-	0	-	-	-	+	-	+	-	-	0/-	+	-	-	-	0	0	-	-	-/0%	-	+	0	-	-/0%
Erwinia *carotovora*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%
Escherichia *coli*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%
Xanthomonas *campestris*	-	-	-/0%	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%
Micrococcus *luteus*	-	-	-/0%	-/0%	-/0%	-	-	-	-	-/0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-/0%

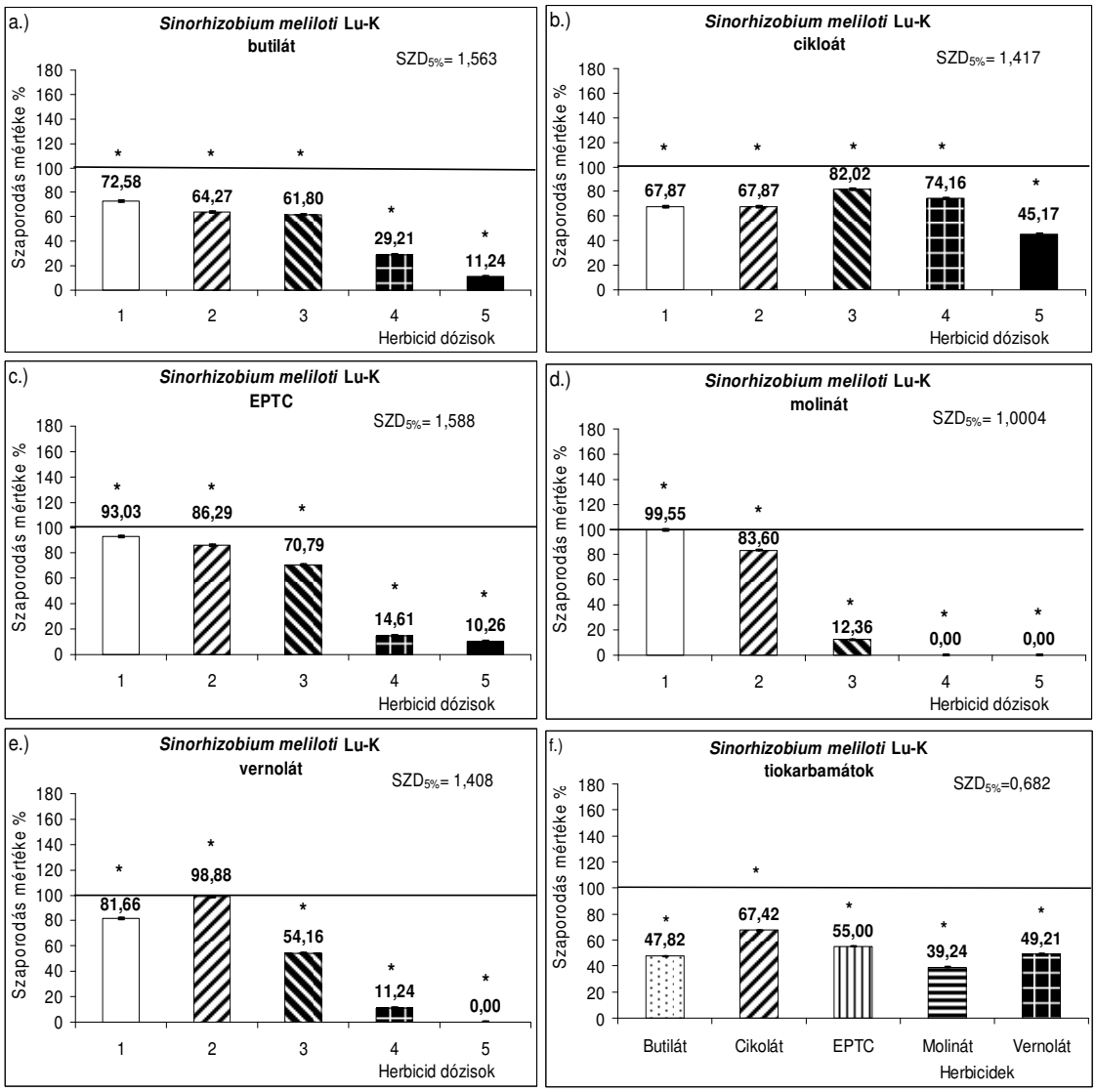
* Ismert potenciális kórokozó a *P. aeruginosa* is. Jelmagyarázat: 0: nincs hatás; 0/-: nincs hatás, nem szignifikáns gátlás; 0/+: nincs hatás, nem szignifikáns stimulálás; +: szignifikáns stimulálás; -: szignifikáns gátlás; -/0: nincs szaporodás. Tiokarbamát koncentrációk: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

4.2.2. A különböző mikroorganizmusok tiokarbamát érzékenysége



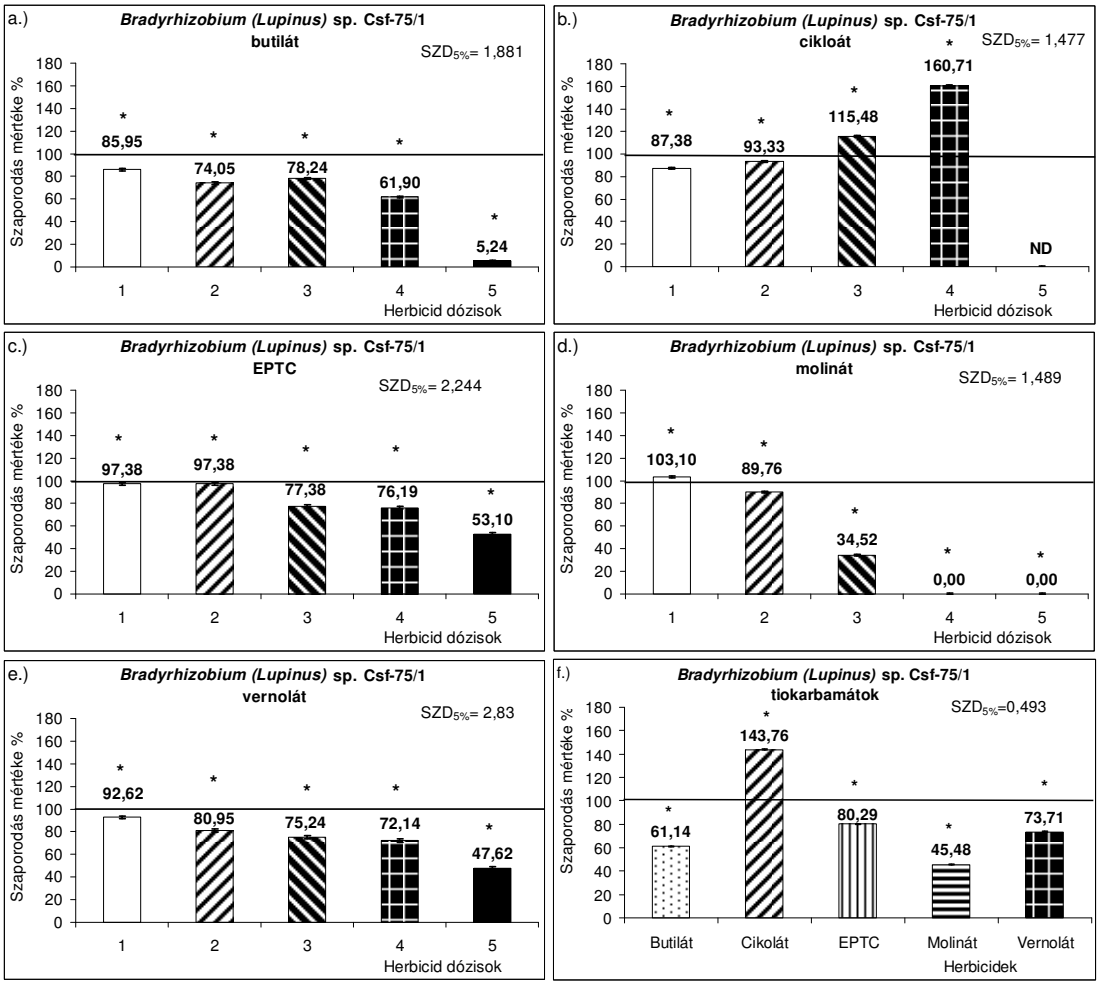
15. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. baktériumtörzs szaporodását a tiokarbamátok közül a butilát, az EPTC, a molinát és a vernolát szignifikánsan gátolta (15. ábra). A legnagyobb gátlást a molinát okozta, a magasabb dózisoknál pedig nem volt mérhető szaporodás. A butilát és az EPTC legmagasabb koncentrációja a felére csökkentette a szaporodást. A cikloát kezelés hatására szignifikáns különbség a minták között nem volt, a 100 mgL^{-1} dózis kivételével, mely szignifikáns serkentést okozott. A tiokarbamátok közül a legkárosabb hatást erre a baktériumra a molinát gyakorolta, a legkevésbé pedig a cikloát gátolta a szaporodást (15.f. ábra). A molinát alkalmazásánál az 500 és 1000 mgL^{-1} dózisoknál nem volt mérhető szaporodás (15.d. ábra).



16. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Sinorhizobium meliloti* Lu-K baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A *Sinorhizobium meliloti* Lu-K baktériumtörzsnél a tiokarbamát származékok minden koncentrációja szignifikáns szaporodás gátlást idézett elő (16.a-e. ábra). A molinát és a vernolát esetében a legnagyobb alkalmazott dózisoknál a szaporodás mértéke csekély vagy 0 volt. Összességében a legnagyobb gátló hatást a molinát okozta, legkevésbé káros hatást pedig a cikloát fejtette ki (16.f. ábra).

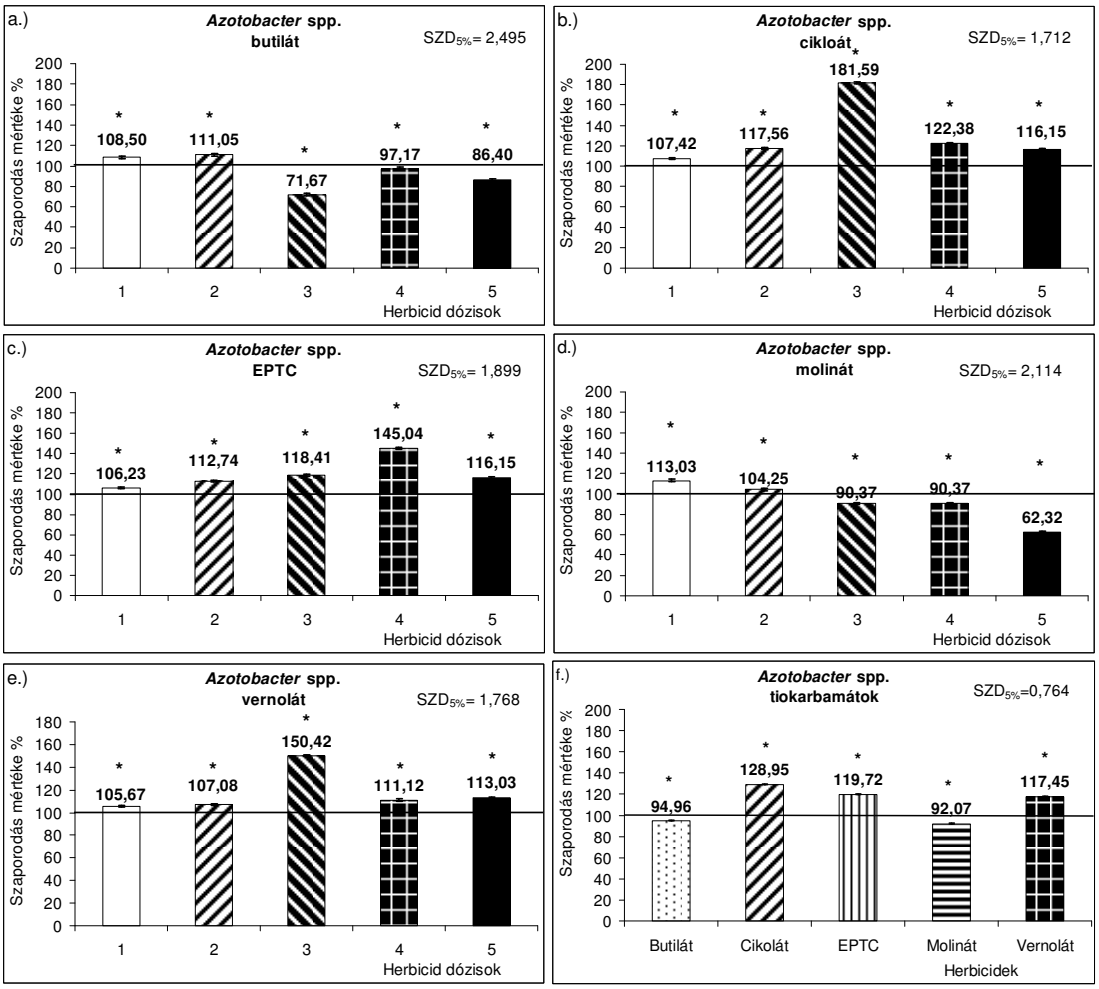


17. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf-75/1. baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A cikloát kivételével minden tiokarbamát herbicid az alkalmazott koncentrációkban szignifikáns szaporodás csökkenést idézett elő a *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf-75/1. baktériumtörzsnél (17. a-e. ábra). A cikloát alkalmazásánál csak az 50- és a 100 mgL^{-1} dózis okozott szignifikáns szaporodás gátlást, a többi nagyobb koncentrációnál szignifikáns stimulációt figyelhettünk meg. Az 1000 mgL^{-1} koncentrációnál a baktérium szaporodásának mértékét a nyálkatermelés miatt fotométerrel meghatározni nem lehetett. A legnagyobb szaporodás gátlást a molinát okozta, az 500 és 1000 mgL^{-1} dózisoknál a szaporodás mértéke 0 volt. Az átlag hatásokat nézve szintén a molinát fejtette ki a legkárosabb hatást, legkevésbé ártalmas pedig a cikloát volt (17.f. ábra).

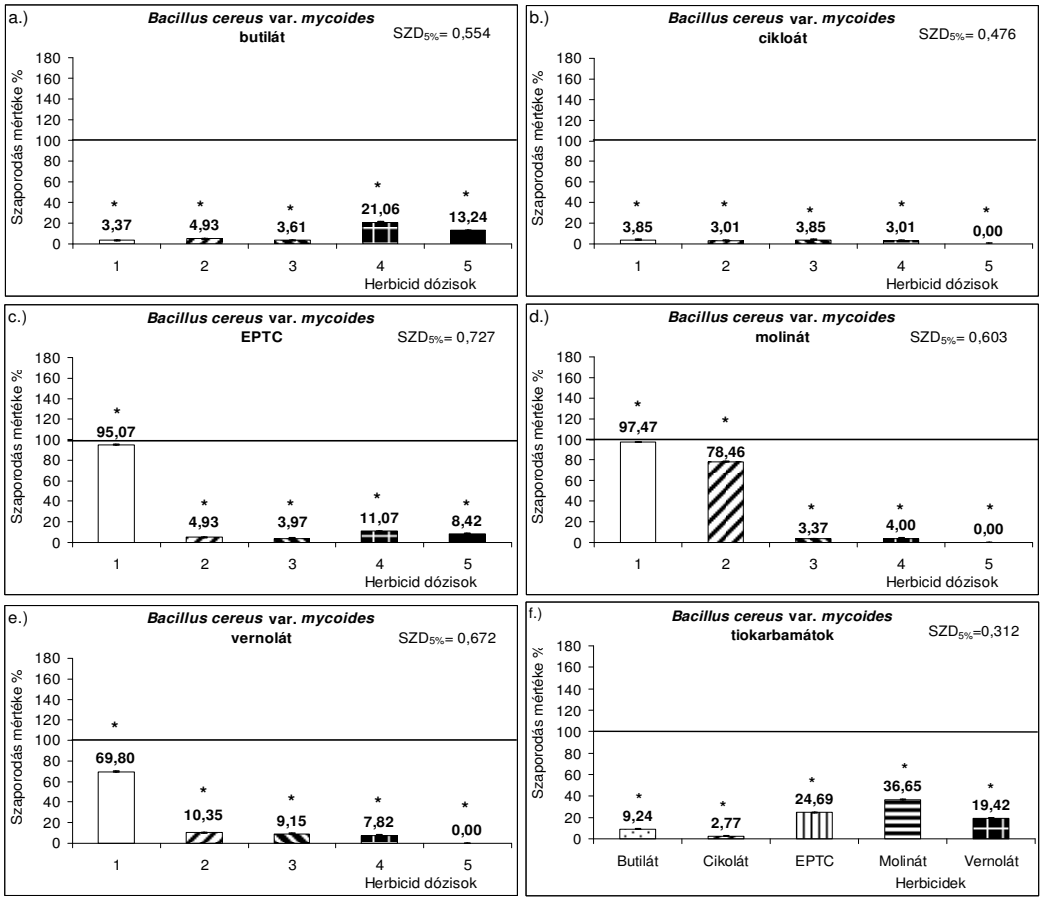
A tiokarbamát származékok a molinát kivételével a *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. baktérium szignifikáns szaporodás-serkentését idézték elő (M-1 melléklet m-2.a-e. ábra). A molinát használatánál a 250 mgL^{-1} és az 500 mgL^{-1} dózisok szignifikáns gátlást

mutattak, míg a nagyon magas 1000 mgL^{-1} koncentrációnál nem volt kimutatható szaporodás (M-1 melléklet m-2.d. ábra). A vernolát esetében az 500 mgL^{-1} alkalmazás okozott szignifikáns szaporodás-gátlást, míg ennél a herbicidnél a többi dózisnál szignifikáns stimulációt mérhettünk (M-1 melléklet m-2.e. ábra). A tiokarbamátok kumulált hatásában a legnagyobb csökkenést a molinát idézte elő, a többi herbicid serkentette a szaporodást (M-1 melléklet m-2.f. ábra).



18. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása az *Azotobacter* spp. baktérium szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

Az *Azotobacter* spp. törzsnél a tiokarbamát származékok általában szignifikáns serkentést idéztek elő a butilát 250- és 500-, valamint a molinát 250-, 500- és 1000 mgL^{-1} dózisainak kivételével, melyek szignifikánsan gátoltak (18. a-e. ábra). A tiokarbamátok átlaghatásukban is a legnagyobb gátlást a molináttal okozták (18.f. ábra).



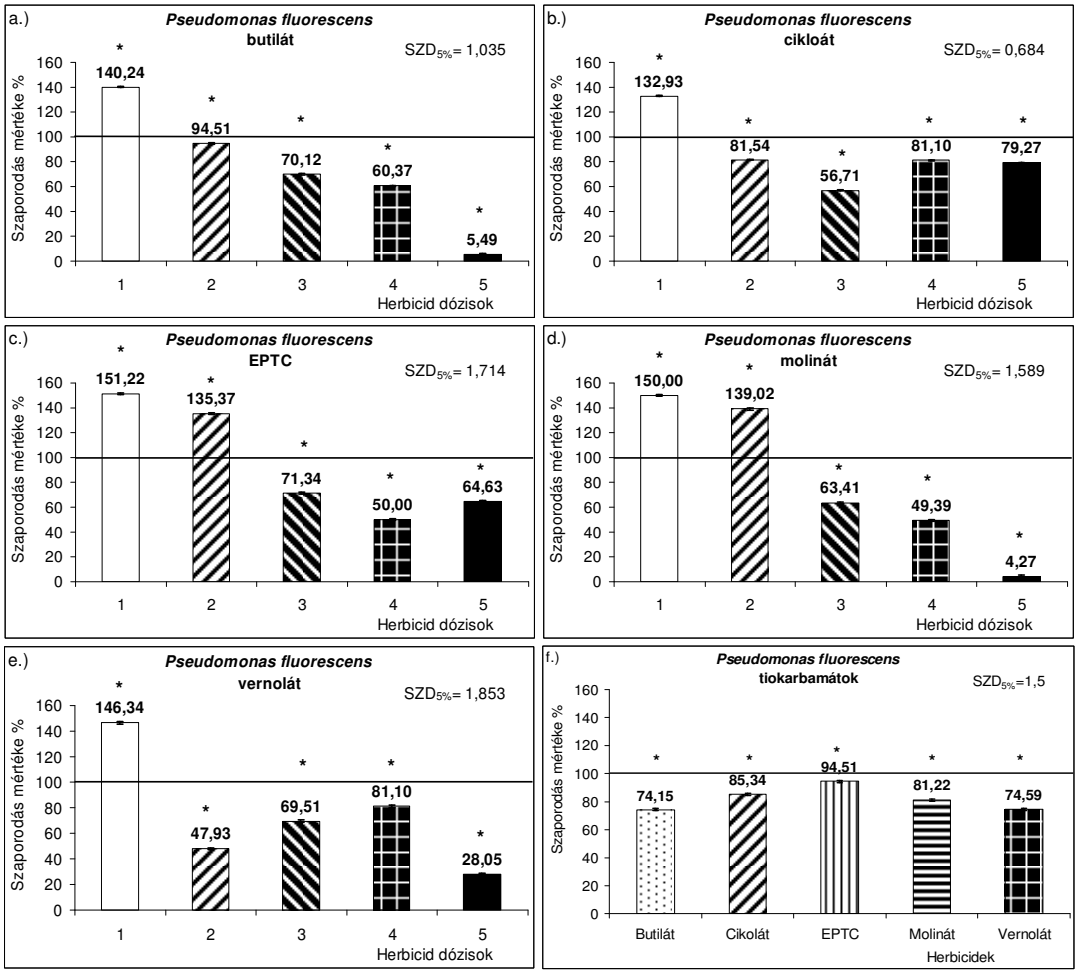
19. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát átlagos hatása Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

Minden tiokarbamát herbicid *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktérium szignifikáns szaporodás-gátlását eredményezte (19.a-e. ábra). A legnagyobb gátló hatást a butilát, a legkisebbet pedig a molinát fejtette ki (19.f. ábra).

A *B. subtilis* baktériumnál a tiokarbamátok drasztikus, szignifikáns szaporodás-gátlást idéztek elő (M-2 melléklet m-3.a-e. ábra). A molinát és a vernolát esetében a kontrollhoz viszonyítva egyik koncentrációnál sem volt mérhető szaporodás (M-1 melléklet m-3. d-e. ábra). Az öt tiokarbamát közül a legnagyobb gátló hatást a vernolát fejtette ki (M-1 melléklet m-3.f. ábra)

A vizsgált *Pseudomonas*-ok közül a *P. aeruginosa* szaporodását a butilát 100 mgL^{-1} és 250 mgL^{-1} dózisai szignifikánsan serkentették, 50 %-ban, illetve 40 %-ban megemelve szaporodás mértékét a kontrollhoz képest (M-1 melléklet m-4. a. ábra). A többi koncentráció szignifikáns gátlást idézett elő. Az EPTC tendenciájában ugyan gátolta a szaporodást, de szignifikáns különbség nem volt a minták között a kontrollhoz viszonyítva (M-1 melléklet m-4. c. ábra). A cikloát, molinát és a vernolát alkalmazott dózisainál szignifikáns csökkenést

figyelhettünk meg (M-1 melléklet m-4. b,d,e. ábrák). Összességében a legkárosabb hatást erre a baktériumra a molinát fejtette ki (M-1 melléklet m-4. f. ábra). A *P. alcaligenes* baktériumra az EPTC kivételével a tiokarbamát származékok kisebb koncentrációi vagy hatástalanok voltak, vagy szignifikáns szaporodás-növekedést okoztak. Az EPTC kezelés 100-; 500- és 1000-; a molinát 250-; valamint a butilát, cikloát, vernolát 250-; 500- és 1000 mgL^{-1} dózisa szignifikáns gátlást idézett elő (M-1 melléklet m-5. a-e. ábra). A molinát magasabb koncentrációjánál egyáltalán nem volt mérhető szaporodás. Az átlaghatást nézve a legnagyobb gátlást erre a baktériumra szintén a molinát gyakorolta (M-1 melléklet m-5. f. ábra).

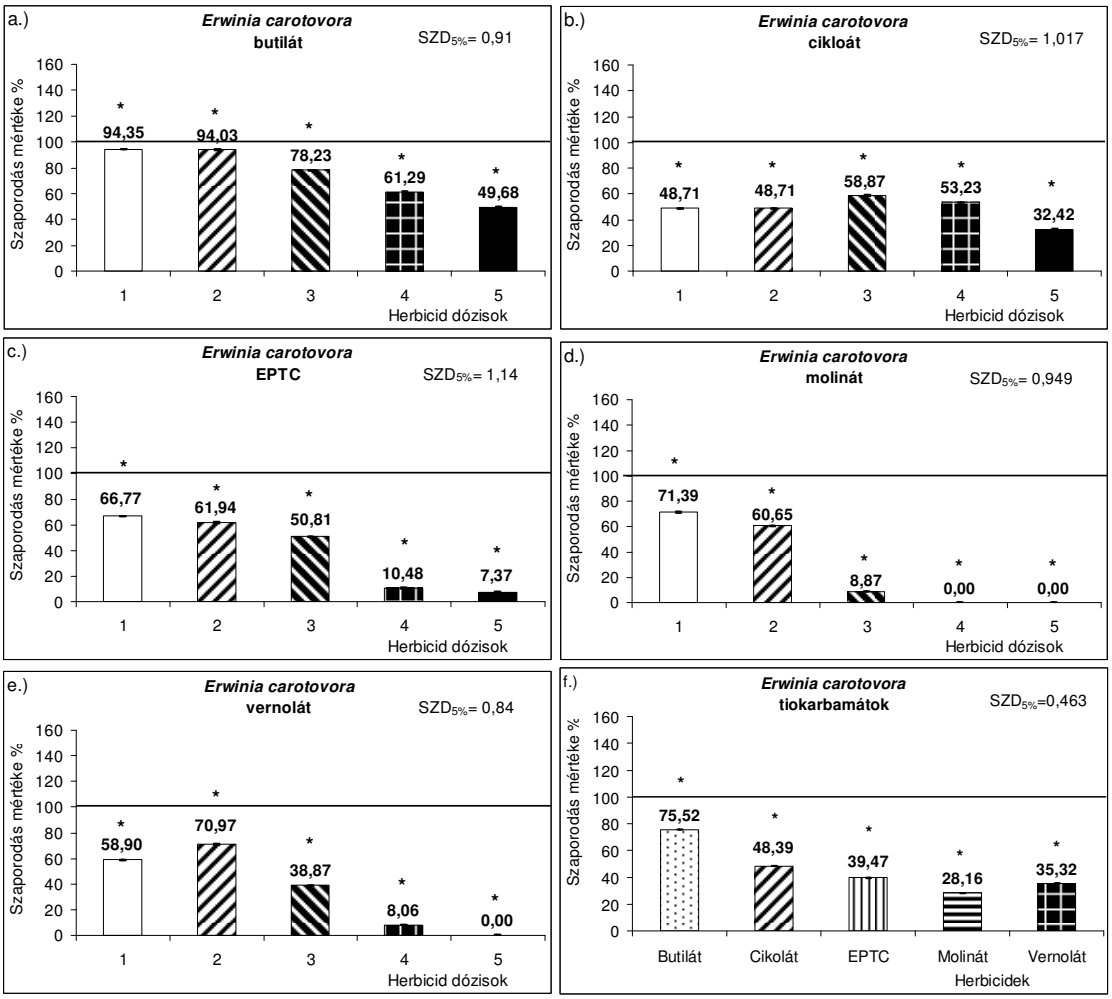


20. ábra: A tiokarbamát származék növekvő koncentrációinak hatása a *Pseudomonas fluorescens* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A *P. fluorescens* baktériumnál a tiokarbamát származékok közül a butilát (20.a. ábra), cikloát (20.b. ábra) és a vernolát (20.e. ábra) 50 $mg.L^{-1}$ koncentrációja, az EPTC (20.c. ábra) és a molinát (20.d. ábra) 50- és 100 mgL^{-1} dózisai szignifikáns stimulációt eredményeztek,

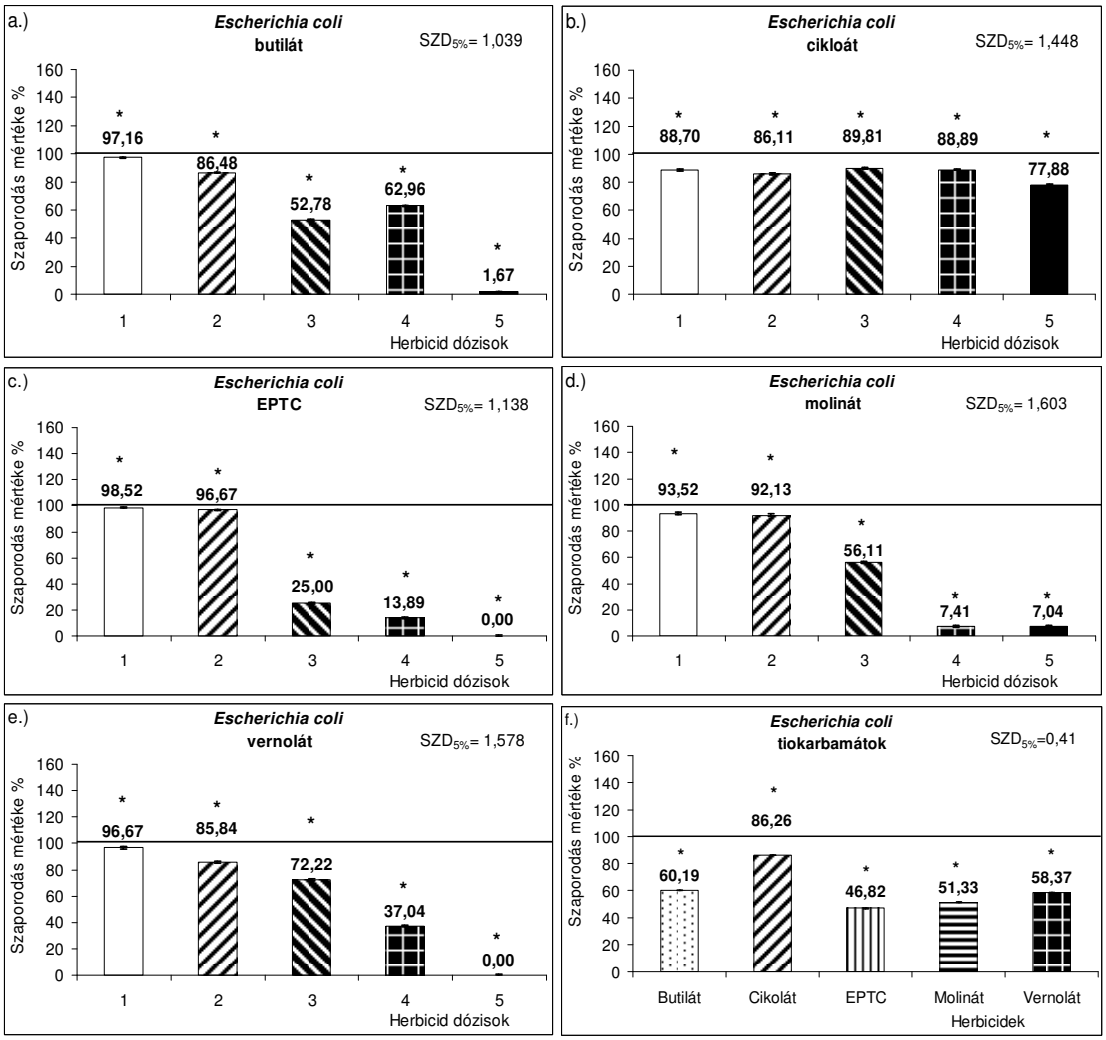
míg a többi dózis jelentős mértékben, szignifikánsan gátolta a szaporodást (20. ábra). A *P. fluorescens* törzsnél átlagban a butilát és a vernolát okozta a legnagyobb mértékű gátlást.

A tiokarbamátok nagy koncentrációi szignifikánsan csökkentették az *Agrobacterium tumefaciens* növényi patogén baktérium szaporodását. Egyes dózisok (cikloát: 250, EPTC: 100, vernolát: 100 mgL^{-1}) kismértékű, de szignifikáns serkentést eredményeztek (M-1 melléklet m-6. a-e. ábra). Erre a baktériumra összességében a legkárosabb hatást a molinát gyakorolta (M-1 melléklet m-6. f. ábra).



21. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása az *Erwinia carotovora* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

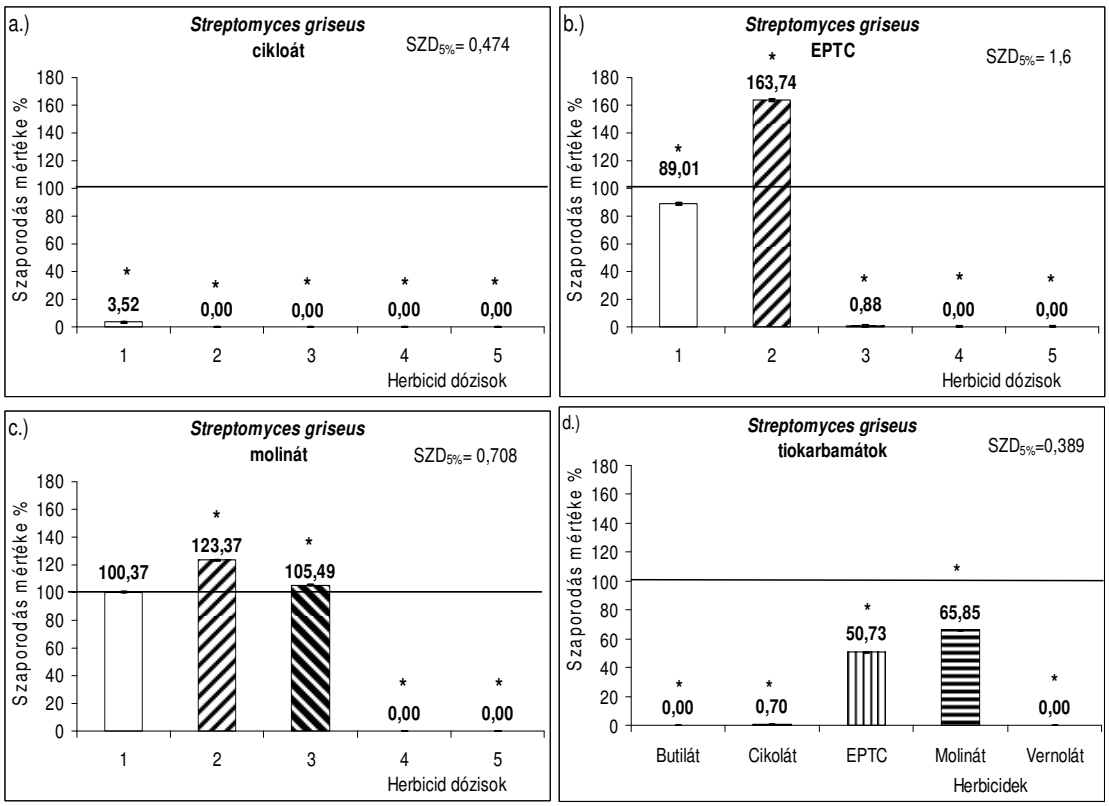
A tiokarbamátok minden dózisa szignifikáns gátló hatást gyakorolt az *Erwinia carotovora* baktériumtörzsre (21. a-e. ábra). Ennek a növényi patogén baktériumnak a szaporodását legnagyobb mértékben a molinát gátolta (21.f. ábra).



22. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása az *Escherichia coli* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát átlagos hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

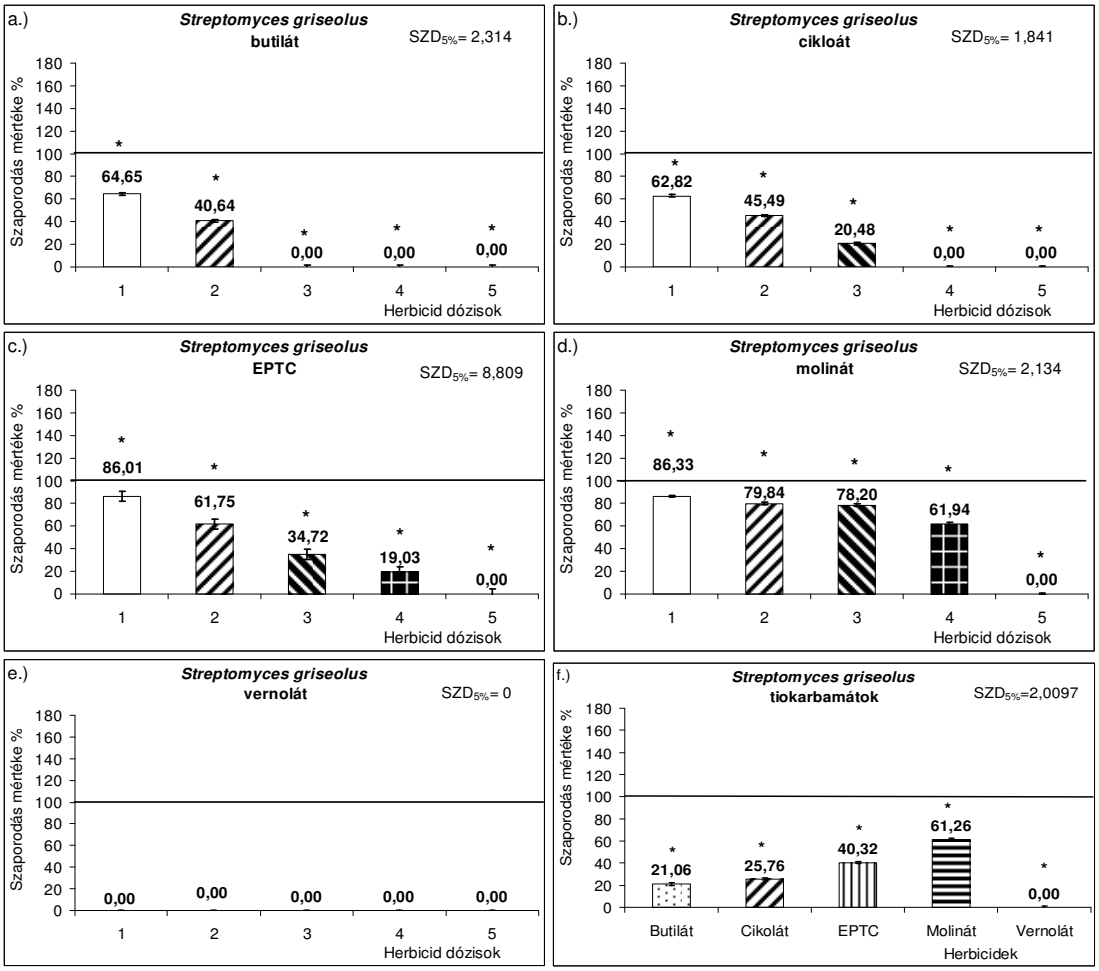
A tiokarbamát származékok mindegyike szignifikánsan csökkentette az *E. coli* baktérium szaporodását, ez az eredmény a butilát, EPTC, molinát és a vernolát nagyobb koncentrációinál nagymértékű volt (22. a-e. ábra). Az átlaghatást nézve az EPTC-re volt a legérzékenyebb ez a humán patogén baktérium (22.f. ábra).

A *Xanthomonas campestris* növényi patogén baktérium igen érzékenynek bizonyult a tiokarbamát herbicidekre (M-1 melléklet m-7. a-e. ábra). A szerek minden alkalmazott dózisa nagymértékű, szignifikáns szaporodás-gátláshoz vezetett. A legmagasabb koncentrációnál nem volt kimutatható szaporodás. Ez a növényi kórokozó baktérium a legérzékenyebbnek a molinátra bizonyult (M-1 melléklet m-7. f. ábra).



23. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) cikloát, b.) EPTC, c.) molinát, d.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A *Streptomyces griseus* esetében a tiokarbamátok közül a butilát, cikloát és vernolát egyik koncentrációjánál sem volt mérhető szaporodás a herbicid nélküli kontrollhoz viszonyítva (23. a. M-1 melléklet m-8. a-b. ábra). Ugyanakkor az EPTC (23.b. ábra) 100-; a molinát (23.c. ábra) 100-, valamint a 250 mgL^{-1} dózisainál szignifikáns serkentést figyelhettünk meg. Az EPTC és a molinát nagyobb koncentrációinál nem észleltünk mérhető szaporodást. A *S. griseus* a butilátra volt a legérzékenyebb (0 %, 23. d. ábra).

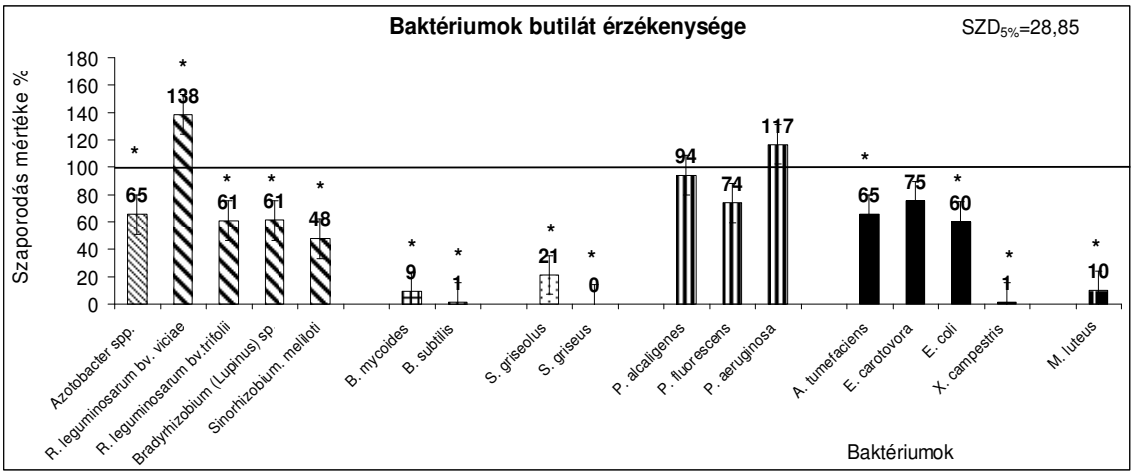


24. ábra: A tiokarbamát származékok növekvő koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseolus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása. Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A tiokarbamát származékok a *S. griseolus* nagymértékű, szignifikáns gátlását okozták (24. ábra). A vernolát (24.e. ábra) alkalmazásánál például egyik dózisnál sem volt mérhető szaporodás, míg a butilát (24.a. ábra) esetében a 250-, 500- és 1000 mgL^{-1}, a cikloátnál pedig az 500- és az 1000 mgL^{-1} koncentrációknál nem indult el a szaporodás.

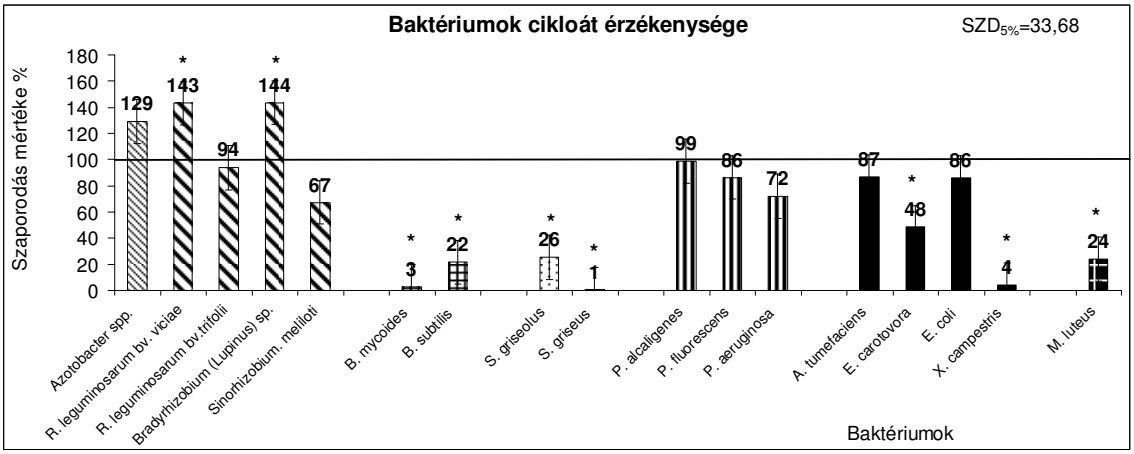
Az EPTC (24.c. ábra) és a molinát (24.d. ábra) alkalmazásánál csak a legmagasabb dózisnál nem volt kimutatható szaporodás. A *S. griseolus* a legérzékenyebbnek a vernolát herbicidre bizonyult (24.f. ábra).

A tiokarbamátok a *Micrococcus luteus* szignifikáns szaporodás-csökkenését okozták (M-2. melléklet m-9. a-e. ábra). A butilát (M-1. melléklet m-9. a. ábra) és a vernolát (M-1. melléklet m-9. e. ábra) alkalmazása esetén a nagyon nagy dózisoknál nem volt kimutatható szaporodás. Ez a baktérium átlagban a legérzékenyebb a butilátra volt (M-1. melléklet m-9. f. ábra).



25. ábra: A butilát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusok csoportjaira és egyes törzseire. A szaporodás mértéke az egyenes vonallal jelölt kontroll %-ában kifejezve.

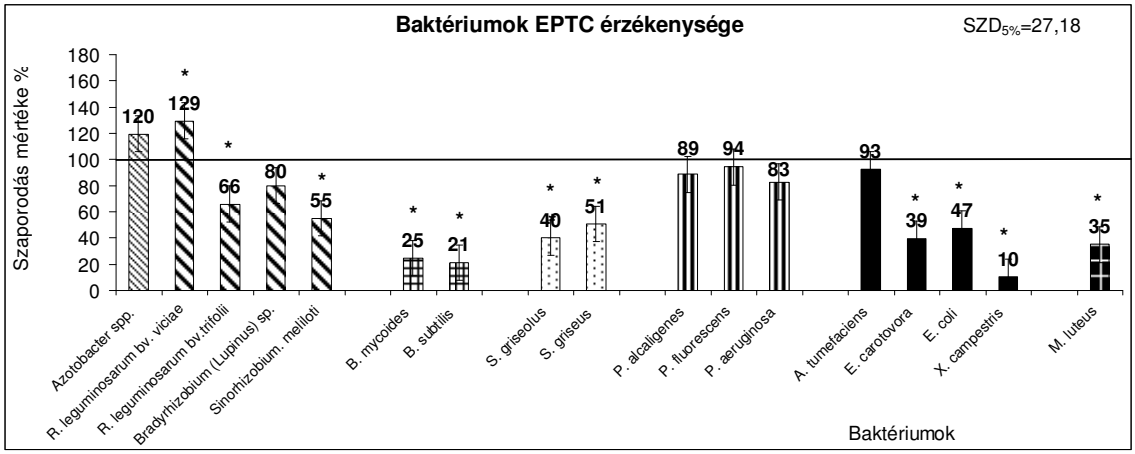
Kumulált hatásban a butilát gyomirtó szerre az összes vizsgált mikroorganizmus közül a *S. griseus* (0 %) bizonyult a legérzékenyebbnek. Nagymértékű szenzitivitást mutattak a *X. campestris* (1 %), a *B. subtilis* (1 %), a *B. mycoides* (9 %), a *M. luteus* (10 %) és a *S. griseolus* (21 %) törzsei (25. ábra). Kevésbé érzékenyek - amelyeknél még szaporodás-serkentés is bekövetkezett – a *R. leguminosarum* bv. *viciae* (138 %) és a *P. aeruginosa* (117 %). A szer kevésbé gátolta még az *Azotobacter* spp. (95 %) és a *P. alcaligenes* (94 %) szaporodását. A vizsgált *Rhizobium*-ok közül közepesen érzékenynek bizonyultak a *Sinorhizobium. meliloti* (48 %), a *Bradyrhizobium. (Lupinus)* sp. és a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* (61 %).



26. ábra: A cikloát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok és egyes törzsek szaporodására *in vitro*. A szaporodás mértéke az egyenes vonallal jelölt kontroll %-ában kifejezve.

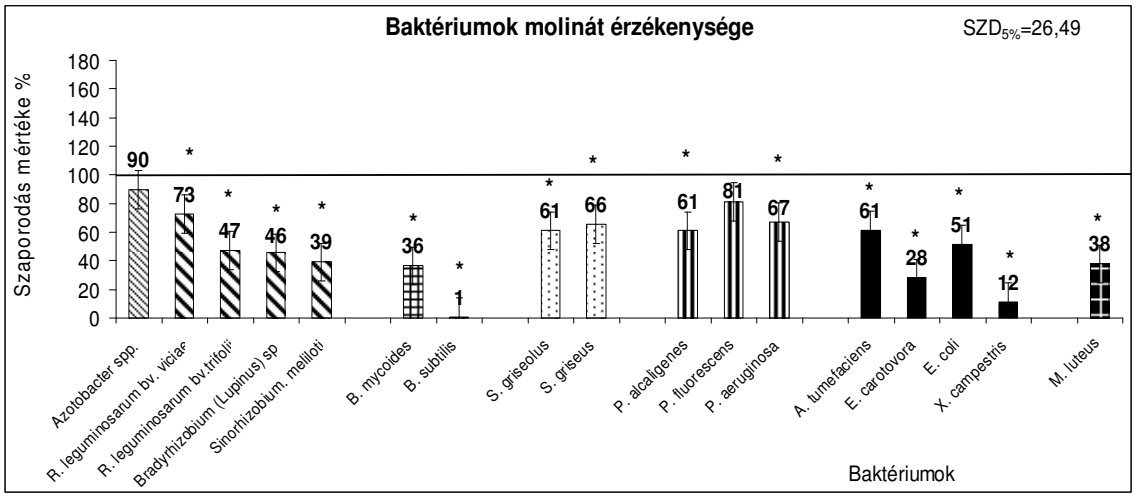
A tesztelt baktériumok közül a cikloátra a legérzékenyebben a *S. griseus* (1 %) reagált. Nagyon érzékenyek voltak még a *X. campstris* (4 %), a *B. mycoides* (19 %), a *B. subtilis* (22 %), a *M. luteus* (24 %) és a *S. griseolus* (26 %) törzsei (26. ábra). A cikloát serkentette a

Bradyrhizobium (Lupinus) sp. (144 %), a *R. leguminosarum* bv. *viciae* (143 %), az *Azotobacter* spp. (129 %) szaporodását. A szerre kevésbé voltak érzékenyek a *P. alcaligenes* (99 %), a *R.leguminosarum* bv. *trifolii* (94 %), az *E. coli* (86 %) és a *P. fluorescens* (86 %) törzsek (26. ábra).



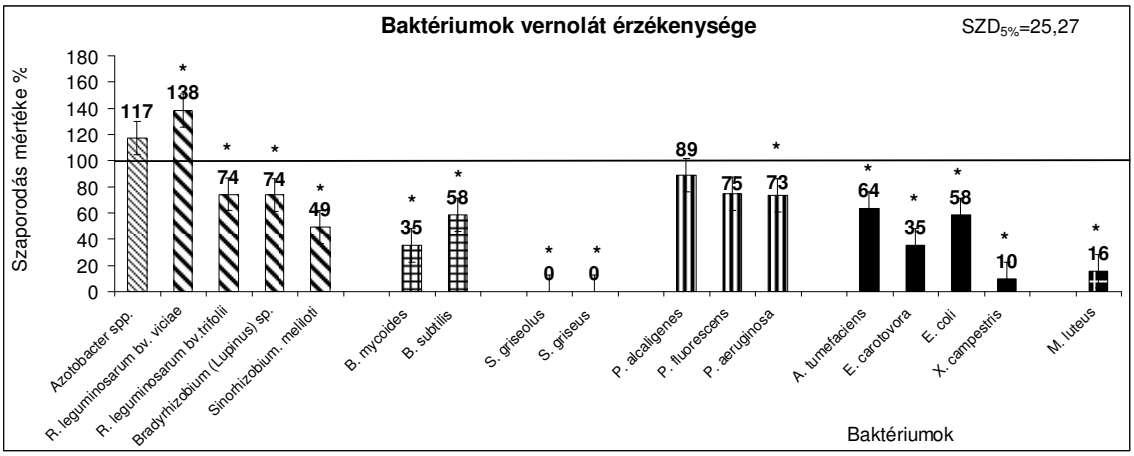
27. ábra: Az EPTC herbicid összhatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok és egyes törzsek szaporodására *in vitro*. A szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve.

Az EPTC herbicidre a vizsgált mikrobák közül a legérzékenyebb a *Xanthomonas campestris* (10 %) volt. A herbicid jelentősen gátolta még a *B. subtilis* (21 %), a *B. mycoides* (25 %) szaporodását (27. ábra). A *R. leguminosarum* bv. *viciae* (129 %) és az *Azotobacter* spp. (120 %) esetében pedig stimulálást figyelhettünk meg. Az EPTC kisebb mértékben gátolta a *P. fluorescens* (94 %), a *P. alcaligenes* (89 %), a *P. aeruginosa* (83 %) és a *Bradyrhizobium. (Lupinus)* sp. (80 %) szaporodását.



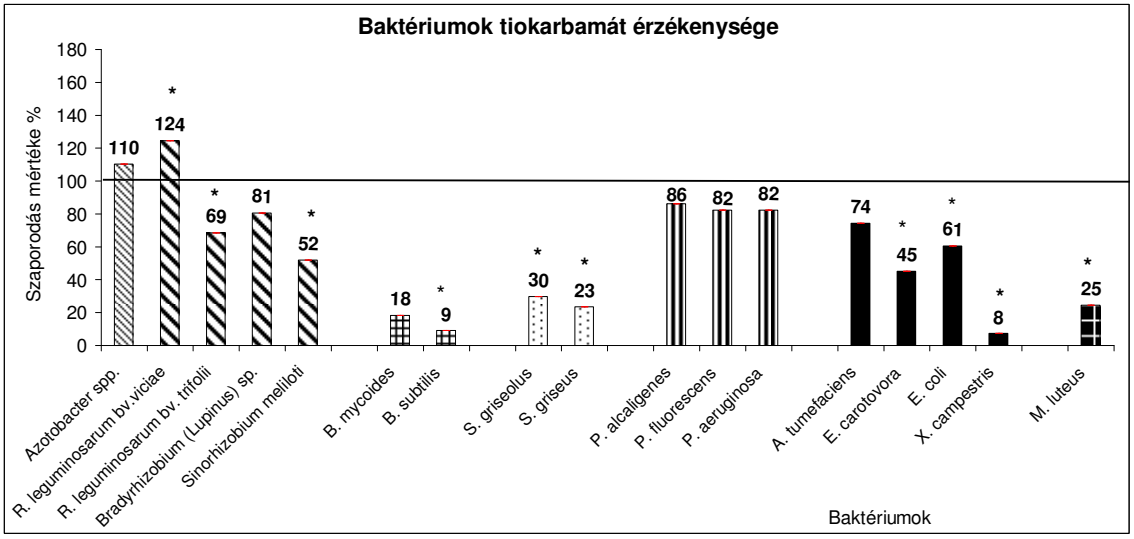
28. ábra: A molinát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok és egyes törzsek szaporodására *in vitro*. A szaporodás mértéke az egyenes vonallal jelölt kontroll %-ában kifejezve.

A molinátra a legszenzitívebb a *B. subtilis* (1 %) volt. Nagyon érzékenyek voltak még a *X. campestris* (12 %), a *B. mycoides* (36 %), a *M. luteus* (38 %), a *Sinorhizobium. meliloti* (39 %, 28. ábra). A szer kevésbé gátolta az *Azototbacter* spp. (90 %) és a *P. fluorescens* (81 %) szaporodását.



29. ábra: A vernolát kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusok csoportok és egyes törzsek szaporodására *in vitro*. A szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve)

A vernolát gyomirtó szerre a legérzékenyebbnek bizonyultak a *B. subtilis,* a *S. griseus,* a *S. griseolus* (0 %). A *X. campestris* (10 %), a *M. luteus* (16 %), a *B. mycoides* (19 %) és az *E. carotovora* (35%) szintén nagymértékű szaporodás-gátlást szenvedtek. A szer serkentette *R. leguminosarum* bv. *viciae* (138 %), *Azotobacter* spp. (117 %) szaporodását (29. ábra).



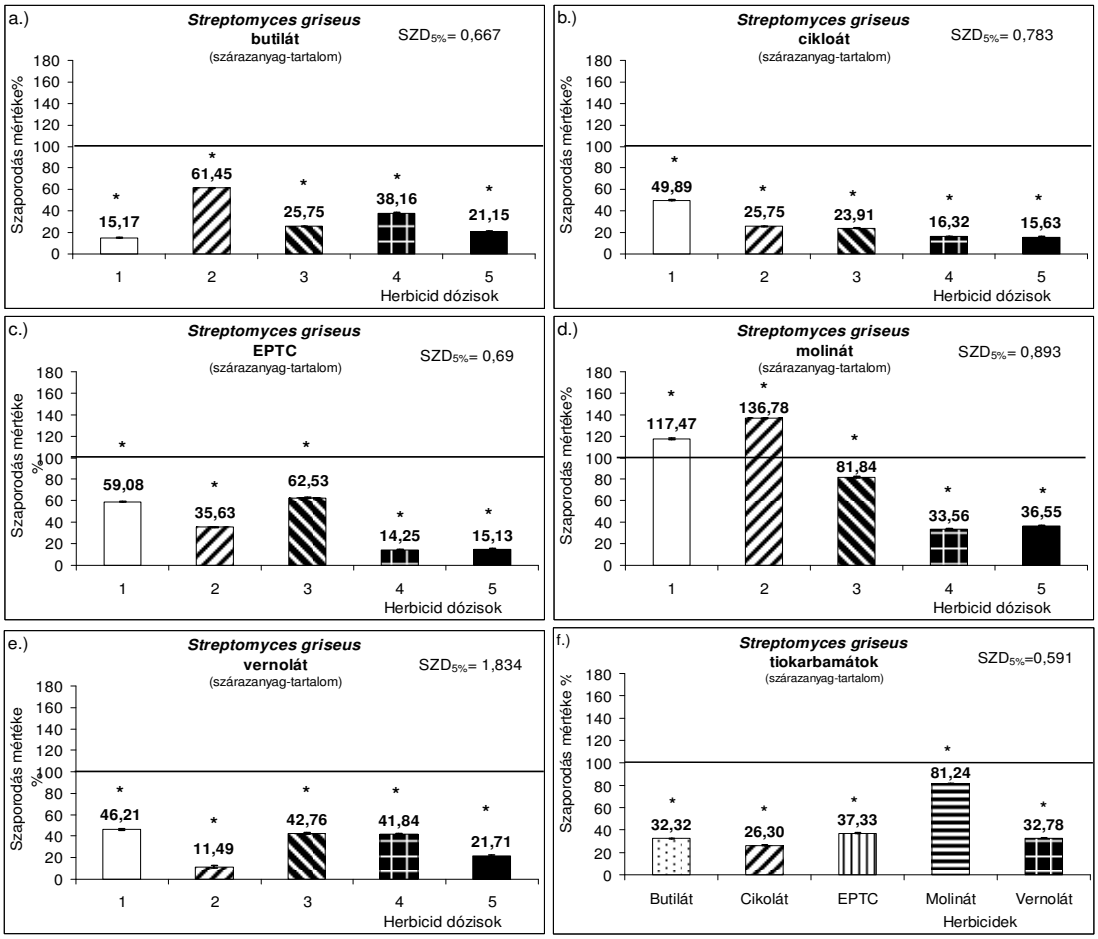
30. ábra: A tiokarbamát herbicidek kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusokra (a szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve)

A kumulált eredményeket figyelembe véve az általunk tesztelt baktériumok közül a tiokarbamát herbicidekre legérzékenyebben a *X. campestris* (8 %) reagált. A *B. subtilis* (9 %),

a *B. mycoides* (22 %), a *S. griseus* (23 %), a *M. luteus* (25 % és a *S. griseolus* (30 %) baktériumoknál szintén jelentős volt a szaporodás-gátlás (30. ábra). Szenzitívek voltak még az *E. carotovora* (45 %), a *Sinorhizobium. meliloti* (52 %), az E. coli (61 %) és a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Bük-75/4 (69 %) törzsek. Stimuláló hatást figyelhettünk meg a *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. (124 %), az *Azotobacter* spp.(110 %) törzseknél. Kisebb mértékű gátló hatást tapasztaltunk a *P. alcaligenes* (86 %), a *P. aeruginosa* (82 %), a *P. fluorescens* (82 %) és a *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. (81 %) baktériumoknál (30. ábra).

4.2.3. A tiokarbamát-érzékenység kimutatása más módszerekkel

A *Streptomyces griseus* tiokarbamát-érzékenységének tesztelésére többféle *in vitro* vizsgálati módszert alkalmaztunk. A mikrofermentoros kitenyésztés mellett a *S. griseus* törzs száraz biomassza tömegét is megmértük és a szilárd táptalajon történő telepszámlálást is elvégeztük. Az alábbiakban a száraz mikroorganizmus tömegének mérési eredményeit hasonlítjuk össze a mikrofermentoros módszerrel.

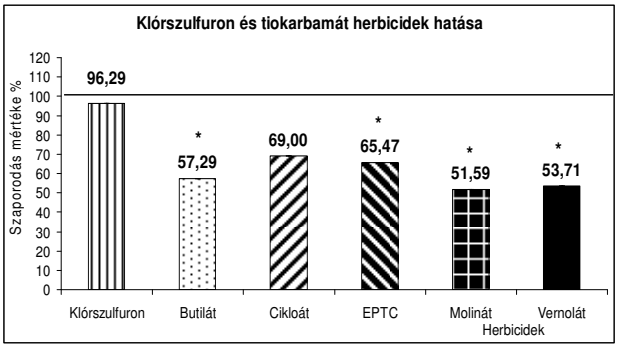


31. ábra: A tiokarbamát származékok különböző koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodásának mértékére a szárazanyag-tartalom mérés módszerével. Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) tiokarbamátok átlagos hatása. Koncentráció-jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

A különböző módszerek eredményei összehasonlítva a *S. griseus* törzsnél a molinát kezelésnél hasonló eredményeket kaptunk, mint a mikrofermentoros módszernél (23.c, 31.d. ábra). Az EPTC (23.b, 31.c. ábra) alkalmazásánál, ugyanakkor a száraz mikroorganizmus tömeg meghatározása minden koncentrációnál gátlást mutatott, míg a mikrofermentoros kitenyésztésnél a 100 mgL^{-1} dózis szaporodás-serkentést okozott. A többi tiokarbamát származéknál egyértelmű gátlást figyelhettünk meg a száraz sejttömeg mérésénél is (23; 31. ábra).

4.2.4. A klórszulfuron és a tiokarbamát érzékenység összehasonlítása

A klórszulfuron és a tiokarbamát herbicidek kumulált dózishatásait összehasonlítva megállapítható, hogy a klórszulfuron kevésbé bizonyult károsnak a vizsgált mikroorganizmusokra nézve (6. ábra). Még a legnagyobb dózisoknál is sokkal magasabb volt a szaporodás mértéke (86 %), mint a tiokarbamát származékoknál (10-; 35-; 38-; 41 -; 64 %), a legkisebb dózisok átlagadatai pedig serkentést mutatnak (14. a-d. ábra).



32. ábra: A klórszulfuron és tiokarbamát herbicidek dózisainak kumulált hatása az összes általunk vizsgált mikroorganizmusra, (a szaporodás mértéke a kontroll %-ában kifejezve)

A fenti ábrán jól látható, hogy összességében a vizsgált mikroorganizmusokra a legkisebb káros hatást a klórszulfuron (100 %) fejtette ki (32. ábra). A vizsgált mikroorganizmusok összességében a molinátra (52 %) voltak a legérzékenyebbek, de a vernolátra (54 %) és a butilátra (57 %) is érzékenyen reagáltak. A tiokarbamátok közül a cikloát (70 %) gátolta legkevésbé a vizsgált baktériumtörzsek szaporodását. Az általunk tesztelt baktériumok összesített adatait elemezve megállapítható, hogy azok a klórszulfuronra lényegesen kevésbé voltak érzékenyek mint a tiokarbamát származékokra (12. és 30. ábra). Az egyes baktériumok közötti érzékenységi mintázat azonban sok tekintetben különböző volt. Pl. az *Azotobacter* spp. esetében a tiokarbamátok stimuláltak, a klórszulfuronnál pedig kismértékű gátló összhatás érvényesült. Míg a klórszulfuron (12. ábra) serkentőleg hatott a *P. fluorescens* (151 %), a *P. alcaligenes* (135 %), a *S. griseolus* (131 %), a *S. griseus* (107 %),

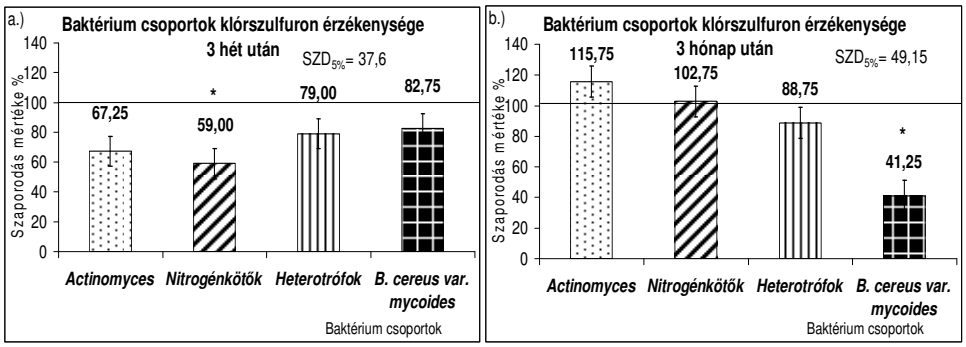
az *E. coli* (110 %) és a *B. mycoides* (103 %) törzsek szaporodására, addig a tiokarbamát (30. ábra) herbicidek gátolták ezeket a törzseket (82-; 86-; 30-; 23-; 61-; 22 % értelemszerűen).

4.3. Mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-kezelt talajban *in vivo*

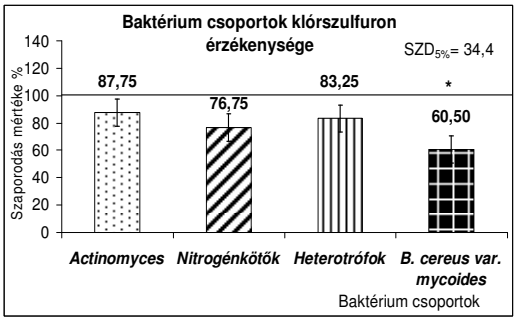
A klórszulfuron herbicid növekvő adagjait talajinkubációs modellkísérletben is teszteltük. Ennek során különféle mikroorganizmusok számszerű alakulását állapítottuk meg a herbicid adagolás után 3 heti, illetve egy vegetációs időszakot alapul véve 3 hónapi inkubációt követően.

4.3.1. Mikroorganizmusok közötti különbségek

A klórszulfuron általunk alkalmazott koncentrációinak kumulatív hatásait vizsgálva megállapítottuk, hogy a gyomirtó szert rövid hatóidőn át alkalmazva a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok bizonyultak a legérzékenyebbnek (szaporodás mértéke 59 % a kontrollhoz viszonyítva), mely szignifikáns volt a kontrollhoz képest. Összességében minden baktériumcsoport érzékenységet mutatott a herbicidre 3 hét hatóidő után (33. a. ábra). A vegetációs időszakot modellező három hónapos hatóidőt követően a gyomirtó szerre a legszenzitívebb a *B. cereus* var. *mycoides* baktérium volt. A szaporodás-gátlás szignifikáns értéket mutatott a kontrollhoz viszonyítva (41,25 % - 33.b. ábra).



33.a-b. ábra: A vizsgált baktériumcsoportok klórszulfuron-érzékenysége.
Jelölések: a.) 3 hét hatóidő, b.) 3 hónap hatóidő



33.c. ábra: A vizsgált baktériumcsoportok klórszulfuron-érzékenysége,
a két időintervallum összesített hatása

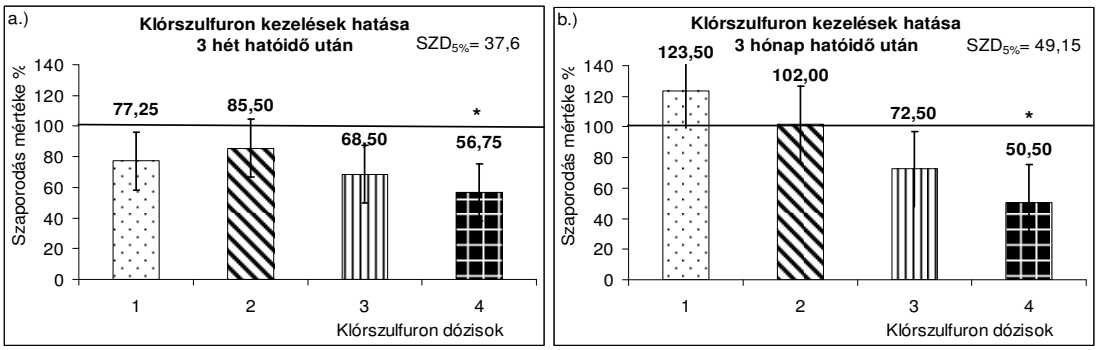
Az *Actinomyces*-ek sejtszámát a vegetációs időt követő hatóidő után a klórszulfuron tendenciájában stimulálta, de a kontrollhoz viszonyítva ez nem volt szignifikáns (33.b. ábra). A két hatóidő átlagértékeit nézve szintén a *B. cereus* var. *mycoides* bizonyult a legérzékenyebbnek (60,5 %), mely érték szignifikánsnak adódott a kontrollhoz képest (33.c. ábra). A többi baktérium is összességében érzékeny volt a klórszulfuronra, de a különbség nem volt szignifikáns. Megállapítottuk, hogy három hét után a klórszulfuron minden általunk alkalmazott dózisa nagyon jelentős, szignifikáns sejtszám-csökkenést eredményezett a kitenyészthető szabadon élő nitrogén-kötő baktériumoknál. A különféle koncentrációk között a sejtszám-csökkentő hatásban szignifikáns különbség a 10 000-szeres dózis kivételével nem adódott. Három hónap elteltével azonban a herbicid gyakorlatban is alkalmazott szántóföldi dózisa szignifikáns stimulációt okozott a kitenyészthető csíraszámban, és a legnagyobb koncentrációknál tapasztaltuk ismét a szaporodás csökkenését. Az általunk tesztelt mikroorganizmus-csoportok klórszulfuron növekvő koncentrációival szembeni érzékenységi mintázat eredményeit a 11. számú összesítő táblázat mutatja be.

11. táblázat: Kitenyészthető mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-érzékenységének összehasonlító értékelése in vivo

Mikroorganizmus csoportok	**Klórszulfuron koncentrációk**			
	1	**2**	**3**	**4**
Szabadon élő nitrogénkötő baktériumok				
3 hét	**-**	**-**	**-**	**-**
3 hónap	**+**	**0/+**	**0/-**	**-**
Actinomycesek				
3 hét	**0/-**	**0/-**	**0/-**	**-**
3 hónap	**+**	**+**	**+**	**-**
Spórások (Bacillus *cereus* var. *mycoides)*				
3 hét	**0/-**	**0/+**	**0/-**	**0/-**
3 hónap	**0/+**	**-**	**-**	**-**
Heterotrófok				
3 hét	**-**	**-**	**-**	**-**
3 hónap	**0/-**	**0/+**	**-**	**-**

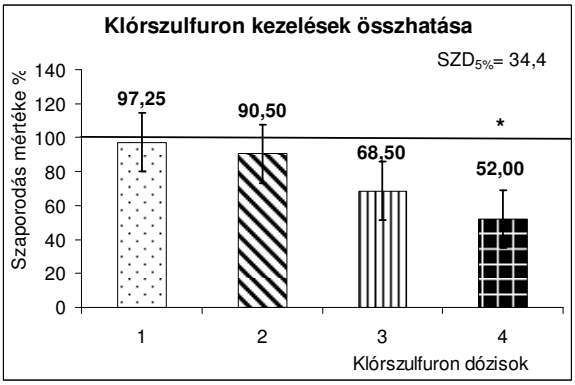
Jelmagyarázat: 0: nincs hatás, 0/-: nincs hatás/nem szignifikáns gátlás, 0/+: nincs hatás/nem szignifikáns stimulálás, +: szignifikáns stimulálás, -: szignifikáns gátlás, -/0: nincs szaporodás. Klórszulfuron koncentrációk: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 1,0-; 4.) 10 $mgkg^{-1}$

4.3.2. A vegetációs időszakra vonatkozó hatásértékelés



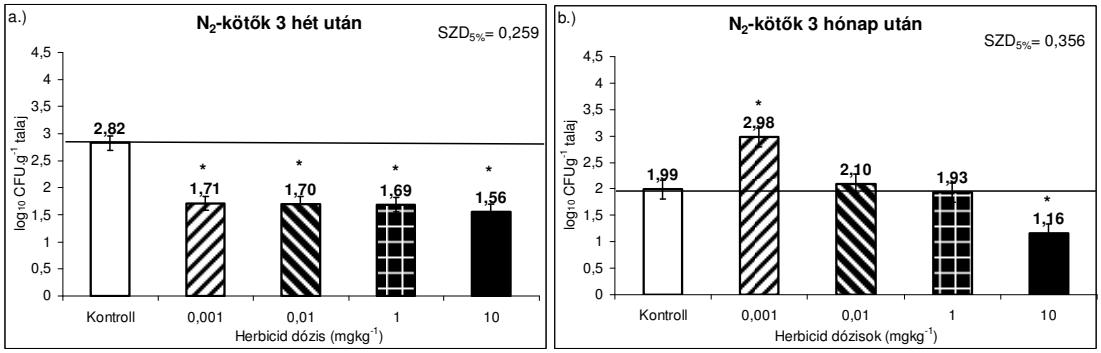
34. ábra: A klórszulfuron különböző dózisainak kumulatív hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok szaporodására, a.) 3 hét és b.) 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben. Herbicid dózisok: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 1-; 4.) 10 $mgkg^{-1}$

A klórszulfuron növekvő dózisainak kumulatív hatását elemezve megállapítható, hogy a vizsgált mikroorganizmusok a három hetes mintavételezésnél a herbicid nélküli kontroll 100 %-hoz viszonyítva összességében kisebb-nagyobb szaporodás-gátlást szenvedtek. A 0,001-; 0,01- valamint az 1 $mgkg^{-1}$ koncentrációk esetében a kumulatív gátló hatás nem adott szignifikáns különbséget (34.a. ábra). Ugyanakkor a legmagasabb 10 $mgkg^{-1}$ dózis összességében szignifikánsan gátolta a vizsgált baktérium csoportok számát. A legjelentősebb gátló hatása a 10 $mgkg^{-1}$ koncentrációnak volt (52 %). A tesztelt mikroorganizmusok három hét után legkevésbé érzékenyen a 0,01 $mgkg^{-1}$ dózisra reagáltak (34.b. ábra). A vegetációs időszakra kiterjedő három hónapos hatóidőt követően a 0,001 és a 0,01 $mgkg^{-1}$ koncentrációk a kontrollhoz mérve összességében stimuláló hatással voltak a mikroorganizmusok sejtszámára, de ez a hatás nem volt szignifikáns (34.b. ábra. Az 1-; 10 $mgkg^{-1}$ dózisok összességében gátolták a szaporodást, az utóbbi koncentrációnál a sejtszám-csökkenés szignifikáns volt 34.b. ábra.



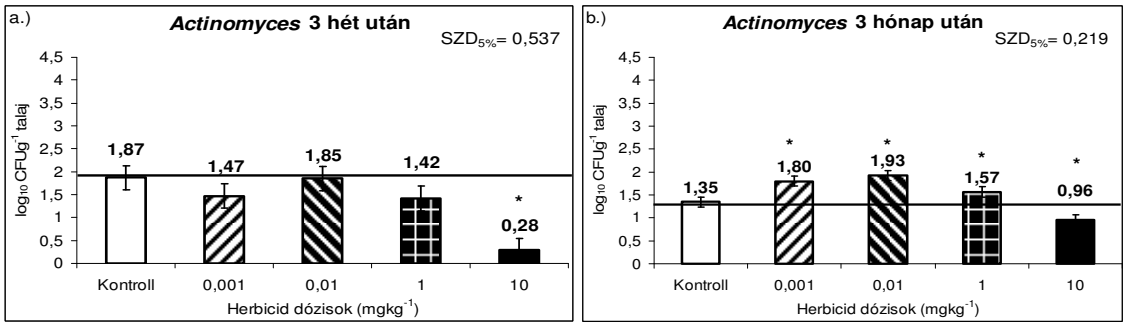
35. ábra: A klórszulfuron különböző dózisainak kumulatív, összesített hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok szaporodására *in vivo* kísérletben. Herbicid dózisok: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 1-; 4.) 10 $mgkg^{-1}$

A két időintervallum átlagai szerint a szaporodás kontrollhoz viszonyított mértéke az alkalmazott dózis emelésével fokozatos csökkenést mutatott. A legnagyobb koncentráció itt is szignifikáns gátlást okozott (35. ábra).



36. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak hatása a N_2-kötő baktériumok sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben.

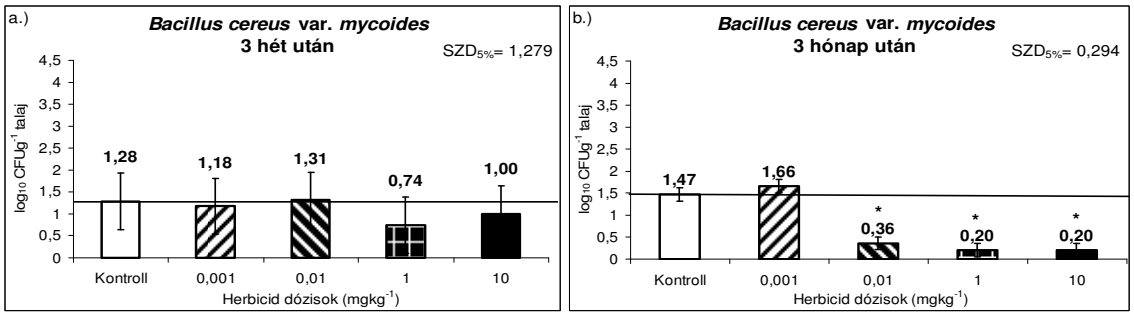
A klórszulfuron minden egyes dózisa a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok nagymértékű, szignifikáns sejtszám-csökkenését okozta a három heti mintavételezést követően (36. a. ábra). A szaporodás mértéke 55-61 % volt a kontrollhoz képest. A különböző herbicid-adagok hatásai között ugyanakkor nem volt szignifikáns különbség. A vegetációs időszak elteltével a szer szántóföldön alkalmazott dózisa (0,001 $mgkg^{-1}$) szignifikánsan stimulálta a szaporodást (36.b. ábra), mintegy 50 %-kal megemelve azt a kontrollhoz mérve. Az 1 $mgkg^{-1}$ koncentrációnak szignifikáns, 20 %-os serkentő hatása volt (36.b. ábra). A 10 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron pedig igen erős, szignifikáns szaporodás-csökkenést eredményezett. A szaporodás mértéke ennél a koncentrációnál a kontroll 58 %-a volt. A nagyobb dózisok szaporodás-gátló hatása nem volt olyan mértékű, mint a háromheti hatóidőt követően (36.b. ábra).



37. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak hatása az *Actinomyces*-ek sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben.

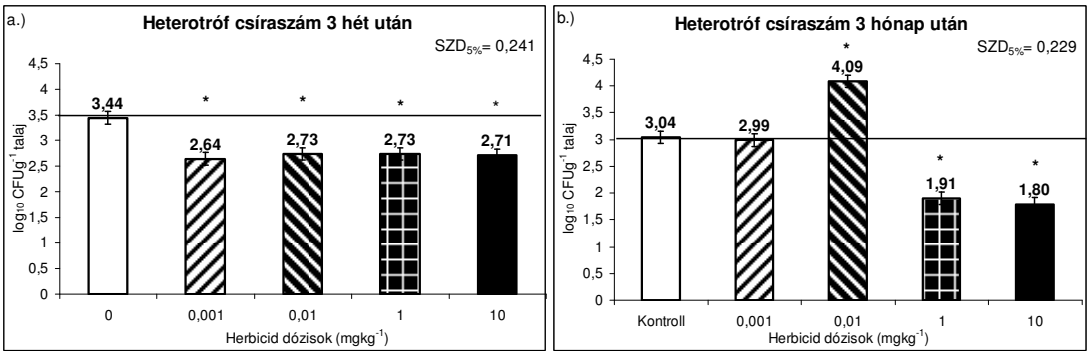
Az *Actinomyces*-eknél a rövidebb hatóidő után a herbicid nagyobb dózisai (1-; 10 $mgkg^{-1}$) szignifikáns sejtszám-csökkenést okoztak, ugyanakkor a kisebb koncentrációknál a gátló hatás nem volt szignifikáns (37.a. ábra). A 10 $mgkg^{-1}$ használatánál mintegy 15 %-ra

esett vissza a csíraszám a szer nélküli kontrollhoz viszonyítva. A vegetációs időszakot követően a klórszulfuron 0,001-; 0,01- és 1 $mgkg^{-1}$ koncentrációja szignifikáns stimulációt okozott (116-; 133- és 143 %), míg a legmagasabb 10 $mgkg^{-1}$ dózis szignifikánsan csökkentette az *Actinomyces*-ek csíraszámát (37.b. ábra). Utóbbi dózis alkalmazásánál a szaporodás-gátlás lényegesen kisebb volt, mint a három hetes hatóidő esetében, a szaporodás mértéke a kontroll 71 %-a körül alakult (37.b. ábra).



38. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumok sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben.

A *Bacillus cereus* var. *mycoides* spóraképző baktérium csíraszámában a gyomirtó szer a rövidebb hatóidő után egyik dózis alkalmazásánál sem okozott szignifikáns eltérést (38.a. ábra). A három hónapos vegetációs időszakot modellező mintavételezésnél azonban a szántóföldön is alkalmazott 0,001 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron kezelés 13 %-kal szignifikánsan serkentette a szaporodást, az ennél nagyobbak pedig nagymértékű gátló hatást gyakoroltak a baktériumra (38. b. ábra), a szaporodás mértéke mindössze a kontroll 14-24 %-a körül alakult.



39. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak hatása a heterotróf baktériumok kitenyészthető sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben.

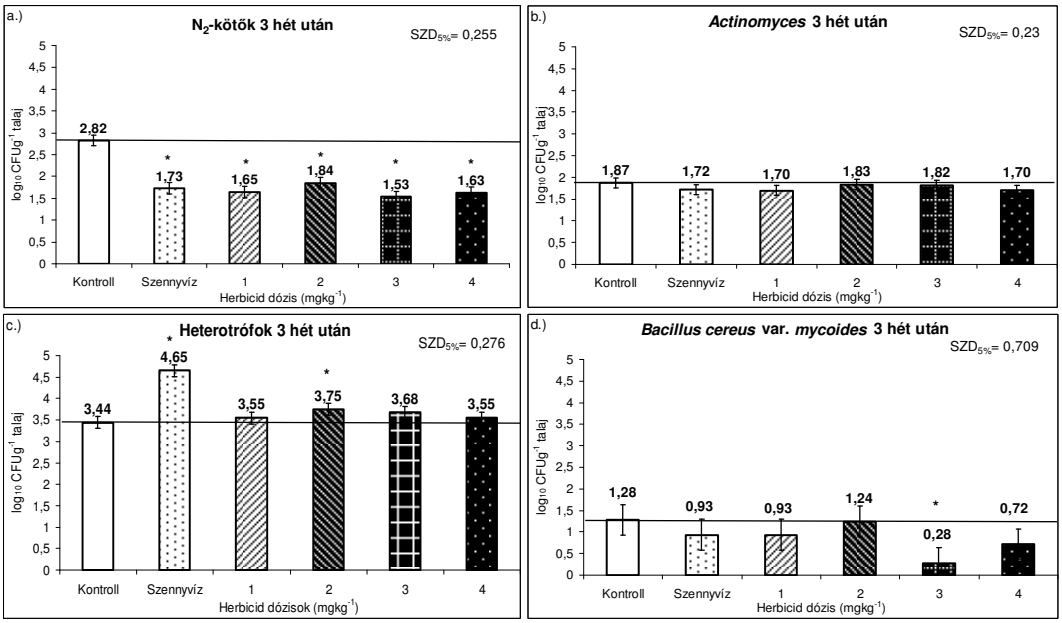
A három-hetes klórszulfuron kezelés eredményeképpen a kitenyészthető heterotróf mikroorganizmusok száma a nitrogénkötőkhöz hasonlóan minden egyes alkalmazott dózis hatására szignifikánsan csökkent, azonban a különböző koncentrációk hatása között statisztikailag igazolható különbség nem adódott (39.a. ábra). A szaporodás mértéke a

kontroll 71-79 %-a között mozgott. A három hónapos hatóidő után a legkisebb (0,001 mgkg^{-1}) dózis hatástalan maradt, a 0,01 mgkg^{-1} pedig szignifikánsan, 34,5 %-kal serkentette a szaporodást. A nagy koncentrációk ugyanakkor szignifikáns gátló hatásúak voltak (39.b. ábra), 59-60 %-ra csökkentve a szaporodás mértékét.

4.4. Mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-szennyvíz kombinációk hatására *in vivo*

4.4.1. Mikroorganizmusok kitenyészthető csíraszám értékei

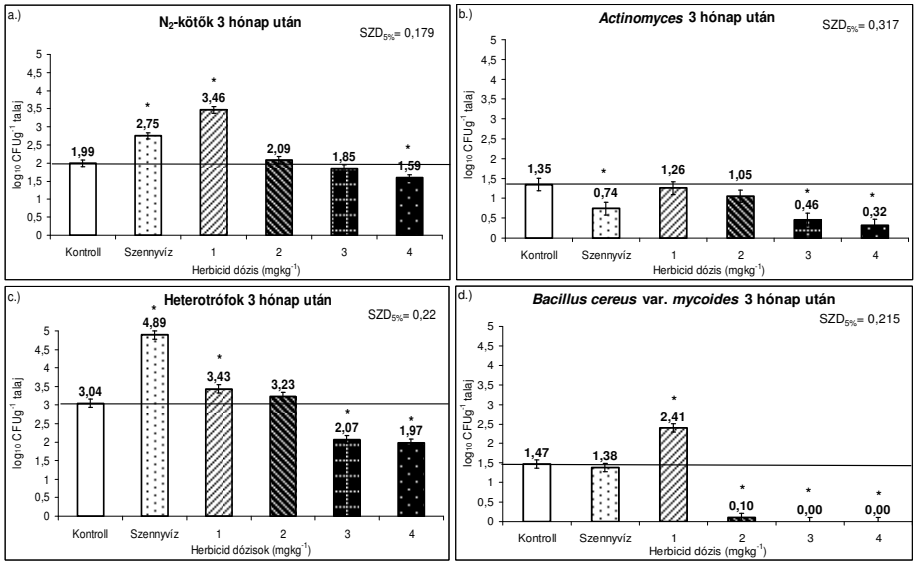
In vivo kísérleteink során egyfajta környezeti tényező modellezésére szennyvíz-herbicid kombinációkat is kialakítottunk, hogy megismerjük azok együtthatásait.



40. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíznek együttes hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok sejtszámának alakulására 3 hét hatóidő után *in vivo* kísérletben, Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz adagolása nélkül, Szennyvíz: minta szennyvízadagolással herbicid hozzáadása nélkül, 1.) 0,001 mgkg^{-1} klórszulfuron (KSz)+szennyvíz (SzV), 2.) 0,01 mgkg^{-1} KSz+SzV, 3.) 1 mgkg^{-1} KSz+SzV, 4.) 10 mgkg^{-1} KSz+SzV.

A nitrogénkötő baktériumoknál háromheti hatóidő után a szennyvíz és a klórszulfuron különböző dózisaival kombinált szennyvízkezelés erős, szignifikáns sejtszám-csökkenést okozott. A szaporodás mértéke a 100 %-os herbicid- és szennyvíz nélküli kontrollhoz viszonyítva 54-65 % közötti volt (40.a. ábra). Az *Actinomyces*-eknél a kokszolói szennyvíz önálló alkalmazása és a klórszulfuronnal kombinált kezelés három hét elteltével nem okozott szignifikáns eltérést a csíraszámban, de tendenciájában csökkentette a szaporodást (40.b. ábra). A heterotróf mikroorganizmusok számát a rövidebb inkubációs időt követően a herbicid nélküli szennyvíz szignifikánsan 135 %-ra növelte a kontrollhoz viszonyítva (40.c.

ábra). A klórszulfuron különböző dózisaival alkalmazva szintén szaporodás-serkentést figyelhettünk meg, mely lényegesen kisebb mértékű volt, mint a szer nélküli szennyvíznél (13-109 %). Ez a csíraszám emelkedés csak a 0,01- és 1 $mgkg^{-1}$ koncentrációknál volt szignifikáns (40.c. ábra). Megállapítottuk, hogy a szennyvíz herbicid nélkül nagyobb mértékű csíraszám-növekedést eredményezett a heterotróf mikroorganizmusoknál, mint a klórszulfuron szántóföldi dózisával (0,001 $mgkg^{-1}$) és annak 10 000-szeresével (10 $mgkg^{-1}$) együttesen alkalmazva. A 0,01 $mg.kg^{-1}$ klórszulfuron a szennyvízzel együtt nagyobb mértékben stimulálta a heterotrófok szaporodását, mint a 10 $mgkg^{-1}$ herbicid-koncentráció és szennyvíz együttes alkalmazása. A *B. cereus* var. *mycoides* baktérium a rövidebb hatóidejű klórszulfuron és szennyvízkezelés következtében mindössze az 1 $mgkg^{-1}$ herbicid dózisnál szenvedett el szignifikáns gátlást (22 % a kontrollhoz képest). A szennyvíz és a szer szennyvízzel kombinált koncentrációi tendenciájában ugyan csökkentették a szaporodást, de ez nem volt szignifikáns (40.d. ábra).



41. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíznek együttes hatása a vizsgált mikroorganizmus csoportok sejtszámának alakulására 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben, Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz adagolása nélkül, Szennyvíz: minta szennyvízadagolással herbicid hozzáadása nélkül, 1.) 0,001 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron (KSz)+szennyvíz (SzV), 2.) 0,01 $mgkg^{-1}$ KSz+SzV, 3.) 1 $mgkg^{-1}$ KSz+SzV, 4.) 10 $mgkg^{-1}$ KSz+SzV.

A szabadon élő nitrogénkötő baktériumoknál az első mintavételnél az 1- és 10 $mgkg^{-1}$ herbicid-koncentráció kivételével szignifikáns stimulációt észleltünk, mely a 0,001 $mgkg^{-1}$ dózisnál volt jelentős, mintegy 74 %-os (41.a. ábra). A szennyvíz alkalmazása is a szaporodás szignifikáns serkentését okozta, 38 %-kal megemelve a csíraszámot a kontrollhoz viszonyítva. A vegetációs időszakot követően a herbicid nélküli szennyvíz az *Actinomyces*-ek jelentős mértékű, szignifikáns sejtszám-csökkenését idézete elő (a kontroll 55 %-a), melyet a klórszulfuron 0,001- és 0,01 $mgkg^{-1}$ dózisa jelentősen enyhített (78-93 %) (41.b. ábra). Az 1-

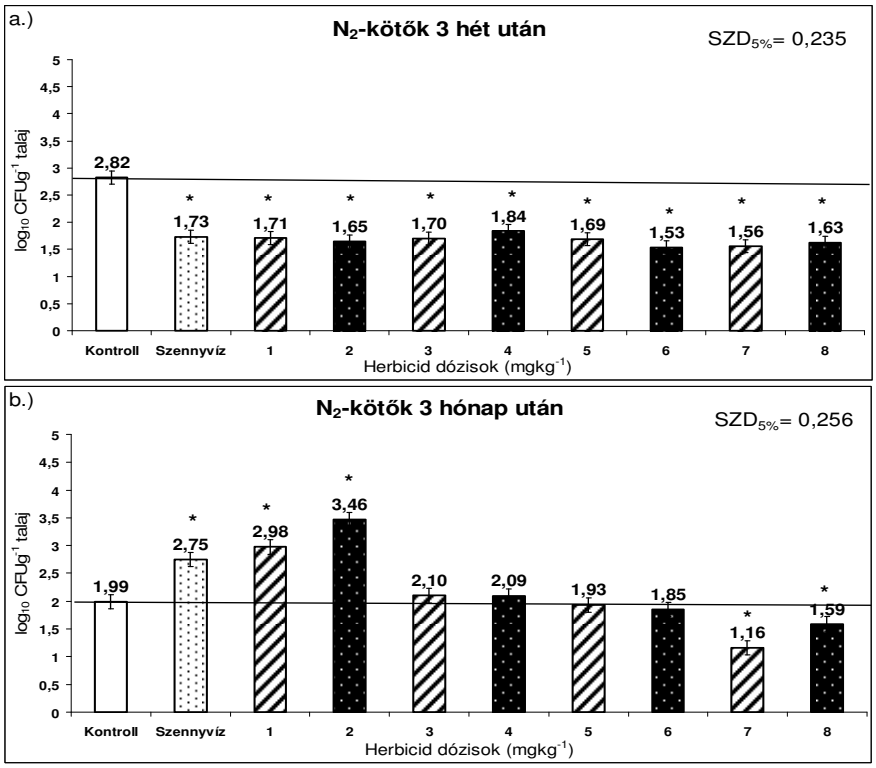
és a 10 mgkg^{-1} klórszulfuron pedig nagymértékű, szignifikáns szaporodás gátlást okozott (sorrendben 34- és 24 %). A kitenyészthető heterotróf baktériumoknál a hosszabb hatásban szintén a herbicid nélküli szennyvíz adagolásnál figyelhettünk meg nagymértékű, szignifikáns csíraszám emelkedést, mely a kontroll 161 %-a volt (41.c. ábra). A legkisebb 0,001 mgkg^{-1} dózis a szennyvízzel együtt alkalmazva a heterotróf mikroorganizmusoknak szignifikáns stimulációját okozta, mely nagyobb mértékű volt mint a három hetes mintavételnél (113 %). A fenti koncentráció tízszeresénél (0,01 mgkg^{-1}) szintén csíraszám emelkedést tapasztalhattunk, de ez nem volt szignifikáns (106 %). Az 1- és 10 mgkg^{-1} dózisok a szennyvízzel kombinálva jelentős sejtszám-csökkenést (a szaporodás mértéke a kontroll 68- és 65 %-a) idéztek elő (41.c. ábra). A *Bacillus cereus* var. *mycoides* szaporodásában a vegetációs időt modellező hatóidő jelentős változást okozott. Ennél a baktériumnál a klórszulfuron legkisebb, 0,001 mgkg^{-1} dózisa a kokszolói szennyvízzel kombinálva szignifikáns, 64 %-os csíraszám-emelkedést okozott a kontollhoz képest. A 0,01 mgkg^{-1} gyomirtó szer és szennyvíz-kombináció jelentős, szignifikáns gátlást idézett elő (szaporodás mértéke a kontroll 7 %-a), az ennél magasabb herbicid dózisoknál már nem is volt kimutatható szaporodás (41.d. ábra). A vizsgált mikroorganizmus-csoportok klórszulfuron növekvő koncentrációival és a kokszolói szennyvízzel szembeni érzékenységi mintázat eredményeit a 12. számú összesítő táblázat mutatja be.

12. táblázat: Kitenyészthető mikroorganizmus csoportok klórszulfuron- és szennyvíz-„érzékenységének" összehasonlító értékelése in vivo

Mikroorganizmus csoportok	**Klórszulfuron koncentrációk szennyvízadagolással**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
Szabadon élő nitrogénkötő baktériumok					
3 hét	-	**-**	**-**	**-**	**-**
3 hónap	**+**	**+**	**0/+**	**0/-**	**-**
Actinomycesek					
3 hét	**0/-**	**0/-**	**0/-**	**0/-**	**0/-**
3 hónap	**-**	**0/-**	**0/-**	**-**	**-**
***Spórások (Bacillus** cereus* var. *mycoides)*					
3 hét	**0/-**	**0/-**	**0/-**	**-**	**0/-**
3 hónap	**0/-**	**+**	**-**	**-/0**	**-/0**
Heterotrófok					
3 hét	**+**	**0/+**	**+**	**0/+**	**0/+**
3 hónap	**+**	**+**	**0/+**	**-**	**-**

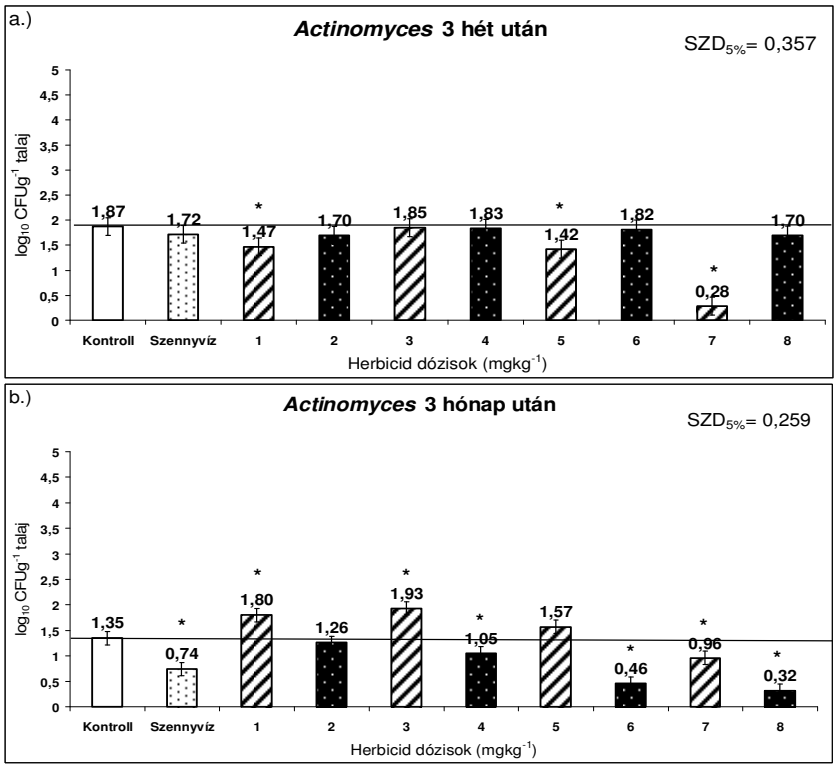
Jelmagyarázat: 0: nincs hatás, 0/-: nincs hatás/nem szignifikáns gátlás, 0/+: nincs hatás/nem szignifikáns stimulálás, +: szignifikáns stimulálás, -: szignifikáns gátlás, -/0: nincs szaporodás. Klórszulfuron koncentrációk: 1.) Szennyvíz klórszulfuron nélkül; 2.) 0,001-; 3.) 0,01-; 4.) 1,0-; 5.) 10 mgkg^{-1} klórszulfuron+szennyvíz.

4.4.2. Csíraszám értékek a hatóidő függvényében



42. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíz kombinációknak a hatása a N_2-kötő baktériumok sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben. Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz nélkül; Szennyvíz: csak szennyvíz (Szv); 1.) KSz 0,001-; 2.) KSz 0,001-+Szv; 3.) Ksz 0,01-; 4.) Ksz 0,01-+Szv¿ 5.) Ksz 1-; 6.) Ksz 1-+Szv; 7.) Ksz 10-; 8.) Ksz 10-+Szv. Ksz: $mgkg^{-1}$-ban.

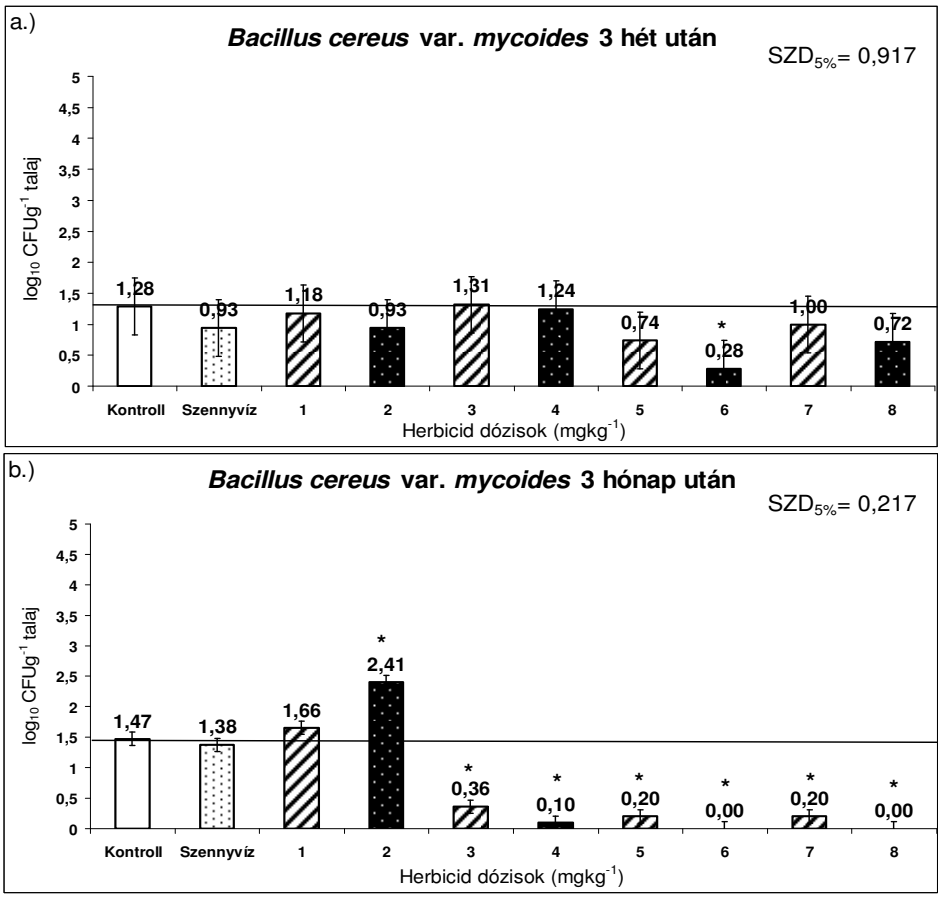
A szabadon élő N_2-kötő baktériumok számának alakulását elemezve megállapítottuk, hogy három hét hatóidő után a klórszulfuron minden általunk alkalmazott dózisa igen jelentős sejtszám-csökkenést eredményezett (42.a. ábra). A különféle koncentrációk között a sejtszám-csökkentő hatásban szignifikáns különbség nem adódott. A Dunaferr kokszolói szennyvize három hét hatóidő után nagymértékben csökkentette a nitrogénkötők kitenyészthető csíraszámát, amely eredmény azonban a herbicid adagokkal való kölcsönhatásban nem módosult jelentősen. A 0,01 $mgkg^{-1}$ herbicid-dózisok enyhe stimuláló hatása a szennyvízadagokkal való kombinációban a szabadon-élő nitrogén-kötő baktériumoknál is kimutatható volt. Három hónap elteltével a kontrollhoz viszonyítva a gyomirtó nélküli szennyvíz és a 0,001 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron a szennyvízzel kombinálva szignifikánsan serkentette a nitrogénkötők szaporodását, míg a nagyobb koncentrációk a szennyvízzel kombináltan fokozatos sejtszám-csökkenést eredményeztek (42.b. ábra).



43. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíz kombinációknak a hatása az *Actinomyces*-ek sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben. Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz nélkül; Szennyvíz: csak szennyvíz (Szv); 1.) KSz 0,001-; 2.) KSz 0,001-+Szv; 3.) Ksz 0,01-; 4.) Ksz 0,01-+Szv¿ 5.) Ksz 1-; 6.) Ksz 1-+Szv; 7.) Ksz 10-; 8.) Ksz 10-+Szv. Ksz: $mgkg^{-1}$-ban.

Az *Actinomyces*-ek szaporodásánál - a szabadon élő N_2-kötőkhöz hasonlóan - csökkenő mértékű sejtszám változásokat figyelhettünk meg a klórszulfuron növekvő dózisainak hatására, a három hetes inkubáció után (43.a. ábra). A 0,01 $mgkg^{-1}$ koncentráció ennél a csoportnál is enyhe stimuláló hatást eredményezett a többi alkalmazott koncentrációhoz viszonyítva. Ennek eredményeként a kitenyészthető csíraszámok a kezeletlen kontrollal azonos értékeket mutattak a herbicid és a herbicid-szennyvíz kombinációknál is. A 10 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron kezelésnél kiemelendő az ipari szennyvízzel való kombinációk az *Actinomyces*-ek kitenyészthető sejtszámára kifejtett kedvező hatása, amely a szennyvizes kontroll kezelésekhez viszonyítva is sejtszám-növekedést eredményezett. Ezzel a kombinációval ily módon a kezeletlen talajban található csíraszám-értékeket érhettük el a herbicid legmagasabb, a mezőgazdasági alkalmazást 10 000-szeresen meghaladó dózisainál is (43.a. ábra).

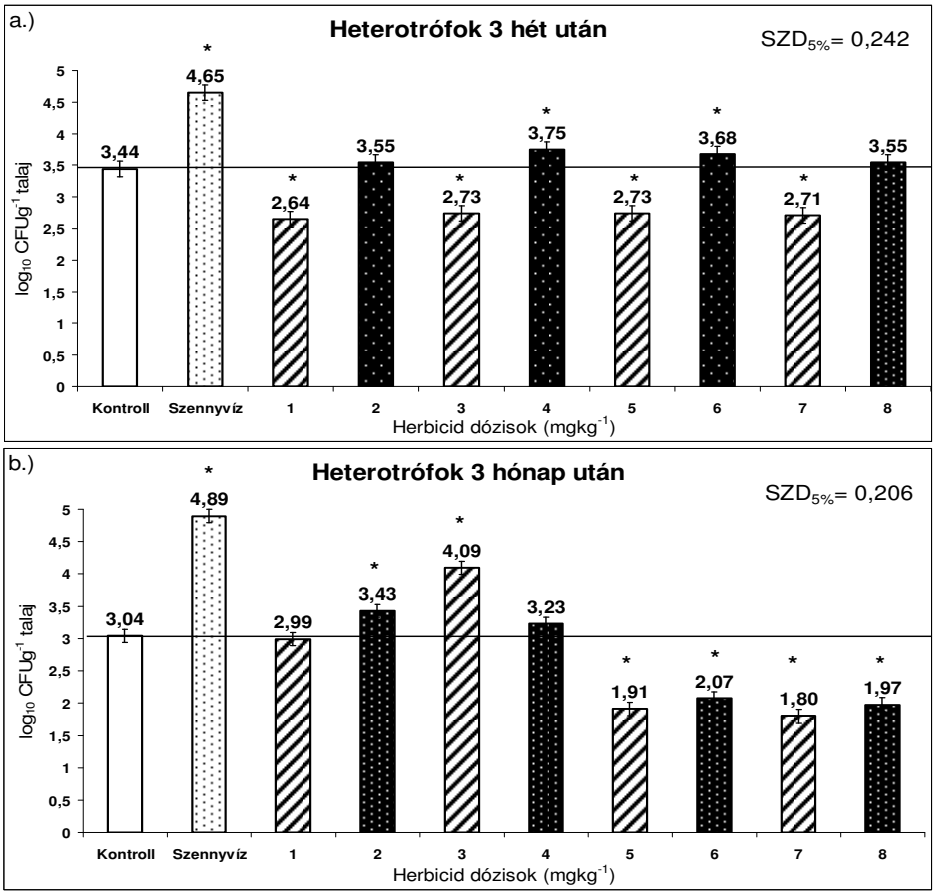
A három hónapos hatóidő érdekes eredményekkel járt. A szennyvíz alkalmazása szignifikánsan csökkentette az *Actinomyces*-ek számát, míg a 0,001 $mgkg^{-1}$ herbicid koncentrációval történő kombináció a kontrollhoz hasonló eredményt adott. A magasabb dózisú kombinációk fokozatos, szignifikáns sejtszám csökkenéshez vezettek (43.b. ábra).



44. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíz kombinációknak a hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumok sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben. Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz nélkül; Szennyvíz: csak szennyvíz (Szv); 1.) KSz 0,001-; 2.) KSz 0,001-+Szv; 3.) Ksz 0,01-; 4.) Ksz 0,01-+Szv; 5.) Ksz 1-; 6.) Ksz 1-+Szv; 7.) Ksz 10-; 8.) Ksz 10-+Szv. Ksz: $mgkg^{-1}$-ban.

A szennyvíz nélküli kezelésekben a klórszulfuron különböző koncentrációi három hét elteltével tendenciájukban csökkenő telepszám értékeket adtak, de a 0,01 $mgkg^{-1}$ dózis *B. cereus* var. *mycoides* baktériumra is szignifikánsan stimuláló hatásának bizonyult (44.a. ábra). A stimulált sejtszám-növekedés az 1 $mgkg^{-1}$ dózisnál a kezelés nélküli kontrollhoz viszonyítva is szignifikánsan magasabbnak adódott. A heterotróf csíraszámnál és a nitrogénkötőknél tapasztaltakkal ellentétben a *B. cereus* var. *mycoides* kitenyészthető telepeinek számszerű értékei a szennyvízkezelés hatására nem csökkentek szignifikánsan.

A három hónapos inkubációs idő letelte után a szántóföldi dózis és szennyvíz kombinációja jelentős, szignifikáns stimulációt okozott, ugyanakkor a nagyobb dózisok kombinációkban nagymértékű sejtszám-csökkenést eredményeztek. Az 1- és 10 $mgkg^{-1}$ koncentrációknál a szennyvízzel kombinált mintáknál nem is indult meg a szaporodás (44.b. ábra).



45. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíz kombinációknak a hatása a heterotróf baktériumok sejtszámának alakulására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* kísérletben. Jelölések: Kontroll: minta herbicid és szennyvíz nélkül; Szennyvíz: csak szennyvíz (Szv); 1.) KSz 0,001-; 2.) KSz 0,001-+Szv; 3.) Ksz 0,01-; 4.) Ksz 0,01-+Szv¿ 5.) Ksz 1-; 6.) Ksz 1-+Szv; 7.) Ksz 10-; 8.) Ksz 10-+Szv. Ksz: $mgkg^{-1}$-ban.

A kitenyészthető heterotróf baktériumok számát a kísérleteknél a felhasznált ipari szennyvíz az első mintavétel után egy nagyságrenddel megnövelte, amely érték a herbicid-adagokkal való kombinációkban csak a herbicid 10 $mgkg^{-1}$ dózisánál csökkent szignifikánsan (45.a. ábra). A herbicid-szennyvíz kombinációknál enyhe, de a herbicid nélküli szennyvizes kontrollhoz viszonyítva nem szignifikáns stimuláló hatást tapasztalhattunk a 0,01 $mgkg^{-1}$ dózisnál. A második mintavételt követően a herbicid nélküli szennyvízkezelés szignifikánsan tovább növelte a csíraszámot. A szántóföldön is alkalmazott 0,001 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron dózissal kombinálva a kontrollhoz viszonyítva szignifikánsan nőtt a sejtszám, míg az 1- és 10 $mgkg^{-1}$ koncentrációkkal való kombináció erős, szignifikáns szaporodás-gátlást idézett elő a heterotróf baktériumoknál (45.b. ábra).

5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Dolgozatomban különféle mikroorganizmusok és mikroorganizmus csoportok herbicid-érzékenységének *in vitro* és *in vivo* eredményeit mutatom be. Az *in vitro* vizsgálatok során a nem adaptált, tiszta baktériumtörzseket a klórszulfuron mellett tiokarbamát herbicidekkel is teszteltük. Módszerként folyékony mikrofermentoros eljárást és optikai denzitás értékeket, a hagyományos telepszámlálásos eljárást szilárd tápagaron, valamint a folyadéktenyészet szárazanyag-tartalmát határoztuk meg. Az *in vivo* tenyészedényes kísérleteknél a klórszulfuron gyomirtó szer gyakorlati és növekvő dózisainak egy ipari szennyvízzel való kombinációját vizsgáltuk.

5.1. A rázatásos, mikrofermentoros *in vitro* módszer eredményeinek értékelése

Az *in vitro* kísérletek során tesztelt mikroorganizmusok változatos érzékenységi mintázatot mutattak a különböző herbicidek növekvő koncentrációival szemben. Ez az érzékenységi különbség a gyomirtó szerek eltérő kémiai szerkezetére, valamint a mikroorganizmus fajok/törzsek egyéni érzékenységére vezethető vissza. A klórszulfuron és a tiokarbamát származékok mikroorganizmusokra gyakorolt hatásai között néhány esetben ugyan párhuzamot lehet vonni, ugyanakkor a különböző szerkezetű, nyílt láncú vagy gyűrűs vegyületet tartalmazó szerek mikroszervezetekre gyakorolt hatása eltérő lehet. A mikroorganizmusok érzékenysége függhet az adott szer toxikusságától, de attól is, hogy képesek-e azt metabolizálni, vagy olyan termékké transzformálni, amely már nem mutat számukra toxikus hatást. Abban az esetben, ha a mikroszervezet megfelelő tápanyagforrásként tudja hasznosítani az adott gyomirtó szert, akkor a szaporodásának a stimulálása is megfigyelhető, amit számos irodalmi forrás is alátámaszt a herbicidekkel kapcsolatban (Novogrudszkaja et al. 1965, Breazeale és Camper 1970, Jozepovits et al. 1980, Santris et al. és 2004, Martinez et al. 2008, valamint Pampulha et al. 2008). A szaporodás gátlása ezt a logikát követve annak az eredménye, hogy az adott szer gátolja valamely létfontosságú anyag szintézisét, többnyire a kulcsfontosságú enzimek blokkolásával, ahogy azt többek is leírták (La Rossa és Schloss 1984, Mayer et al. 1989, valamint Burnet és Hodgson 1991, Forlani et al. 1995, Hardy és Giaquinta 2005). Az acetolaktát-szintetáz (ALS) gátló herbicidek hatással lehetnek a baktériumokra, gombákra, élesztőgombákra és az algákra is (Whitcomb 1999).

További tanulmányok hangsúlyozzák azt a tényt is, hogy a herbicidek mikroorganizmusok általi lebontása erősen függ az egyes vegyületek molekuláris

szerkezetétől is (Szabó 1989, Berger et al. 1998, Brashi et al, 2000, Zanardini et al. 2002). A molekulaszerkezet bármilyen apró, lényegtelennek tűnő megváltozása is jelentős eltéréseket okozhat a mikrobiológiai lebontó képességben. Így például bizonyos szubsztituensek benzolgyűrűre történő beépítése is erősen befolyásolja a degradálhatóságot (Bollag 1974, Szabó 1989, valamint Berger és Wolfe 1996, Brashi et al. 2000, Zanardini et al. 2002). A szubsztituenseknek az aromás gyűrűn elfoglalt helyzete, kémiai tulajdonságai és a molekula lebonthatósága között is szoros összefüggések vannak (Bollag 1974, Szabó 1989). Racskó és Budai (2004) szerint egy-egy mikroorganizmus faj általában csak egyféle herbicid-molekula elbontására specializálódik. Más nézetek szerint vannak olyan mikroszervezetek is, amelyek több, egymástól szerkezetileg különböző növényvédő szer hatóanyagának inaktiválásában is részt vesznek (Berger és Wolfe 1996, Zanardini et al. 2002). Az is kimutatásra került, és többnyire a legtöbb szerves és összetett szennyezőanyagnál ez az elfogadott tény, hogy bizonyos vegyületeket a talajban nem egyfajta szervezet, törzs, hanem többféle mikroorganizmus faj szinergista módon, kometabolizmusban képes lebontani (Bollag 1974, Szabó 1989, Daffonchio et al. 1996, Racskó és Budai 2004).

5.1.1. A különböző mikroorganizmusok klórszulfuron-érzékenységének összehasonlítása

Az általunk tanulmányozott mikroorganizmusok a talajokból, illetve talaj-növény rendszerekből származtak. A kiválasztásnál kiemelt szempont volt a mikroszervezetek növénynövekedést segítő hasznossága, a talaj-inkubációs modellkísérletben pedig a kitenyészthetőség, illetve a funkcionális szereppel bíró fajreprezentánsoknak a kísérletekbe vonása. Ennek megfelelően egy széles spektrumú mikroorganizmus törzsgyűjteményt vontunk be a vizsgálatokba. Egyes fajok különböző törzsei és egy-egy kiemelt genus számos faja is tesztelésre kerültek abból a célból, hogy az adott fajcsoportokra vonatkozóan is általános következtetésekre juthassunk.

Az *in vitro* rázatásos, mikrofermentoros kísérleteink összesített eredményei szerint a különböző tesztelt mikroorganizmus törzsek közül a klórszulfuronra a legérzékenyebbnek a növényi patogén *Xanthomonas campestris* bizonyult. Általában a szimbionta nitrogénkötő *Rhizobium*-ok (ezek között is a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. sz. törzse) is nagyfokú érzékenységet mutattak (74 %-os átlagos szaporodással, a kontrollhoz viszonyítva). Kísérleteink során megállapítottuk, hogy a vizsgált mikroorganizmusok herbicid-érzékenysége erősen függött az adott szerek koncentrációjától és a különböző fajok és törzsek egyéni reakciói is jelentősen eltértek egymástól. Ezt támasztják alá Kisnievsky et al. (2009) eredményei is négy *Rhizobium* törzs *in vitro* tesztelésekor, amikor is a különböző, egy fajcsoportba tartozó törzsek is eltérően reagáltak a herbicidek különböző dózisaira. Durgesha

(2008) négyféle *Rhizobium* törzs herbicid-érzékenységének *in vitro* vizsgálatakor is azt állapította meg, hogy a gyomirtó szerek alkalmazásakor a különböző törzsek eltérő mértékben reagáltak, bár a hatást a szerek dózisai is befolyásolták. A szimbionta nitrogénkötőknél a gyomirtó szerek okozta szaporodás-gátlás gyakran párosul a gyökérgümő képződés és a nitrogén-fixálás gátlásával is. Eberbach és Douglas (1989) a *Rhizobium trifolii* gyökérgümő képzésének és növekedésének csökkenését figyelték meg a klórszulfuron 2 mgL^{-1} koncentrációjának alkalmazásakor. *In vitro* kísérletek során a klórszulfuron gyakorlati dózisának kétszerese hatástalan maradt a *Mesorhizobium ciceri* (CC1192) gyökérgümő képzésére, ugyanakkor a tenyészedényes vizsgálatok a gümőképződés és a nitrogénkötés csökkenését bizonyították (Anderson et al. 2004). Kriete és Broer (1996) a *Rhizobium meliloti* érzékenységét tapasztalták a foszfinotricin-tripeptid és annak aktív hatóanyagának a foszfinotricin alacsony koncentrációira, mely érzékenység a sejtszám és a gümőképzés csökkenésében nyilvánult meg. *In vitro* kísérleteinkben a *Sinorhizobium meliloti* Lu-K szaporodását a klórszulfuron minden koncentrációja szignifikánsan gátolta. Megállapíthatjuk tehát, hogy az egyes mikroorganizmusok képviselőinek egyedi érzékenységi mintázatai határozzák meg a talajban a herbicidek hatását. Az egyedi érzékenység ennek megfelelően lehetőséget ad arra, hogy kevésbé vagy erősebben érzékeny mikroorganizmus-törzseket szelektáljunk egy adott gyomirtó szerrel kapcsolatosan további gyakorlati alkalmazási szempontokat figyelembe véve (Nagy et al. 1987, 1988, Nagy 1989, Zanardini et al. 2002, valamint Yong et al. 2006). Ez a lehetőség azért is hasznos, mivel számos xenobiotikumot tesztelve a rhizobiumok az egyik leginkább érzékeny csoportnak bizonyultak (Kecskés, 1976), de a nitrogén-kötők szabadföldi körülmények között is a legkevésbé stressz-toleráns szervezetek (Giller et al. 1989).

Az általunk tanulmányozott egyes mikroorganizmusok közül irodalmi adatok szerint is (Joshi et al. 1985, Romesser és O'Keefe 1986, O'Keefe et al. 1987, 1988, O'Keefe 1990, Omer et al. 1992, valamint Milosevic és Govedarica 2002, Martinez et al. 2008) a *Streptomyces* sp. külön figyelmet érdemel. A *Streptomyces*-ek szaporodását az alacsonyabb klórszulfuron dózisok, azaz a szántóföldi és a 10-szeres, 100-szoros koncentrációk is szignifikáns módon serkentették, és csak a nagyobb adagok csökkentették szignifikánsan a sejtszámot. Martinez et al. (2008) megfigyelései szerint a *Streptomyces*-ek szaporodására a szulfentrazon is serkentőleg hat. Milosevic és Govedarica (2002) szerint a különböző herbicidek alkalmazásakor az *Actinomyces*-ek száma megnövekedett jelezve, hogy képesek hasznosítani a szereket. Igen erős, statisztikailag is igazolt szaporodás-stimulálást figyelhettünk meg magunk is a *S. griseus* és a *S. griseolus* törzsnél, amely utóbbiról Joshi et al. (1985) is bizonyította, hogy az képes lebontani a ^{14}C izotóppal megjelölt klórszulfuron

gyakorlati mennyiségeit. *In vitro* kísérleteink során 11 % - 47 %-os szaporodás-serkentést mértünk. Többen is bizonyították, hogy a *S. griseolus* a fenilcsoport hidroxilációjával számos szulfonilkarbamid herbicidet, köztük a klórszulfuront, képes metabolizálni a citokróm P450 monooxigenázok segítségével (Romesser és O'Keefe 1986, O'Keefe et al. 1987, 1988, O'Keefe 1990, Omer et al. 1992). Schrijver és De Mot (1999) szerint is a *Streptomyces*-ek jelentős szerepet játszanak a peszticidek biológiai átalakításában és lebontásában. Közöttük találhatók olyanok is, amelyek képesek a szulfonilureák bontására, de mégis többnyire baktériumok konzorciuma szükséges a teljes degradációhoz. Szerzők javasolják, hogy ennek megfelelően a *Streptomyces*-ek biodegradációs és biotranszformációs képességeit eredményesebben ki lehetne használni (Schrijver és De Mot 1999). Ugyanakkor Rakimov et al. (1963) megállapításai szerint az EPTC 3 $kgha^{-1}$ dózisa csökkentette a talajban élő *Actinomyces*-ek számát, 4 $kgha^{-1}$ dózisban pedig gátolta a gomba és *Actinomyces* populációk mennyiségeit is. Azoknál a baktériumoknál, melyekről a szakirodalmi adatok alapján kiderült, hogy képesek degradálni a klórszulfuront, minden egyes általunk alkalmazott herbicid dózisnál jelentős szaporodás-stimulációt figyelhettünk meg az *in vitro* tesztjeink során. Más szerzők munkáikban bizonyították, hogy az *Actinomyces*-ek egyes törzsei nemcsak kevésbé érzékenyek bizonyos gyomirtó szerek nagy koncentrációira, de képesek lehetnek azok lebontására is. Sette és munkatársai (2005) rendkívül toxikus és erősen mobilis alaklór herbiciddel kezelt talajból 53 *Streptomyces* törzset izoláltak, melyek közül 16 törzs jól tolerálta a szer nagy dózisait (>720 mgL^{-1}) is. További 6 törzs képes volt szaporodni és lebontani az alaklór több mint 50 %-át (72 mgL^{-1}).

A klórszulfuron minden általunk alkalmazott dózisa szintén szignifikánsan stimulálta a *Pseudomonas alcaligenes* és a *P. fluorescens* törzsek (39-57 %-os serkentés) szaporodását. Zanardini et al. (2002) és Boschin et al. 2003 bebizonyították, hogy a *P. fluorescens* baktérium egyik törzse képes bontani a klórszulfuront és a metszulfuron-metilt. Ezzel szemben Boldt és Jacobsen (1998) a *P. fluorescens* baktérium számának csökkenését jelentették a klórszulfuron herbicid ajánlottnál nagyobb dózisainál. Ugyanakkor az *in vitro* mikrofermentoros tesztelésünk alkalmával a szántóföldön szokásos dózis kivételével (6 %-os stimuláció) a klórszulfuron minden koncentrációja a *P. aeruginosa* szignifikáns szaporodás-csökkenését okozta (12-20 %-os gátlás). Hasonló eredményt kaptak Burnet és Hodgson (1991), akik szerint a klórszulfuron gátolta a *P. aeruginosa* növekedését, ugyanakkor a *P. fluorescens* és a *Rhizobium trifolii* törzsekre nézve a szer hatástalan maradt. Ezzel ellentétben az általunk végzett laboratóriumi kísérletekben a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3 törzs a vizsgált *Rhizobium*-ok közül a legérzékenyebbnek bizonyult a klórszulfuronra, minden egyes dózis szaporodás-gátlást idézett elő. Mások szerint a klórszulfuron a *P. fluorescens*

acetolaktát-szintetáz enzim aktivitását 21-33 %-ban, a *P. aeruginosa* és az *Azotobacter agilis*-ét 74-100 %-ban gátolta (Burnet és Hodgson (1991). Forlani et al. (1995) megállapították, hogy a szulfonilkarbamidok szántóföldi dózisai csökkentették az egyik *Pseudomonas* törzs szaporodását. Ezzel ellentétben Patnaik et al. (1995) más herbicidek (anilofos és a 2,4 D) stimuláló hatásáról számoltak be, akik szerint a szerek kombinációja stimulálta az anaerob nitrogénkötő baktériumok és az *Azotobacter* sp. populációit.

Kísérleteink során egy kivételével minden klórszulfuron koncentráció az *Escherichia coli* szignifikáns szaporodásgátlását idézte elő. Junnila et al. (1996) szerint a klórszulfuron szintén gátolta az *E. coli* baktérium szaporodását. de a folyamatot az izoleucin aminosav hozzáadásával meg lehetett állítani. A klórszulfuron gátló hatását tehát az *E. coli* törzsre a herbicid izoleucin-szintézis gátlása okozhatta. La Rossa és Schloss (1984) is igazolták, hogy a szulfometuron-metil is gátolja a baktériumokban az acetolaktát-szintetáz enzimet, amely felelős az izoleucin bioszintéziséért.

5.1.2. A mikroorganizmusok érzékenysége a tiokarbamát herbicidekre

A tiokarbamát herbicidek közül az EPTC szignifikánsan stimulálta a *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. (129 %) és az *Azotobacter* spp. (120 %) szaporodását. Hasonló eredményekről számoltak be Novogrudszkaja et al. (1965), akik kísérleteik során megfigyelték, hogy az EPTC 1,5-2-szeresére növelte a talajban a mikroorganizmus csíraszámot, továbbá stimulálta a nitrifikáló és denitrifikáló baktériumok szaporodását. Az általunk kapott eredményekből is jól látszik, hogy az alkalmazott dózisok mindegyike szignifikáns szaporodás-serkentést idézett elő az *Azotobacter* spp. baktériumnál. Az EPTC egy koncentráció (50 mgL^{-1}) kivételével szignifikánsan gátolta a *Bacillus* genus általunk tesztelt reprezentánsainak szaporodását, a *Streptomyces*-ekre pedig minden koncentrációja szignifikáns gátló hatással volt. Szintén gátlást észleltek Mac Rae és Alexander (1965), akik szerint az EPTC 10 mgL^{-1}-nél nagyobb koncentrációban csökkentette a *Bacillus* sp. baktériumok szaporodását. A herbicid 3 $kgha^{-1}$ dózisa a talajban élő *Actinomyces*-ek csíraszámának csökkenését is előidézte (Rakimov et al. 1963), és a 4 $kgha^{-1}$ koncentráció szintén gátolta az *Actinomyces* populációk számát. Balkova és Szemikatova (1967) szerint az EPTC 6 $kgha^{-1}$ dózisban szintén redukáló hatású volt a baktériumok szaporodását illetően. Krezel et al. (1984) megállapították, hogy a méret, morfológia, pigmentáció és az antibiotikum szintetizáló képesség nem változott 1 és 100 mgL^{-1} EPTC koncentráció esetén. Lee et al. (1984) olyan baktériumok izolálásáról számoltak be (*Micrococcus, Bacillus, Pseudomonas alcaligenes),* amelyek képesek az EPTC-t kiegészítő tápanyagforrásként hasznosítani. Kísérleteinkben az általunk tesztelt *Pseudomonas*-ok kevésbé voltak érzékenyek

az EPTC különböző dózisaira (a kisebb dózisoknál szignifikáns stimulálást mértünk), a *Bacillus*-ok és a *Micrococcus luteus* azonban szenzitívnek bizonyultak. A molinátra 6 baktérium volt nagyon érzékeny (1-39 %-os szaporodás a kontrollhoz viszonyítva). A *S. griseus* M-2 törzs a 100 mgL^{-1} molinátot tartalmazó táptalajban - 36 nap alatt a gyomirtó szer 35 és 51 %-át bontotta le kometabolizmusban (Daffonchio et al. 1996). Szintén Daffonchio et al. 1999) szerint a molinát *Streptomyces* sp. fajok okozta biológiai degradációja főként kometabolizmusban megy végbe. *In vitro* kísérleteink során azt állapítottuk meg, hogy a molinát 100 mgL^{-1} és 250 mgL^{-1} dózisai stimulálták a *S. griseus* törzs szaporodását. Ugyanakkor az acetoklór károsító hatásáról számoltak be Sapundjieva et al. (2003), mely szerint a legnagyobb dózisok gátolták a baktériumok és az *Actinomyces*-ek szaporodását.

Az összes tiokarbamát származék stimuláló hatást gyakorolt a *Azotobacter* spp. (110 %) törzs szaporodására. Mrkovacki et al. (2002) szintén arról számoltak be, hogy az általuk vizsgált *Azotobacter* törzs kevésbé volt érzékeny a herbicidek különböző koncentrációira, szaporodás-serkentés is előfordult. Szintén stimuláló hatásról számoltak be Patnaik et al. (1995), akik szerint más szerek (2,4 D és anilofos) kombinációja serkentette az anaerob nitrogénkötő baktériumok és az *Azotobacter* sp. szaporodását. Ezzel ellentétben Milosevic és Govedarica (2002) arra a következtetésre jutottak, hogy a herbicidekre a legérzékenyebb az *Azotobacter*, ezért reális indikátora a talaj biológiai állapotának. Kísérleteikben e nitrogénkötő baktérium száma a gyomirtó szerek alkalmazásának 7-14 napjára csökkent, miközben ezzel egyidejűleg az *Actinomyces*-ek száma viszont növekedett, bizonyítva véleményünk szerint a herbicid-hasznosító képességet. A tiokarbamátokra érzékenyek voltak a *Pseudomonas* baktériumok is (86-81 %-os szaporodás). Az atrazin és a metolaklór kezelések hatására a *Pseudomonas* sp. és a *Bacillus* sp. eliminációja következett be Ayansina és Oso (2006) szerint. Whitelaw-Weckert et al. (2004) jelezte, hogy a glifosat, diquat, paraquat és a carfentrazon-etil is csökkentették a *Pseudomonas* baktériumok számát.

Összesített eredményként megállapíthatjuk, hogy a tiokarbamát származékokra legérzékenyebbek a *Streptomyces*-ek voltak. A baktériumok érzékenysége változatos mintázat szerint alakult. Néhány törzs, így a *B. subtilis, S. griseus, S. griseolus* és *X. campestris* esetében a vernolát egyetlen egy koncentrációjánál sem volt megfigyelhető szaporodás. A tiokarbamátok a molinát kivételével ugyanakkor stimulálták a *R. leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. jelű törzs szaporodását. A vizsgált herbicidek közül csak a tiokarbamátokra bizonyultak érzékenynek a *B. cereus* var. *mycoides* és a *Streptomyces* sp. fajreprezentánsai. Ugyanakkor kizárólag a klórszulfuron herbicidre volt érzékeny a *R. leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3 jelű törzse. Számos *Streptomyces* faj esetében pedig a tiokarbamátoknál is stimulálást tapasztaltunk a klórszulfuronhoz hasonlóan. Az irodalmi adatokból ismeretes, hogy a *S.*

griseolus részt vesz a klórszulfuron lebontásában (Joshi et al. 1985). Az összes vizsgált herbicid közül a mikroorganizmusok a klórszulfuronra, a tiokarbamát származékok közül pedig a cikloátra voltak legkevésbé érzékenyek. A szakirodalomból ismert, hogy a herbicidek mikrobiológiai hatása függ többek között azok kémiai szerkezetétől. A szerves vegyületeknél például a szubsztituensek benzolgyűrűre történő beépítése is erősen befolyásolja a mikroorganizmusokra kifejtett hatásokat és a biológiai lebontást (Bollag 1974, Szabó 1989, valamint Berger és Wolfe 1996, Brashi et al. 2000, Zanardini et al. 2002). A szubsztituenseknek az aromás gyűrűn elfoglalt helyzete is összefügg a mikrobiológiai hatásukkal és lebonthatóságukkal (Bollag 1974, Szabó 1989). Ez különösen érvényes a klórszulfuronra, hiszen molekulája egy klóratommal szubsztituált benzol és egy triazingyűrűből áll, melyeket egy szulfonilkarbamid híd kapcsol össze (Ertli 2005).

Ezzel szemben a vizsgált baktériumok a molinátra bizonyultak legérzékenyebbnek, mely az előbbi herbicidekétől eltérő kémiai szerkezetének (S-etil-N,N-hexametilén-tiokarbamát) tulajdonítható.

5.2. Az *in vivo* eredmények értékelése

A klórszulfuron általunk alkalmazott növekvő koncentrációit talajinkubációs modellkísérletben is teszteltük. Ennek során különféle mikroorganizmus csoportok számszerű alakulását állapítottuk meg a herbicid adagolás után egy vegetációs időszakot alapul véve háromheti, illetve a vegetációs időt modellező három hónapi inkubációt követően.

5.2.1. A herbicid növekvő dózisainak hatása

A klórszulfuron különböző dózisainak átlagolt hatásait nézve arra a megállapításra jutottunk, hogy az általunk tesztelt mikroorganizmus-csoportokat a három hetes hatóidő után a herbicid nélküli kontrollhoz viszonyítva összességében csak a nagyon magas, 10 $mgkg^{-1}$ dózis gátolta szignifikánsan (52 %-os szaporodás a kontrollhoz viszonyítva). A vizsgált mikroszervezetek három hét után legkevésbé a 0,01 $mgkg^{-1}$ dózisra voltak érzékenyek. A vegetációs időt modellező három hónapos hatóidőt követően a 0,001- és 0,01 $mgkg^{-1}$ koncentrációk a sejtszámra összességében nem voltak szignifikáns stimuláló hatással. Az 1-; 10 $mgkg^{-1}$ dózisok összességében gátolták a szaporodást, az utóbbi koncentrációnál a sejtszám-csökkenés szignifikáns volt. Ayansina és Oso (2006) kísérleteiben az atrazin és a metolaklór alkalmazásánál szintén a szántóföldi dózisnál nagyobb koncentrációk eredményeztek jelentős sejtszám-csökkenést. Vizsgálatainkban a rövid- és a vegetációs időszakot követő 3 hónap átlagai szerint a vizsgált mikroorganizmusok szaporodásának kontrollhoz viszonyított mértéke összességében a dózis emelésével fokozatosan csökkent. A legnagyobb koncentráció szignifikánsan gátolt.

A tesztelt mikroorganizmus-csoportok számszerű alakulását egyenként vizsgálva megállapítható, hogy az *Actinomyces*-eknél a háromheti hatóidőn keresztül alkalmazott klórszulfuron 1- és 10 $mgkg^{-1}$ dózisai szignifikáns sejtszám-csökkenést okoztak. Három hónap elteltével a 0,001-; 0,01- és 1 $mgkg^{-1}$ koncentráció szignifikáns stimulációt idézett elő, míg a 10 $mgkg^{-1}$ dózis szignifikánsan csökkentette a csíraszámot. Santris et al. (2004) kísérleteiben az ugyancsak szulfonilkarbamid nikoszulfuron stimulálta az *Actinomyces*-ek számát. Sapundjieva et al. (2003) tenyészedényes kísérleteinél 90 nap után az acetoklór herbicidnek csak a legnagyobb dózisai csökkentették az *Actinomyces*-ek számát. Breazeale és Camper (1970) bizonyították, hogy a trifluralin a kontrollhoz viszonyítva 89 %-kal stimulálta az *Actinomyces*-ek szaporodását. Ez azt mutatja, hogy az *Actinomyces*-ek képesek lehetnek a trifluralint metabolizálni.

Esetünkben kétféle magyarázata lehet a három hónap után bekövetkezett stimulációnak: 1) Az *Actinomyces*-ek 3 hónap elteltével „adaptálódtak" a szerhez és képessé váltak azt szén- és nitrogén-forrásként hasznosítani. Ennek kiváltó oka, hogy ennyi idő alatt a talajból bizonyos tápanyagok mennyisége lecsökkent. 2) A másik magyarázat, hogy számításaink szerint a klórszulfuronnak a mészlepedékes csernozjom talajmintában mért $pH_{(KCl)}$=7 értéken 3 hónap, azaz 90 nap alatt a 40 %-a lebomolhatott, így a kezdeti herbicid dózisnak addigra mindössze 60 %-a maradt a talajban. Ezt irodalmi hivatkozás támasztja alá (Thirunarayanan et al. 1985), ahol megadták hogy különböző pH értékeknél mekkora a klórszulfuron felezési ideje a talajban. A degradációt a mikroorganizmusok, köztük az *Actinomyces*-ek is segítették.

A szabadon élő nitrogénkötő baktériumoknál a három hét hatóidőt követően a klórszulfuron erős, szignifikáns sejtszám-csökkenést okozott. Három hónap után a herbicid legkisebb dózisa szignifikánsan stimulálta a nitrogénkötők számát, mintegy 50 %-kal megemelve azt a kontrollhoz mérve. A szaporodás-serkentő hatásnak szintén magyarázata a klórszulfuron egy részének lebomlása, ill. elegendő tápanyag hiányában a mikroorganizmusok metabolizálhatták azt. Az 1 $mgkg^{-1}$ koncentráció is a kontrollhoz viszonyítva szignifikáns, 20 %-os serkentő hatású volt, a 10 $mgkg^{-1}$ pedig szignifikánsan csökkentette a szaporodást, tehát ez a koncentráció vagy annak maradványa már toxikusnak bizonyult a nitrogénkötő baktériumokra, melyekről ez esetben is igazolódott, hogy igen érzékeny szervezetek. Santris et al. (2004) szerint a szintén szulfonilurea származék (a nikoszulfuron) ugyancsak gátolta az aerob nitrogénkötő baktériumok szaporodását. Ezzel ellentétben Patnaik et al. (1995) más szerek alkalmazásakor szaporodás-serkentő hatást tapasztaltak, kísérleteik szerint az Anilofos és a 2,4 D herbicidek kombinációja stimulálta a nitrogénkötő baktériumok szaporodását.

Martinez-Toledo et al. (1996) a simazin különböző dózisainak használatakor viszont nem tapasztaltak változásokat a nitrogénkötő baktériumok számában.

A heterotróf mikroorganizmusok csíraszáma három hét után a nitrogénkötőkhöz hasonlóan minden egyes dózisnál szignifikánsan csökkent (a kontroll 71-79 %-ára). Ehhez hasonlóan egy másik szulfonilurea herbicid a nikoszulfuron is gátló hatásúnak bizonyult az összcsíraszámra és az amino-heterotróf baktériumokra (Santris et al. 2004). Yong et al. (2006) kísérletei szerint a metszulfuron-metil is gátolta az aerob heterotróf baktériumok szaporodását. A három-hónapos hatóidőt követően a 0,01 $mgkg^{-1}$ herbicid-koncentráció szignifikáns, 34,5 %-os serkentető hatású volt. A nagyobb dózisok ezzel szemben szignifikánsan gátoltak, 59-60 %-ra csökkentve a szaporodást. Más herbicidek szokásos és nagyobb dózisai szintén jelentős gátlást eredményeztek a baktériumok számát illetően (Ayansina és Oso 2006). A herbicid kezelések olyan mikroorganizmus fajok eliminációjához vezettek, mint például a *Pseudomonas* sp. és a *Bacillus* sp. Sapundjieva et al. (2003) laboratóriumi tenyészedényes kísérletei szerint az acetoklór herbicid legmagasabb dózisai 90 nap után csökkentő hatással voltak a baktériumok számára. Breazeale és Camper (1970) megállapították, hogy a trifluralin 50 %-kal a 2,4 D pedig 46 %-kal csökkentette a baktériumok szaporodását. Girvan és munkatársai (2004), Boddington et al. (2000) és Hawking et al. (2000), valamint Hodge et al. (2001) a talajban lévő baktériumok számszerű csökkenését igazolták a szulfonilureák csoportjába tartozó gyomirtó szerek nagy koncentrációinál.

A *Bacillus cereus* var. *mycoides* spórás baktériumnál a három-hetes hatóidő egyik dózisnál sem okozott szignifikáns eltérést. Három hónap után azonban a 0,001 $mgkg^{-1}$ koncentráció szignifikánsan 13 %-kal stimulálta a szaporodást, az ennél nagyobb dózisok pedig nagymértékű, szignifikáns gátló hatással voltak a baktériumra (a kontroll 14-24 %-a). Cserháti et al. (2008) szerint a benzonitril észter alkalmazásakor a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumoknál gátló és stimuláló hatás is előfordult. A fentieket támasztják alá Santris et al. (2004) kísérletei, melyek azt igazolták, hogy a szulfonilurea típusú nikoszulfuron herbicid a teljes mikroflórára (*Actinomyces*-ekre, heterotrófokra, gombákra és nitrogénkötő baktériumokra) gyakorolt hatása függött az alkalmazott dózistól, a kezelés időtartamától és a mikroorganizmus csoporttól is. A szer stimulálta az *Actinomyces*-ek számát, de az összcsíraszámot, az amino-heterotrófok és az aerob nitrogénkötő baktériumok szaporodását pedig gátolta. Ez igazolja az érzékenység dózis-, időtartam és mikroorganizmus függőségét. Ayansina és Oso (2006) 8 hetes kísérleteikben szintén kimutatták, hogy az atrazin és metolaklór herbicid-kezelések a *Bacillus* sp. eliminációjához vezettek.

5.2.2. A 3 hetes és a vegetációs időszakot modellező 3 hónapos hatások összehasonlító értékelése

Három hét hatóidő után a klórszulfuron a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok szignifikáns sejtszám-csökkenését okozta, majdnem a felére csökkentve a csíraszámot minden egyes koncentrációnál. Irodalmi adatokból ismert, hogy a nitrogénkötő baktériumok igen érzékeny szervezetek (Biró és Kecskés 1984, Bayoumi et al. 1988, 1995, 1999, valamint Biró et al. 1993, Köves-Péchy et al. 1996, Santris et al. 2004). Ezzel szemben a három hónapos hatóidőnél a 0,001 $mgkg^{-1}$ dózis szignifikánsan stimulálta a szaporodást, mely a baktérium csoport adaptálódását és/vagy a szer egy részének lebomlását, metabolizálását jelzi. A nagyobb dózisok a 0,01 $mgkg^{-1}$ kivételével szignifikáns szaporodás-gátlást okoztak, mely jelentősen kisebb mértékű volt, mint három hét után. A szennyvíz és a klórszulfuron-szennyvíz kombinációk rövid hatásban a nitrogénkötő baktériumok sejtszámát jelentős mértékben, szignifikánsan csökkentették. A szaporodás mértéke 54-65 % közötti volt a szennyvíz nélküli és szennyvizes kontrollhoz mérve. Milosevic és Govedarica (2002) is kimutatták a szabadon élő nitrogénkötők számának csökkenését a gyomirtó szerek alkalmazásának 7-14. napján. A vegetációs idő elteltével a két legnagyobb herbicid-dózis kivételével szignifikáns stimulációt figyeltünk meg, mely a 0,001 $mgkg^{-1}$-nál 74 %-os volt. A szennyvíz alkalmazása szignifikánsan serkentette a szaporodást (38 %-os csíraszám-növekedés).

Az *Actinomyces*-ek szaporodásánál, a szabadon élő nitrogénkötőkhöz hasonlóan, három hét hatóidő után a sejtszám csökkent a klórszulfuron alkalmazott növekvő dózisainak hatására. A 0,01 $mgkg^{-1}$ dózis enyhén serkentő hatású volt. Három hónap elteltével a 10 $mgkg^{-1}$ kivételével minden klórszulfuron koncentráció szignifikánsan stimulálta az *Actinomyces*-ek szaporodását (116-; 133- és 143 %). Ennek egyik magyarázata is az lehet, hogy három hónap alatt az *Actinomyces*-ek adaptálódtak a gyomirtó szerhez, illetve másik elmélet szerint lebontották azt egyedüli és szén- és nitrogén-forrásként felhasználva, esetleg más mikroszervezetekkel kometabolizmusban. Milosevic és Govedarica (2002) kísérleteikben a gyomirtó szerek alkalmazásakor az *Actinomyces*-ek száma megnőtt, jelezve, hogy képesek hasznosítani a herbicideket. Racskó és Budai (2004) szerint számos mikroorganizmus képes a gyomirtó szerek teljes vagy részleges lebontására, s ezzel inaktiválására. A folyamatban az *Actinomyces*-ek és ezen belül a *Streptomyces*-ek is részt vesznek. A 10 $mgkg^{-1}$ herbicid dózis alkalmazásánál a szaporodás mértéke a kontroll %-ában 71 % körül alakult. Martinez et al. (2008) megfigyelései szerint az *Actinomyces*-ek szaporodását a szulfentrazon is stimulálta. Ezzel szemben Kristufek és Blumauerová (1983) az *Actinomyces*-ek számának jelentős, 50 %-os gátlásáról számoltak be a Labuctril 25 herbicid kétéves tartamhatású alkalmazását

követően. A szennyvízkezelés az *Actinomyces*-eknél önmagában és a klórszulfuronnal kombinálva három hét után nem okozott szignifikáns eltérést, csak tendenciájában csökkentette a szaporodást. Három hónap elteltével a szennyvíz nagymértékű, szignifikáns sejtszám-csökkenést okozott (a kontroll 55 %-a), melyet a klórszulfuron 0,001- és 0,01mgkg^{-1} dózisa csökkentett (78-93 %-ra). Az 1- és 10 mgkg^{-1} koncentrációk pedig szignifikáns szaporodás gátlást idéztek elő az *Actinomyces*-eknél (34- és 24 %). Yong et al. (2006) szerint ugyanakkor a szulfonilurea típusú metszulfuron-metilnek az *Actinomyces*-ekre nem volt egyértelmű a hatása. A szer alkalmazása során a rhizoszférában általában kevésbé érzékenynek tartott *Actinomyces*-ek száma szignifikánsan csökkent. Ez is bizonyítja, hogy az *Actinomyces*-ek a szulfonilkarbamid maradvánnyal szennyezett talajokban érzékeny tényezők lehetnek.

A rövid és hosszabb ideig tartó hatásokat értékelve megállapítottuk, hogy a három-heti hatóidő inkább csökkenti a kitenyészthető csíraszámot (heterotrófokat), míg a három hónapi időszakot követően koncentrációfüggő serkentő és gátló hatások is kimutathatók. Yong et al. (2006) kísérletei szerint a szulfonilkarbamid-típusú metszulfuron-metil is gátló hatással volt rövid távon az aerob heterotróf baktériumok szaporodására. Tízéves tartamhatású kísérleteik során El Fantroussi et al. (1999) pedig a fenilurea származékok heterotróf csíraszámra gyakorolt szignifikáns csökkentő hatásáról számoltak be.

A herbicidek hatását a szennyvíz-kezelések módosíthatják a talajokban. A heterotróf mikroorganizmusok számát három hét alatt a szennyvíz-kezelés 135 %-ra növelte a kontrollhoz viszonyítva. A szennyviz-klórszulfuron kombinációk is szaporodás-serkentést okoztak, ami azonban kisebb mértékű volt, mint a szer nélküli szennyvíznél (13-109 %). Három hónapot követően is a herbicid nélküli szennyvíz hozzáadásnál mértünk erős csíraszám-növekedést (161 %). Ennek oka, hogy a kokszolói szennyvíz a laboratóriumi mérési adatok szerint magas szerves anyag tartalommal rendelkezett (elsősorban fenolt, PAH-okat, szerves nitrogénvegyületeket) ill. mikroszervezeteket is tartalmazhatott. A legkisebb 0,001 mgkg^{-1} dózis a szennyvízzel együtt alkalmazva a heterotrófok szignifikáns stimulációját okozta, mely nagyobb mértékűnek bizonyult, mint a három hetes mintavételnél (113 %). Briceno és szerzőtársai (2007) is igazolták, hogy a nagy szervesanyag-tartalmú szennyvizek, szennyvíziszapok jelentős hatással lehetnek a herbicidek adszorpciójára, mikrobiológiai hatásukra és a biológiai lebomlásukra. Az 1000-szeres és 10 000-szeres dózisok a szennyvízzel kombinálva erős, szignifikáns sejtszám-csökkenést (szaporodás mértéke a kontroll 68- és 65 %-a) idéztek elő.

A *B. cereus* var. *mycoides* baktérium szaporodása 0,001 mgkg^{-1} dózis hatására nem változott, rövid hatásban nem volt szignifikáns különbség a koncentrációk hatása között.

Hosszabb hatásban azonban a szántóföldön alkalmazott koncentrációt (0,001 $mgkg^{-1}$) meghaladó dózisok alkalmazása nagymértékű sejtszám-csökkenéssel járt. Cserháti et al. (2008) szerint a benzonitril észter herbicid egyes koncentrációi gátolták, a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumok szaporodását, de serkentő hatást is megfigyeltek. Az atrazin és metolaklór herbicid-kezelések pedig a *Bacillus* sp. teljes kipusztulásához vezettek Ayansina és Oso (2006). A klórszulfuron és szennyvízkezelés hatására a *B. cereus* var. *mycoides* baktérium a három hét után az 1 $mgkg^{-1}$ herbicid dózis alkalmazásakor szenvedett el szignifikáns gátlást (22 % a kontrollhoz képest). A szennyvíz és a klórszulfuron szennyvízzel kombinált koncentrációi nem szignifikáns sejtszám-csökkentést eredményeztek. A vegetációs időszakot modellező 3 hónapos időszakot követően a kokszolói szennyvíz a gyomirtó szer 0,001 $mgkg^{-1}$ dózisával kombinálva serkentette a *Bacillus*-ok szaporodását (64 %-os csíraszám-növekedés). A 0,01 $mgkg^{-1}$ klórszulfuron pedig a szennyvízzel együtt alkalmazva szignifikáns gátlást idézett elő, a szaporodás mértéke mindössze a kontroll 7 %-a volt. Az ennél magasabb herbicid dózisoknál már nem is volt kimutatható szaporodás.

Míg az *in vitro* kísérleteknél a klórszulfuron a tiokarbamát származékokhoz képest kisebb mértékű gátló hatást gyakorolt a vizsgált tiszta kultúrák szaporodására, addig az *in vivo* kísérletnél a klórszulfuron legkisebb (szántóföldön alkalmazott) koncentrációja is erősen csökkentette az összes heterotróf baktériumok csíraszámát és a többi vizsgált speciális mikroorganizmus csoportok számát is. Az *in vivo* kísérleteknél háromheti hatóidő után egyértelműen körvonalazódott az egyes mikroorganizmus csoportok szaporodásának gátlása, ugyanakkor a különböző koncentrációk között nem adódott szignifikáns különbség. A *B. cereus* var. *mycoides* törzsnél 0,01 $mgkg^{-1}$ koncentrációnál mindkét esetben hasonló mértékű szaporodás-stimulálást figyelhettünk meg. Míg az *in vitro* kísérletek során az egyes *Streptomyces* törzsek nem bizonyultak érzékenynek a klórszulfuron herbicidre (néhány esetben még a szaporodás stimulálását is észlelhettük), addig az *in vivo* kísérletnél az *Actinomyces*-ek nagyobb érzékenységet mutattak a gyomirtó szer iránt.

Kizárólag az *in vitro* kísérletek eredményei szerint nem lehet végleges következtetéseket levonni az egyes mikroorganizmus csoportok herbicid-érzékenységére vonatkozóan, mivel az egyes kiragadott törzsek egyedi érzékenységi mintázattal rendelkezhetnek, amit a talajban az eltérő körülmények és a számos abiotikus, biotikus hatótényező is befolyásol. A környezetvédelem szempontjából nagyon fontos, hogy a különböző herbicidek forgalomba kerülése előtt a gyártók széleskörű mikrobiológiai vizsgálatokat végezzenek, amely kiterjed a szer mikroorganizmusokra gyakorolt toxicitására és a mikrobiológiai lebomlási folyamatokra is. A különböző biológiai teszteket *in vitro* és *in vivo* is javasolt elvégezni, mielőtt egy szer forgalomba kerül, és mindenképpen szükségesnek

látszik összevetni a két módszer által kapott eredményeket. Az értekezésben szereplő eredmények arra engednek következtetni, hogy a felhasználóknak a talajba bevitt dózisokat körültekintőbben kell megállapítani, és törekedni kell azok minimalizálására, hogy a talaj mikroflórája ne, vagy a legkevésbé károsodjon. A gyomirtó szerek mértéktelen alkalmazása egyes mikroorganizmus populációknak az adott talajból való eliminációjához vezethet, amely megbonthatja a talaj biológiai egyensúlyát, detoxikáló képességét, károsíthatja a nitrogén mikrobiológiai megkötését, és más fontos, a talaj megfelelő funkcionálását jelző folyamatokat.

Az *in vitro* és *in vivo* kísérletsorozat eredményeiből összességében bizonyítást nyert, hogy a herbicidek, mint xenobiotikumok (Kecskés 1976) megváltoztatják a talajban élő mikroorganizmusok mennyiségét, mely a közösségi összetétel megváltozásához is vezet. Megbomlik a mikroorganizmusok egymás közötti egyensúlya, jelentős eltolódások következhetnek be (O'Donnell et al. 1994, 1999, Oldeman 1994, Doran et al. 2000, Tilman et al. 2002). Ezzel kárt szenvedhetnek a talaj főbb biológiai és biokémiai folyamatai is. A mikroorganizmus csoportokra jellemző eltérő mértékű érzékenységi mintázat módosítja a mikrobiológiai közösségek funkcionális csoportjainak számszerű arányait és a közöttük kialakuló együttműködési lehetőségeket is (El Fantroussi et al. 1999, Embley et al. Engelen et al. 1994, 1998 és Gorlach-Lira et al. 1997, Haney et al. 2000, valamint Pretty et al. 2000, 2003). A kedvezőtlen hatások végül hozzájárulhatnak a diverzitás és/vagy a mikrobiológiai közösségen belüli funkciók elvesztéséhez (Cambon et al. 1992, 1996, Clegg et al. 1998, 2000, Pankhurst et al. 1997).

A vizsgált gyomirtó szerek közül a klórszulfuronra, de az *in vitro* kísérletek során egyes tiokarbamát származékokra is a nitrogénkötő baktériumok érzékenynek bizonyultak, de egyes esetekben az *Actinomyces*-ek ezen belül a *Streptomyces*-ek is. Burnet és munkatársai (1991) szerint a szulfonilkarbamid herbicid tartós alkalmazása az őshonos mikroorganizmus közösségek egyensúlyának megbomlását okozta alkalikus talajokban, ahol a szer mikrobiológiai lebomlása korlátozottnak bizonyult.

Amint azt az irodalmi adatok, valamint korábbi eredményeink is jelezték, egyes mikroorganizmus-csoportok számszerű értékei, vagy a talaj–növény rendszerekben megnyilvánuló működőképességük alkalmas lehet az agrokemikáliák, vagy egyéb xenobiotikumok hatásának az ökotoxikológiai előrejelzésére (Kátai 1998, Biró és Angerer 1997, Biró 2003). A talajok biológiai állapotának vizsgálata különösen fontos a kemikáliákkal terhelt mezőgazdasági területeken (Zsuposné 2002, Zsuposné és Csubák 2005). A mikroorganizmusok között különösen a nitrogénkötő baktériumok és az *Actinomyces*-ek használhatók érzékeny indikátor szervezetekként számos herbicid, így a klórszulfuron

tartalmú mezőgazdasági alkalmazása során is (Joshi et al. 1985). Milosevic és Govedarica (2002) is megállapították, hogy a herbicidek lebontására képes mikroszervezeteket (pl. *Actinomyces*-ek) a talajban végbemenő változások bioindikátoraként lehet használni. Szerintük az *Azotobacter*-ek a számuk csökkenésével jelezhetik az adott herbicid jelenlétét, ezért indikátorai lehetnek a talaj biológiai állapotának.

A talajok mikrobiológiai aktivitásában ezen túlmenően számos mikroorganizmus csoport tevékenysége megnyilvánul. A fenntartható mezőgazdasági szemléletnek megfelelően általában a növény–talaj rendszerekben tevékenykedő, a növénytermesztés és a talajtermékenység szempontjából is „hasznos" mikroszervezeteket kísérjük különös figyelemmel (Biró 2003). Ezek közül az egyszerű eszközökkel kitenyészthető mikroorganizmusok mennyiségi értékelése a leginkább kivitelezhető. A talajokban a biológiai N_2-kötésre képes baktériumok, a szerves anyagok lebontásában közreműködő *Actinomyces*-ek, *Streptomyces*-ek és fonalas gombák, vagy a spóraképzésük miatt a környezeti stressz-körülményeket túlélni képes (ún. „l" strategista) *Bacillus* genus tagjai funkcionális jelentőségűek. Ezeknek a csoportoknak a kitenyészthető módszerrel történő mennyiségi számbavétele alapján következtetéseket vonhatunk le a talaj állapotáról még akkor is, ha irodalmi adatok szerint ez a frakció az összes mikrobiológiai közösségnek csak 1–2 %-os mennyiségeként jelenik meg a kitenyésztések során. Ezek mellett a talajbióta nem kitenyészthető, de életképes (ún. „VBNC") frakciójának a számbavétele (Márialigeti 2003), a közösségi válaszreakciók biológiai indikációban való alkalmazásai (Szili-Kovács et al. 1997), és a PCR-alapú tesztelő eljárások is terjedőben vannak (Ködöböcz et al. 2005).

Az értekezésben a mikroszervezetek között megállapított eltérő mértékű érzékenységi mintázat a talajokban a mikrobiológiai közösségek funkcionális csoportjainak a számszerű arányait, de a közöttük kialakuló együttműködési lehetőségeket is módosíthatja. Ezeket az együttes környezeti hatásokat is célszerű figyelembe venni a xenobiotikumok és a mezőgazdasági, ipari hulladék-anyagok alkalmazásánál. Ezt támasztják alá Pampulha et al. (2008) mikrokozmosz kísérletei is, amikor megállapították, hogy az általuk alkalmazott herbicid a negyven napot meghaladó inkubációs idő alatt a koncentrációtól függően stimuláló és gátló hatást gyakorolt a talajban élő mikroorganizmusokra és aktivitásukra. Arra hívják fel a figyelmet, hogy herbicidek által okozott toxicitás a mikroorganizmus közösség megváltozásához vezethet, mely során a funkcionális diverzitás szignifikánsan sérülhet. Seghers et al. (2003) az atrazin és metolaklór herbicidek 20 éves tartamhatásának vizsgálatakor szintén a mikroorganizmusok közösségi változására hívták fel a figyelmet. Hasonló eredményekhez jutottak El Fantroussi et al. (1999), amikor a diuron, linuron, klórtoluron gyomirtó szerek 10 éves tartamhatásainak vizsgálatakor megállapították, hogy a

szerek a mikroorganizmus-közösség szerkezetében is szignifikánsan változást okoznak. A mikroorganizmusok diverzitása ugyanis csökkent a fenilurea herbicidek alkalmazásakor. Whitelaw-Weckert et al. (2004) pedig arról számoltak be, hogy a glifosat, diquat, paraquat és a carfentrazon-etil herbicidek is a mikroorganizmus-közösségek megváltozását okozták. A szerek ismételt alkalmazása ugyanis a cellulózbontó baktériumok, a *Pseudomonas* spp. és a mikroszkopikus gombák számának a csökkenéséhez vezetett. Martinez-Toledo et al. (1996) ugyanakkor a simazin különböző dózisainak használatakor nem tapasztaltak változásokat a baktérium-populációban, a gombák, aerob nitrogénkötő és denitrifikáló baktériumok számában, valamint a nitrogenáz aktivitásban. A talajokban a mikroorganizmusok diverzitása, faji gazdagsága és megfelelő működése nagyon fontos kérdés, ezért bármilyen ezt zavaró tényezőkre, pl. a gyomirtó szerek hatására is tekintettel kell lenni (Posta és Sasvári 2008).

A kísérleteink eredményeképpen arra a következtetésre jutottunk, hogy az általunk vizsgált klórszulfuront vegetációs idő eltelte után (3 hónap alatt) egyes mikroorganizmus csoportok, így az *Actinomyces*-ek és egyes esetekben a nitrogénkötők és a heterotrófok is képesek lehettek hasznosítani az adott talajban, amit a kimutatható sejtszám-gyarapodás jelzett. Feltételezzük, hogy az ilyen degradatív képességű mikroorganizmusokkal a talajok klórszulfuron terhelése a talajbiológiailag kevésbé aktív körülmények között is irányítottan csökkenthető. Ezen kívül a három hónapos inkubáció alatt a klórszulfuron kezdeti dózisai mintegy 40 %-kal csökkentek a degradáció következményeként.

Több tanulmányban is jelezték a mezőgazdasági kemikáliáknak a hasznos mikroszervezetekre, így például a szimbionta nitrogénkötő *Rhizobium*-okra, „növénynövekedést-serkentő” *Pseudomonas*-okra kifejtett káros, vagy dózisfüggően akár serkentő hatásait is (Biró és Kecskés 1984, Bayoumi et al. 1988, 1995, 1999, Biró et al. 1993, Köves-Péchy et al. 1996). Az értekezésben vizsgált mikroorganizmus csoportok/egyedi fajok, törzsek környezeti stressztényezőkkel, így a klórszulfuron herbiciddel és a tiokarbamát származékokkal szembeni érzékenysége különbözőképpen nyilvánult meg, a korábbi adatokhoz hasonlóan (Jevcsák et al. 2000). Az érzékenység mikroorganizmus csoportra jellemző tulajdonságai mellett az egyazon csoporton belül a törzsek közötti különbségek is igazolódtak, amit a kétféle *Rhizobium* érzékenyebb, vagy kevésbé érzékeny viselkedése igazolt az *in vitro* teszt során. A nitrogénkötő baktériumoknál a talajinkubációs kísérletben még markánsabb, koncentrációfüggő sejtszám-csökkenést mutattunk ki. Míg a folyékony táptalajban ez fokozatosan jött létre, addig a kísérleti talaj bizonyos koncentrációk károsító hatását pufferolni tudta és csak az extrém nagy dózisnál csökkent le a sejtszám hirtelen. A tanulmányozott mikroorganizmus csoportok közül az *Actinomyces*-ek és a spórások mennyiségi értékeit a klórszulfuron gyakorlati adagjai általában nem befolyásolták, illetve

enyhe stimuláló hatást is ki tudtunk mutatni. A kis koncentrációban történő alkalmazásnál a kedvező, szaporodás-serkentő hatást a talajok tápanyag-szegény körülményeivel magyarázhatjuk, aminek eredményeképpen a talaj-mikroorganizmusok az „életidegen" kemikáliákat képesek akár szén- és nitrogénforrásként is hasznosítani (Jozepovits et al. 1980). Hasonló eredményt mutattak ki Sawicka és Selwet (1998) is a linuron herbiciddel kapcsolatban az összcsíraszám vonatkozásában.

A mikroorganizmusok stressztűrő képességének vizsgálatakor fontos kérdés, hogy egyes mikroszervezeteknél mennyi idő alatt alakul ki a peszticidekhez való adaptáció. Ennek megállapítására tartamhatású kísérletek szükségesek. A kísérletek eredményei arra is felhívják a figyelmet, hogy a különböző herbicidek alkalmazásakor körültekintőbben kell megállapítani az alkalmazandó dózisokat. Szükséges figyelembe venni a környezetvédelmi szempontokat. Mielőtt egy adott növényvédő szer forgalomba kerül részletes mikrobiológiai vizsgálatokat ajánlatos folytatni annak érdekében, hogy elkerüljük a hasznos mikroorganizmusok számának csökkenését és/vagy kipusztulását az adott talajban. További vizsgálatokat ajánlott folytatni annak érdekében, hogy találjunk olyan mikroszervezeteket, amelyek képesek lebontani és metabolizálni az adott herbicideket, ha annak célzott hatására már nincs szükség. Erre a tényre hívta fel a figyelmet Jozepovits et al. 1980, amikor a *Coronilla Rhizobium*-okkal oltott tarka koronafürt kultúrák vetését javasolja az aziprotrin herbiciddel kezelt káposztafélék után.

A következőkben szükséges folytatni a herbicidek mikroorganizmusokra gyakorolt hatásának tanulmányozását. A továbbiakban meg szeretném vizsgálni a klórszulfuron és a különböző ipari szennyezőanyagok/hulladék anyagok, ipari szennyvizek/szennyvíziszapok tartamhatását is, valamint a talajban élő gombákra való hatásokat is. Szükségszerű olyan mikroorganizmusok izolálása, amelyek képesek metabolizálni a klórszulfuront és más herbicideket, valamint a toxikus ipari szennyező- és hulladék anyagokat. Szükségesnek látszik továbbá olyan kísérletek lefolytatása is, amellyel a valamely gyomirtó szerrel toleráns, vagy lebontó-képességgel rendelkező törzseknek az *in situ* növény- vagy talajoltási kísérletekben való alkalmazhatóságait teszteljük különböző talajokban, különböző növénytermesztési körülmények között. Ezen kérdéseknek a tanulmányozása meghaladja az értekezés kereteit, de további lehetőségekre világít rá.

6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

A talaj-növény rendszerben előforduló különböző mikroorganizmus csoportokhoz tartozó baktériumok herbicid érzékenységét (a herbicidek szaporodásra gyakorolt hatását) vizsgáltuk laboratóriumi *in vitro,* és talajinkubációs mikrokozmosz modell-kísérletekben *in vivo*. Az „újgenerációs" klórszulfuron növekvő koncentrációi mellett további, régi típusú herbicideket a tiokarbamát származékokat is bevontunk vizsgálatainkba. Az inkubációs kísérletet kokszolói szennyvíz-adagokkal kombináltuk a nagy szervesanyag-tartalmú, de toxikus vegyületeket is tartalmazó anyaggal való kölcsönhatások tanulmányozása céljából. A vizsgálatok kivitelezésénél a rövid hatások értékelése mellett a vegetációs időszakra vonatkozó hatóidőt is figyelembe vettük.

A) Az *in vitro* vizsgálatok eredményei:

1.) Az „újgenerációs" klórszulfuron gyakorlati dózisa (0,001 mgL^{-1}) és az annál 10-szer, 100-szor nagyobb mennyiségek (de két *Pseudomonas*, 1 *Actinomyces* és 1 *Bacillus* törzsnél az 1000-szeres dózis is) szignifikánsan stimulálják a mikroorganizmusok szaporodását. A régi típusú tiokarbamát herbicidek nagyobb gyakorlati dózisai és eltérő kémiai szerkezete miatt a szaporodás stimulációja nem jellemző. A tiokarbamátok 5-féle típusa között a legkárosabb hatást a gyűrűs vegyületet is tartalmazó cikloát fejtette ki.

2.) Az 5 vizsgált mikroorganizmus-csoportot képviselő 17 törzs egyedi szaporodásbeli érzékenységet mutat a klórszulfuron és a tiokarbamátok növekvő mennyiségeivel szemben. Összesített hatásban a leginkább érzékenynek a nitrogén-kötők, a legkevésbé pedig az irodalmi adatokból ismert herbicid-bontó *Pseudomonas* fajok és a *Streptomyces* genus képviselői bizonyultak.

3.) Az egyes *in vitro* módszerek a herbicid-érzékenységi eredményeket nem befolyásolják, de a biomassza-meghatározással a sejtaggregációt okozó nagyobb herbicid-dózisok is vizsgálhatók.

B) Az *in vivo* vizsgálatok eredményei:

1.) A talajinkubációs kísérletben a kitenyészthető csíraszámok alakulását a hatóidő befolyásolja. Rövid hatásban a klórszulfuron minden dózisa, a gyakorlati adag is szignifikáns csíraszám-csökkentő hatású. A vegetációs időszakot követően a gyakorlati adag sejtszám-stimuláló hatása mutatható ki az *in vitro* eredményekhez hasonlóan. Az irodalmi adatokkal való összevetést követően ezt a mikroorganizmusok szerhez történő adaptációja mellett a herbicidek degradációja is befolyásolja.

2.) A klórszulfuron és az ipari szennyvízzel való kombinációk megváltoztatják a gyomirtó szer egyedi alkalmazásának eredményeit. A herbicidek szaporodás-gátló hatása az ipari szennyvízzel való kombinációknál lényegesen kisebb különösen a rövid távú tesztek adatai alapján.

3.) A klórszulfuron vizsgált koncentrációira és az ipari szennyvízre is a nitrogén-kötő baktériumok bizonyultak a legérzékenyebbnek az *in vitro* tesztekhez hasonlóan. A spórások csíraszámát a herbicid-szennyvíz kombinációk csökkentették igen erősen, azok teljes eliminációját is okozva. Az *Actinomyces*-ek kiemelkedő adaptációs tulajdonságát, illetve metabolizáló képességét jelzi az erős csíraszám-serkentő hatás a szántóföldi dózis 1000-szereséig is. Az eltérő érzékenységi mintázatok a talajok mikroorganizmus-közösségeinél a mennyiségi és minőségi összetétel és ezáltal a talajfunkciók módosulásához vezethetnek el.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A herbicidek túlzott alkalmazása nemcsak költséges, de a mikroorganizmusok számában változásokat okozhat, serkentheti, vagy gátolhatja a szaporodást és aktivitást, továbbá változást idézhet elő a mikroorganizmus közösségek összetételében. Ezek a változások a faji diverzitás csökkenéséhez és/vagy a mikrobiológiai funkciók elvesztéséhez vezethetnek**.** A fenntartható mezőgazdasági szemlélet szerint a gyomirtó szerekkel kezelt talajokban a mikrobiológiai folyamatok megismerése és az ismeretek gyakorlati alkalmazása létfontosságú.

Mikrofermentoros *in vitro* kísérletekben elemeztük különböző fajokhoz, fajcsoportokhoz tartozó mikroorganizmus törzsek klórszulfuron-érzékenységét. A törzseket a klórszulfuron megfelelő dózisait (0,001; 0,01; 0,1; 1; 10 mgL^{-1}) is tartalmazó szelektív folyékony tápoldatokban (nutrient leves, arginin-glicerin tápoldat, élesztő-mannit leves) tenyésztettük. Az inkubációt követően a fotometrálás során kapott optikai denzitás értékeket a kontroll kultúra %-ához viszonyítva számítva adtuk meg a szaporodás mértékét. Az eredményeket varianciaanalízissel értékeltük ki, majd a szignifikancia értékek megjelölésével ábrázoltuk. Összehasonlítás céljából az *in vitro* kísérleteket tiokarbamát származék herbicidekkel is elvégeztük szintén a tiokarbamátok szántóföldön alkalmazott dózisait alapul véve. A mikrofermentoros módszer ellenőrzésére és összehasonlításként néhány esetben szilárd tápagaron a hagyományos telepszámlálásos módszert is alkalmaztuk. A *Streptomyces griseus* törzsnél a mikrofermentoros szárazanyag-tartalmat is meghatároztuk.

Talajinkubációs modellkísérletben a klórszulfuron gyakorlatban alkalmazott dózisának (20 gha^{-1}) hatását tanulmányoztuk mészlepedékes csernozjom talaj mikrobiológiai közösségeire. A 0,001 $mgkg^{-1}$ talaj dózis mellett annak 10-szeres, 1000-szeres és 10000-szeres (0,01-, 1- és 10 $mgkg^{-1}$) mennyiségeit is alkalmaztuk. A szántóföldi vízkapacitás 60 %-os értékénél, 28 ^{o}C hőmérsékleten háromheti és a vegetációs időszakot modellezve háromhavi inkubációs periódust vizsgáltunk három ismétlésben. A szabadon élő nitrogénkötők, az *Actinomyces*-ek és a spóraképző *Bacillus cereus* var. *mycoides* kitenyésztésére került sor Arginin-glicerin, Kongóvörös-Ashby és Nutrient agar-lemezeken. A talajokból a csíraszámokat az általunk módosított eljárással talajhígítási sorozatból állapítottuk meg, és a telepképző egységek számát 1 g száraz talajra számítottuk át. Az átlagadatok log_{10}-transzformált adatait ábrázoltuk, ahol a varianciaanalízis eredményeként jelentkező szignifikáns ($P_{5\%}$) értékeket is jelöltük.

A kísérletek során megállapítottuk, hogy a vizsgált mikroszervezetek közül a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* Ló-73/3. *és a Sinorhizobium meliloti* Lu-K jelű törzsek

érzékenyen, koncentrációfüggő módon reagáltak a klórszulfuronra. Legérzékenyebbnek a növényi patogén baktérium a *Xanthomonas campestris* bizonyult. A *Streptomyces griseus* törzsnél ugyanakkor erős szaporodás-serkentést figyelhettünk meg a herbicid szántóföldi és 10-szeres dózisánál. A *Streptomyces griseolus* szaporodása minden egyes alkalmazott herbicid dózisnál szignifikánsan megnövekedett. Ez a törzs irodalmi adatok szerint képes a klórszulfuron bontására. A gyomirtó szer bizonyos dózisai serkentették a *S. griseus*, de a *Bacillus mycoides* szaporodását is. A „régi típusú" és nagyobb gyakorlati dózisban alkalmazott tiokarbamát származékok toxikusabb hatást gyakoroltak a tesztelt mikroorganizmusokra, mint a klórszulfuron.

A talajinkubációs kísérlettel bizonyítást nyert, hogy az alkalmazott „új generációs" herbicid mezőgazdasági gyakorlatnál nagyobb koncentrációi szignifikánsan csökkentik a heterotróf mikroorganizmusok számát. A szabadon élő nitrogénkötő baktériumok a leginkább érzékeny mikroorganizmus csoportot képviselik. A klórszulfuron bizonyos dózisaira az *Actinomyces*-ek is érzékenynek bizonyultak, a gyakorlati, valamint a 0,01 $mgkg^{-1}$ adag ugyanakkor számos baktérium csoportnál stimuláló hatásúnak bizonyult. A vegetációs időszakra vonatkozó 3 hónapi hatóidő után a kontroll és a gyakorlati adag között a kitenyészthető csíraszámokban nem volt statisztikailag igazolható eltérés. Az irodalmi adatokkal összevetve feltételezzük, hogy a szántóföldön alkalmazott dózist a mikroszervezetek szén- és nitrogénforrásként tudták hasznosítani.

Az *in vitro* és *in vivo* eredményekből bebizonyosodott, hogy a herbicidek megváltoztatják a talajban élő mikroorganizmusok számát, mely a mikroorganizmus közösség mintázatának megváltozásához vezet. Ezzel megbomlik a mikroszervezetek egymás közötti egyensúlya, jelentős eltolódások következnek be, kárt szenvedhetnek a talaj fő biológiai és biokémiai folyamatai is. A vizsgált gyomirtó szerek káros hatást gyakoroltak a nitrogénkötő baktériumokra és egyes esetekben az *Actinomyces*-ekre is. A klórszulfuron stimulálta a *S. griseolus* és a *Pseudomonas fluorescens* szaporodását. Ezeknél a mikroorganizmusoknál az irodalomból megállapítható, hogy képesek lebontani a klórszulfuront. Az eredmények a mikroorganizmus csoportok és a herbicidek, valamint a környezet közötti kölcsönhatások további rövid- és tartamhatású kutatását indokolják a herbicidek engedélyezése során is.

8. ABSTRACT

HERBICIDE-SENSITIVITY OF SOME MICROORGANISMS ON THE BASIS OF THE CHLORSULFURON

The *in vitro* chlorsulfuron and some thiocarbamate herbicides tolerance of various soil microbes was examined in a rotary shaker, where different rates of chlorsulfuron (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 mgL^{-1}) and thiocarbamates (50, 100, 250, 500, 1000 mgL^{-1}) were mixed into selective substrates (nutrient, yeast-mannite and arginine-glycerine broth). After a 24–48-hours of incubation period, the optical density (OD 560 nm) of the suspensions was examined and growth was compared as a % of the unamended controls. The dry matter content of *Streptomyces griseus* also was examined with and without herbicides. The counting plate method was used as a control. The results were evaluated by analysis of variance and the significant differences were shown beside the mean values.

A soil incubation model experiment was set up to study the effect of recommended rates (10-20 gha^{-1}) one of a new generation of herbicides chlorsulfuron, on microbial communities in a pseudomyceliar chernozem soil. Apart from the recommended rate (equivalent to 0.001 $mgkg^{-1}$ soil), ten, a thousand and ten thousand times this rate (0.01, 1 and 10 $mgkg^{-1}$) were also tested. Incubation periods of 3 weeks and 3 months at 28°C and 60 % field moisture capacity were tested in three replications. The applied combination of these herbicides was developed by the permanent watering of the pots also with an industrial wastewater, up till the 60% water-capacity level and incubated. Free-living nitrogen fixers, *Actinomycetes*, spore-forming *Bacillus cereus* var. *mycoides* and heterotrophs were incubated on arginine-glycerine, Congo-red Ashby and nutrient agar plates, respectively. The number of soil microbes was determined from a soil dilution series using a modification of the standard technique and the number of colony-forming units was converted to 1 g dry soil. The log10-transformed mean data were plotted, indicating the least significant differences (at the 5 % level).

Among the symbiotic nitrogen-fixing-microorganisms tested, the *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* strain Lo-73/3 and the *Sinorhizobium meliloti* strain Lu-K proved to be the most sensitive *in vitro* on chlorsulfuron, and growth was retarded in parallel with the increasing doses of this herbicide. The lowest rates of chlorsulfuron significantly stimulated the growth of *Streptomyces griseus*. The growth of *S. griseolus, Pseudomonas alcaligenes* and *P. fluorescens* were significantly stimulated by the chlorsulfuron. The *S. griseolus* has been reported to have a chlorsulfuron decomposition ability. Certain rates of the herbicide

also stimulated the multiplication of *B. cereus* var. *mycoides.* The *Xanthomonas campestris* proved to be the most sensitive microorganism on every type of herbicides. Thiocarbamates had more harmful effect on microbes than chlorsulfuron. The *X. campestris, B. subtilis, B. mycoides, S. griseus, S. griseolus, Micrococcus luteus, Sinorhizobium meliloti* Lu-K, *Escherichia coli, Agrobacterium tumefaciens, Erwinia carotovora, P. fluorescens* and *P. alcaligenes* were found to be the most sensitive on thiocarbamate herbicides.

The soil incubation experiment have proved that chlorsulfuron concentrations higher than the practical rates has resulted significant reduction in the abundance of heterotrophe microorganisms. Free-living nitrogen fixers was found to be the most sensitive microbes and *Actinomycetes* also had poor tolerance of some rates. Nevertheless, the field rate of 0.01 $mg \cdot kg^{-1}$ had a stimulating effect on several types of microbes. There was no significant difference between the control and the recommended rates in the colony-forming units after the 3 months of incubation, equivalent with the length of the vegetation period. It is assumed that the microbes are able to utilize the field rates of chlorsulfuron as carbon and nitrogen sources.

There was an especially variable sensitivity found at the investigated countable microbial groups, as a function of the applied doses of the herbicide and the wastewater combinations. Among the microbes the free-living nitrogen-fixers proved to be the most sensitive, which supports the earlier findings at other environmental stress situations, such as the salinic and sodic soils. In case of the herbicide-waste-water combined applications a modified effect could be realised over the single herbicide doses. Due to the cyanide-content of the used wastewater, there were a reduced microbial counts realised, especially at the most higher herbicide combinations. In case of the 0,01 $mg.kg^{-1}$ chlorsulfuron doses, however the stimulation of the actinomyces and the *Bacillus cereus* var. *mycoides* counts could be also detected.

Due to the different sensitivities of the various microbial groups *in vitro* and *in vivo*, the microbial composition structure in the chlorsulfuron-amended soil may be shifted by the regular use in the agriculture. The consideration of such microbial shifts, when designing the application of the different xenobiotics in the agriculture is being highlighted in the study.

Further long-term research activities are recommended on studying the interactions between microbes, herbicides and the environment.

9. IRODALOMJEGYZÉK

ALLIEVI, L., GIGLIOTTI, C. (2001): Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonylurea herbicide cinosulfuron. *J. Environ. Sci. Health*, 36 (2): 161-175.

ALLIEVI, L., VALSECCHI, G., GIGLIOTTI, C., SALARDI, C., BRUSA, T., FARINI, A., FERRARI, A. (1994): Microbial ecotoxicity of bensulfuron-methyl. *Int. Conf. Modern Agric. Environm.,* 2-6/10: 100.

ALLISON, D.A. (1980): DRX 4189 Technical information Du Pont de nemours. 1-9.

ANDERSON, R.L. (1886): Metribuzin and chlorsulfuron effect on grain of treasted winter wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Sci*., 34(5): 734-737.

ANDERSON, R.L. (1987): Broadleaf weeds control in saftlower (*Carthamus tinctorius*) with sulfonilurea herbicides. *Weed Technol.*, 1(3): 242-246.

ANDERSON, J.J., PRIESTER T.M., SHALABY L.M. (1989): Metabolism of metsulfuron methyl in wheat and barley. *J. Agric. Food Chem.*, 37: 1429-1434.

ANDERSON, A., BALDOCK, J.A., ROGERS, S.L., BELLOTTI, W., GILL, G. (2004): Influence of chlorsulfuron on rhizobial growth, nodule formation, and nitrogen fixation with chickpea *Australian J. of Agricult. Res.,* 55(10): 1059–1070.

ANGERER, I.P., BIRÓ, B., KÖVES-PÉCHY, K. (1998): Indicator microbes of chlorsulfuron addition detected by a simplified soil dilution method. *Agrokémia és Talajtan,* 47: 297–305.

ANGERER, I.P., KÖDÖBÖCZ, L., BIRÓ, B. (2004): Mikrobacsoportok herbicid-szennyvíz kombinációkkal szembeni érzékenységének vizsgálata modellkísérletben, *Agrokémia és Talajtan,* 53: 331-343.

ANGERER, I.P., RAUSCH, P., BIRÓ, B. (2006): Specificity of microbial sensitivities to chlorsulfuron *in vitro* and in soil-incubation experiment. *Acta Microbiol. Immunol. Hung,,* 53: 239–240.

ANGERER, I.P., BIRÓ, B. (2007): Dose- and time–dependent abundance of some soil-microbes at Chlorsulfuron herbicide application, *Cer. Res. Commun.,* 35 (2): 181-184.

ANGERER, I.P., KÖVES-PÉCHY K., KECSKÉS M., BIRÓ B. (2007): Néhány mikrobacsoport klórszulfuron herbicid-érzékenysége laboratóriumi és talajinkubációs kísérletekben, *Agrokémia és Talajtan,* 56: 147-160.

ASHLEY O'SULLIVAN, P., KEN J. KIRKLAND (1984): Chlorsulfuron reduced control of wild oat (*Avena fatua*) with diclofop, difenzoquat, and flamprop. *Weed Sci.* 32: 285-289.

ASHTON, F.M. (1963): Effect of EPTC on photosynthesis, respiration and oxidative phosphorilatoin. *Weeds* 11: 295-297.

AHTIAINEN, J.H., VANHALA P., MYLLYMÄKI A. (2003): Effects of different plant protection programs on soil microbes. *Ecotoxicol. Environm. Safety*, 54: 56-64.

AYANSINA A.D.V., OSO, B.A. (2006): Effect of two commonly used herbicides on soil microflora at two different concentrations. *African J. of Biotech.,* 5 (2): 129-132.

BADON, R., BASTIDE, J., SABADIE, J. (1990): Reactivite de l'herbicide metsulfuron methyle, synthese des produits de degradation. *Chemosphere,* 21: 289-294.

BALICKA, N., KOSINKIEWICH, B., WEGRAZYN, T. (1984): Effect of *Pseudomonas aureofaciens* 37 metabolites on the activity of Roneet. In. Proc. Les Collogues de INRA, 31: 45-50.

BALKOVA, E.N., SZEMIKATOVA O.A. (1969): Vlijanyije gerbicida EPTC na mikrofloru pocsvi v szaharnoj szvjokle. *zsurnal Himija szelckohozjajsztvennaja,* 7: 846-849.

BAYOUMI, H.E.A.F., NAGY T., KECSKÉS M. (1988): Antibiotic sensivity of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* strains. *Acta Microbiol. Hung*., 35. pp. 158.

BAYOUMI, H.E.A.F., TÍMÁRI, S., KECSKÉS M. (1988): Side-effect of different pesticides on *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* strains. *Acta Microbiol. Hung*., 35: 161-162.

BAYOUMI, H.E.A.F., KECSKÉS M. (1992): Xenobiotic effects on the grouth and nodulation potential of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viceae* with *Vicia faba*. Proc. Int. 10th Humus et Planta. Prague Czechoslovakia pp. 92.

BAYOUMI H.E.A.F., BIRÓ, B., KECSKÉS, M. (1995): Some environmental factors influencing the survival of *Rhizobium leguminosarum* bv. viceae. *Acta Biol. Hung.,* 46: 17-30.

BAYOUMI H.E.A.F., ABDORHIM, H., KHALIF, A., GODWAR, H., KÖDÖBÖCZ, L., JEVCSÁK, I., BIRÓ, B., KECSKÉS, M. (1999): Soil physical factors affecting the survival of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* populations *in vivo. Sci. Bull.(Baia Mare)* C/13: 18-28.

BERGER, B.M., WOLFE, N.L. (1996): Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueos buffers and anaerobic water-sediment systems-assessing fate pathways using molecular descriptors. *Environm. Toxicol. and Chem.*, 15: 1500-1507.

BERGER, B.M., JANOWITZ, K., MENNE, H.J., HOPPE, H.H. (1998): Comparative study on microbial and chemical transformation of eleven sulfonylurea herbicides in soil. *J. Plant Dis. Prot.,* 105: 611-623.

BERGER, B.M., MULLER, M., EING, A. (2002): Quantitative structure-transformation relationships of sulfonylurea herbicides. *Pestic. Manag. Sci.,* 58: 724-735.

BIRÓ, B., KECSKÉS M. (1984): Herbicide sensitivity of *Coronilla Rhizobium* and *Pseudomonas Rhizobacterium* strains. *Acta Microbiol. Acad. Sci. Hung.* 31: 302–303.

BIRÓ, B. (1988): *Coronilla Rhizobium*-ok és *Pseudomonas* rhizobaktériumok közötti kölcsönhatások. Kandidátusi értekezés tézisei. Gödöllői Agrártudományi Egyetem

BIRÓ, B. KÖVES-PÉCHY, K., SZILI KOVÁCS, T., SZEGI, J. (1993): *Coronilla Rhizobium* törzsek fungicidérzékenysége. *Agrokémia és Talajtan*, 32: 592-597.

BIRÓ, B., BAYOUMI, H.E.A.F., BALÁZSY, S. (1995): Metal sensitivity of some symbiotic N_2-fixing bacteria and *Pseudomonas Rhizobacterium* strains. *Acta Biol. Hung.,* 46: 9–17.

BIRÓ, B., ANGERER, I.P. (1997): Módosított talajhígításos, szelektív kitenyésztés környezetvédelmi szempontú állapotfelmérésre. In Proc. IX. Országos Környezetvédelmi Konferencia, Siófok. (Szerk.: Elek Gy. & Vécsi B.) p. 287–293.

BIRÓ, B. (2003): Talaj- és rhizobiológiai eszközökkel a fenntartható növénytermesztés és a környezetminőség szolgálatában. *Acta Agron. Hung.,* 50. p. 77–95.

BLACKLOW, W.M., PHELOUNG, P.C. (1992): Sulfonylurea herbicides applied to acidic sandy soils: movement, persistence and activity within the growing season. Aust. *J. Agric. Res.,* 43: 1157-1167.

BLAIR, A.M., MARTIN, T.D. (1988): A review of the activity, fate and mode of action of sulfonylurea herbicides. *Pestic. Sci.*, 22: p. 195-219.

BODDINGTON, C.L., DODD, J.C. (2000) The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian Ultisol. *Plant Soil,* 218: 137-144.

BOLDT, T.S., JACOBSEN, C.S. (1998): Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron methyl on fluorescent pseudomonads isolated from an agricultural soil. *FEMS Microbiol. Letters,*. 161: 29–32.

BOLLAG, J.M. (1974): Microbial transformation of Pesticides. *Adr. Appl. Microbiol.* 18: 75-130.

BOND, J.A., STEPHENSON, D.O., BARNES, J.W., BARARPOUR, M.T., LAWRENCE, R.O. (2005): Diclofop-resistant Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) control in imidazolinone-tolerant wheat. *Weed Technology* 19(2): 437-442.

BOSCHIN, G., D'AGOSTINA, A., ARNOLDI, A. (2003): Biodegradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by *Aspergillus niger* in laboratory conditions. *J. Envir. Sci., Health, Part B: Pest., Food Contamin. Agricult. Wastes.* 38: 737–746.

BRAATZ, J.A., BASS, M.B., ORNSTEIN, R.L. (1994): An evaluation of molecular models of the cytochrome P450 Streptomyces griseolus enzymes P450SU1 and P450SU2. *J. Comput Aided Mol Des*. 8 (5): 607-622.

BRASCHI, I., CALAMAI, L., CREMONINI, M.A., FUSI, P., GESSA, C., PANTANI, O., PUSINO, A. (1997): Kinetics and hydrolysis mechanism of triasulfuron. *J. Agric. Food Chem*., 45: 4495-4499.

BRASCHI, I., PUSINO, A., GESSA, C., BOLLAG, J.M. (2000): Degradation of primisulfuron by a combination of chemical and microbiological processes. *J. Agric. Food. Chem.,* 48: 2565-2571.

BRAY, L.D., HEARD, N.E., OVERMAN, M.C., VARGO, J.D., KING, D.L., LAWRENCE, L.J., PHELPS, A.W. (1997): Hydrolysis of prosulfuron at pH 5: evidence for a resonance-stabilized triazine cleavage product. *Pestic. Sci.,* 51: 56-64.

BREAZEALE, F.W., CAMPER, N.D. (1970): Bacterial, fungal, and actinomycete populations in soils receiving repeated applications of 2,4- dichlorophenoxyacetic acid and trifluralin. *Applied Microbiol.,* 19 (2): 379- 380.

BRICENO, G., PALMA, G., DURAN, N. (2007): Influence of organic amendment on the biodegradation and movement of pesticides. *Critical Reviews in Environm. Sci. Technol.* 37 (3): 233-271.

BROMILOW, R.H., EVANS, A.A., NICHOLLS, P.H., A.D. TODD, A.D., BRIGGS, G.G. (1996): The effect on soil fertility of repeated applications of pesticides over 20 years. *Pestic. Sci.,* 48: 63-72.

BROWN, H.M. (1990): Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pestic. Sci.,* 29: 263-281.

BROWN, H.M., JOSHI, M.M., VAN, A.T., CARSKI, T.H., DULKA, J.J., CRAIG, PATRICK M., REISER, R. W., LIVINGSTON, R.S., DOUGHTY, J. (1997): Degradation of thifensulfuron methyl in soil: role of microbial carboxyesterase activity. *J. Agric. Food Chem.,* 45: 955-961.

BRUSA, T., DEL PUPPO, E. (1995): Microbial degradation of the sulfonylurea herbicides: current knowledge. *Ann. Microbiol. Enzimol.,* 45: 321-330.

BRUSA, T., FERRARI F. (1997): Bensulfuron-methyl: mixed culture microbial degradation maintenance. *Microbiol. Res.,* 152: 137-141.

BUCKLEY, D.H., SCHMIDT, T. M. (2003): Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ. Microbiol.,* 5: p. 441-452.

BURNET, M., HODGSON, B. (1991): Differential effects of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and sulfometuron-methyl on microbes. *Arch. Microbiol.*, 155 : 521–525.

CAMBON, J.P., BASTIDE, J. (1992): Degradation chimique ou microbiologique des sulfonylurees dans le sol. III. Cas du thifensulfuron methyle. *Weed Res.,* 32: 357-362.

CAMBON, J.P., BASTIDE, J. (1996): Hydrolysis kinetics of thifensulfuron methyl in aqueous buffer solutions. *J. Agric. Food Chem.,* 44: 333-337.

CAMPBELL, C.A., AND ZENTNER, R.P. (1993): Soil organic matter as influenced by crop rotations and fertilization. *Soil Sci. Soc. Am. J.,* 57: 1034-1040.

CARRASCO, J.M., SABATER, C. (1997): Toxicity of atrazine and chlorsulfuron to algae. *Toxicol. Environm. Chem.* ,59: 89-99.

CHAUDRI, A., MCGRATH, S.P., GILLER, K.E. (1992): Metal tolerance of isolates of *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* from soil contaminated by past applications of sevage sludge. *Soil Biol. Biochem.* 24: 83-88.

CHIELLINI, E, CORTI, A., SALVATORE, D'ANTONE, S., BILLINGHAM, N.C. (2007): Microbial biomass yield and turnover in soil biodegradation tests: carbon substrate effects. *J. of Polimers and Environm.,* 15 (3): 169-178.

CHLORSULFURON (2008): Re-evaluation decision, published by the Health Canada Pest Management Regulatory Agency, 15: pp. 15.

CHRISTOPHER, J.T, POWLES, S.B., LILJEGREN, D.R., HOLTUM, A.M. (1991): Cross-resistance to

herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) II. chlorsulfuron resistance involves a wheat-like detoxification system. *Plant Physiol.,* 95:1036-1043.

CLEGG, C.D., RITZ, K., GRIFFITHS, B.S. (1998): Broad-scale analysis of soil microbial community DNA from upland grasslands. *Antonie Leeuwenhoek* 73: 9-14.

CLEGG, C. D., RITZ, K., GRIFFITHS, B.S. (2000): %G+C profiling and cross hybridisation of microbial DNA reveals great variation in below-ground community structure in UK upland grasslands. *Appl. Soil Ecol.* 14: 125-134.

COPPOLA, S., DUMONTET, S., PONTONIO, M., BASILE, G., MARINO, P. (1988): Effect of cadmium-bearing sewage sludge on crop plants and microorganisms in two different soils. Agriculture, *Ecosyst. & Environm.* 20 (3): 181-194.

COWLES, J.R., EVANS, H.J., RUSSEL, S.A. (1969): B_{12} coenzyme dependent ribonukleotide reductase in *Rhizobium species* and effect of cobalt deficiency on the activity of the enzyme. *J. Bacteriol.* 97: 1460-1465.

COX, L., CELIS, R., HERMOSIN, M.C., HERMOSIN, A., CORNEJO, J. (1998): Porosity and herbicide leaching in soils amended with olive-mill wastewater. *Agricult., Ecosyst. & Environm.,* 65 (2): 151-161.

COYNER, A., GUPTA, G., JONES, T. (2001): Effect of chlorsulfuron on growth of submerged aquatic macrophyte potamogeton pectinatus (Sago Pondweed). *Environm. Pollut.* 111: 453-455.

CRECCHIO, C., CURCI, M., PIZZIGALLO, M.D.R., RICCIUTI, P., RUGGIERO, P. (2001): Molecular approaches to investigate herbicide-induced bacterial community changes in soil microcosms. *Biol. Fertil. Soils* 33: 460-466.

CSERHÁTI, T, ILLÉS, Z., NEMES-KÓSA, S. (2008): Effect of benzonitrile ester herbicides on the growth of some soil bacteria. *J. of Appl. Microbiol.* 72 (6): 523-526.

CSITÁRI G. (1999-2001): Herbicidek hatása a rhizoszféra mikroorganizmusaira. VE Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, OTKA ny. szám: 29486, Kutatási időszak: 1999-2001.

CZIRÁK, L., GIMESI, A. (1986): Őszi búza fajták herbicid-tolerancia vizsgálata, Növényvédelem 1986. január (1) pp. 38.

DAFFONCHIO, D., BAGGI, G., MOLINARI, G.P., RANALLI, G., SORLINI, C. (1996): Effects of the herbicide molinate on the metabolic activities of a degradative *Streptomyces griseus* strain. *J. of Environm. Sci. Health. Part B. Pestic., Food Contamin. Agricult. Wastes,* 31, (2): 257-268.

DAFFONCHIO D., ZANARDINI E., VATTA P., SORLINI C. (1999): Cometabolic degradation of thiocarbammate herbicides by *Streptomyces* sp. strain M2 and effects on the cell metabolism. *Ann. Microbiol. Enzimol.,* 49: 13-22.

DANIELSON, L.L., GENTNER, W.A. (1961): Persistence of soil incorporated EPTC and other carbamates. *Weeds,* 9: 463-476.

DANIELSON, L.L., GENTNER, W.A. (1964): Influence of air movement on persistence of EPTC in soil. *Weeds* 12: 92-94.

DAWSON, J.H. (1963): Effect of EPTC on barnyardgrass seeds. *Weeds,* 11: 184-186.

DELGADO-MORENO, L., ARNZAZU. P. (2007): Organic amendments from olive cake as a strategy to modify the degradation of sulfonylurea herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.,* 55 (15): 6213-6218.

DELORENZO, M.E., SCOTT, G.I., ROSS, P.E. (2000): Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A rewiew. *Environm. Toxicol. Chemistry.,* 20: 84–98.

DONALD, W.W. (1987): Effect of soil applied chlorsulfuron on Canada thistle /*Cirsium arvense*/ root and root bud growth) *Weed Technol.,* 2: 154-161.

DORAN, J. W., ZEISS, M.R. (2000): Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.,* 15: 3-11.

DORST, D.C. (1984): Continous VS rotational uses of EPTC + R-25778 + R-33865, butylate + R-33865 and cycloata + R-25778 herbicides for weed control in corn. *Proc. North Cent. Weed Cont. Conf.* 39 pp. 46.

DUPONT (2007): Throttle XP herbicide. Technical Bulletin Du Pont de Nemours and Company, 3/07, No: K-14603-1 pp. 2.

DURGESHA, M. (2008): Effect of dinitroaniline herbicides on rhizobia, nodulation and $N_2(C_2H_2)$ fixation of four groundnut cultivars. *Annals of Applied Biol.,* 124(1): 75-82.

EBERBACH, P.L, DOUGLAS, L.A. (1989): Herbicide effects on the growth and nodulation potential of *Rhizobium trifolii* with *Trifolium subterraneum* L. *Plant and Soil*, 119 (1): 15-23.

EL-AZIZ, R., ANGLE, J.S., CHANEY, R.L. (1991): Metal tolerance of *Rhizobium meliloti* isolated from heavy metal contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.* 23: 795-798.

ELEFHEROHORINOS, J.G. (1987): Phytotoxicity and persistence of chlorsulfuron as affected activated charcoal. *Weed Res.,* UK 27(6): 443-452.

EL FANTROUSSI, S., VERSCHUERE, L., VERSTRAETE, W., TOP, M. (1999): Effect of phenylurea herbicides on soil microbial communities estimated by analysis of 16S rRNA gene fingerprints and community-level physiological profiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 982-988.

EL-GHAMRYJ, A.M., CHANGYONGK, H., JIANMINGK, X., ZHENGMIAOK, X., SUBHANIL, A. (2000): Combined effects of chlorsulfuron and bensulfuron-methyl herbicides on the size of microbial biomass in a loamy sand soil. *Pakistan J. of Biol. Sci.,* 3 (5): 731-734.

EMBLEY, M.T., HIRT, R.P., WILLIAMS, D.M. (1994): Biodiversity at the molecular level the domains, kingdoms and phyla of life. *Philos. Trans. R. Soc. London B Biol. Sci.* 345: 21-33.

ENGELEN, B., MEINKEN, K., WINTZINGERODE, F. VON, HEUER, H. MALKOMES, H.P., BACKHAUS, H. (1998): Monitoring impact of a pesticide treatment on bacterial soil communities by metabolic and genetic fingerprinting in addition to conventional testing procedures. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 2814-2821.

ERTLI, T. (2005): Gyomirtószerek szorpciójának tanulmányozása különböző talaj-oldat rendszerekben Doktori (PhD) értekezés, Veszprém. pp. 120.

ERVIO, L.R., HEINONENTANSKI, H., JUNNILA, S., LAITINEN, P. (1994): Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soils. *Weed Res.,* tom, 34 (6): 00413-00423.

FANG, S.C., THEISEN, P., FRED, V.M. (1961): Effects of water evaporation, temperature and rates of application on the retention of ethyl-N,N-di-n-propyltiocarbamate in various soil. *Weeds* 9: 569-574.

FAO (2003): The chlorsulfuron. FAO specifications and evaluations for agricultural pesticides. FAO. Rome. pp. 24.

FLETCHER, J. S., PFLEEGER, T.G., RATSCH, H.C., HAYES, R. (1996): Potential impact of low levels of chlorsulfuron and other herbicides on growth and yield of nontarget plants. *Environm. Toxicol. and Chem.,* 15 (7): 1189–1196.

FORLANI, G., MANTELLI, M., BRANZONI, M., NIELSEN, E., FAVILLI, F. (1995): Differential sensitivity of plant-associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides. *J. Plant and Soil* 176 (2): 243-253.

FRESNO, F., GUILLARD, C., CORONADO, J.M., CHOVELON, JEAN-MARC, TUDELA, D., SORIA, J, HERRMANN J. (2005): Photocatalytic degradation of a sulfonylurea herbicide over pure and tin-doped TiO_2 photocatalysts. *J. of Photochem. and Photobiol A: Chem.*, 173 (1): 13-20.

GENTNER, W.A. (1966): The influence of EPTC on external foliage max deposition. *Weeds* 14: 27-31.

GHANI, A., WARDLE, D.A. (2001): Fate of C-14 from glucose and the herbicide metsulfuron-methyl in a plant-soil microcosm system. *Soil Biol. Biochem.* 33: 777-785.

GIGLIOTTI, C, ALLIEVI, L., SALARDI, C., FERRARI, F. AND FARINI, A. (1998): Microbial ecotoxicity and persistence in soil of the herbicide bensulfuron-methyl. *J. Environ. Sci. Health Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes,* 33: 381-398.

GILLER, K.E., MCGRATH, S.P., HIRSCH, P.R. (1989): Absence of nitrogen fixation in clover growth on soil subject to long term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. *Soil Biol. Biochem.*, 21: 841-848.

GIRVAN, M.S., BULLIMORE J., BALL A.S. PRETTY J.N., OSBORN A.M. (2004): Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat to different fertilizer and pesticide regimens. *Appl. Environ Microbiol.* 2004 May; 70(5): 2692–2701.

„GLEAN" (1986): Tyehnyicseszkij bjulletyeny firmi „Du Pont" Svejcarija, pp.10.

„GLEAN 75 DF" (1989): Technikai tájékoztató Du Pont, pp.20.

GORLACH-LIRA, K., STEFANIAK, O., SLIZAK, W., OWEDYK, I. (1997): The response of forest soil microflora to the herbicide formulations Fusilade and Roundup. *Microbiol. Res.* 152: 319-329.

GRAY, R.A. (1971): Behaviour, persistence, and degradation of carbamate and thiocarbamate herbicides in the environment. In: Proceedings of the California Weed Control Conference, 128-134.

GRAY, R.A., NOHYNEK, F.J. (1978): Behavior of thiocarbamates in the environment. *J. Evaporation, Leaching and Degrad., Agrichem. Bratislava*: 185-192.

GRAY, R.A., WEIERICH, A.J. (1968): Behavior and persistence of thiocarbamate herbicides in soils under different environmental conditions. Proc. 9th Brit. *Weed Cont. Conf.*: 94-101.

GRAY, R.A., WEIERICH, A.J. (1968): Leaching of five thiocarbamate herbicides in soils. *Weed Sci*., 16(1): 77-79.

GREY. T.L., BRIDGES, D.C. (2003) Alternatives to diclofop for the control of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) in winter wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Technol.,* 17 (2) 219-223.

GU, LI-FENG, JIANG, JIAN-DONG, LI, XIAO-HUI, SHINAWAR, WASEEM, ALI, LI, SHUN-PENG (2007): Biodegradation of ethametsulfuron-Methyl by *Pseudomonas* sp. SW4 isolated from contaminated Soil. *J. Current Microbiol.,* 55 (5): 420-426.

HANEY, R.L., SENSEMAN, S.A., HONS, F.M., ZUBERER, D.A. (2000): Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Sci.,* 48: 89-93.

HARDER, P.A., O'KEEFE, D.P., ROMESSER, J.A., LETO, K.J., OMER, C.A. (1991): Isolation and characterization of *Streptomyces griseolus* deletion mutants affected in cytochrome P-450-mediated herbicide metabolism. *Molecular and General Genetics* 227 (2): 238-244.

HARDY, R.W.F., GIAQUINTA, R.T. (2005): Molecular biology of herbicides. *BioEssays,* 1 (4): 152-156.

HARVEY, R.G. (1982): Wild proso millett control in field and sweet corn. Proc. North Cent. Weed. Cont. Conf. 40: 14-15.

HARVEY, R.G., KOZAK, M.E. (1984): Factors affecting accelarated microbial degradation of EPTC + R-25788 + R-33865. *Weed Sci. Soc. Am.,* N°251.

HARVEY, R.G. (1985): Influence of prior herbicide use and chemical extenderes enhanced biodegradation of tiocarbamate herbicides. Proc. North Cent. Weed Cont. Conf. 40: 14-15.

HÄUSLER R.E., HOLTUM, A.M., POWLES, S.B. (1991): Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) IV. Correlation between membrane effects and resistance to graminicides. *Plant Physiol.,* 97(3): 1035–1043.

HAWKING, H.J., JOHANSEN, A., GEORGE, E. (2000): Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 226: 275-285.

HELWEG, (1992): Degradation of pesticides in subsurface soil. Proceedings of Intern. Symp. on Environ. *Aspects of Pesticide Micribiology.* 17-21 Aug. 1992, Sigtuna, Sweden (Ed. Anderson, J.P.E. – Arnold, D.J. – Lewis, F. Torstensson): 249-265.

HEMMAMDA, S., CALMON, M., CALMON, J.P. (1994): Kinetics and hydrolysis mechanism of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl. *Pestic. Sci.,* 40: 71-76.

HODGE, A., CAMPBELL, C.D., FITTER, A.H. (2001): An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. *Nature,* 413: 297-299.

INUI, H., SHIOTA, N., IDO, Y., INOUE, T., HIROSE, S., KAWAHIGASHI, H., OHKAWA, Y., OHKAWA, H. (2001): Herbicide metabolism and tolerance in the transgenic rice plants expressing human CYP2C9 and CYP2C19. *Pesticide Biochem. Physiol.,* 71 (3): 156–169.

ISMAIL, B.S., LEE, H.J. (1995): Persistence of metsulfuron-methyl in two soils. *J. Environ. Sci. Health-*Part B, 30: 485-497.

ISMAIL, B.S., GOH, K.M., KADER, J. (1996): Effects of metsulfuron-methyl on microbial biomass and populations in soils. *J. Environ. Sci.,* 31: 987-999.

JAMES, T.K., HOLLAND, P.T., RAHMAN, A., LU, Y.R. (1999): Degradation of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and triasulfuron in a high-organic-matter volcanic soil. *Weed Res.,* 39 (2): 137-147.

JEFFERY, S., BURGESS, L.W. AND KLEIN, T.A. (1988): Influence of atrazine and chlorsulfuron on the saprophytic and parasitic activity *Fusarium graminearum* Group 1. *Plant Prot.* 3(1): 14-15.

JEVCSÁK, I., BIRÓ, B., BAYOUMI H.E.A.F., KECSKÉS, M. (2000): PGPR effect and herbicide sensitivity of some *Pseudomonads* depending on their origin and plant hosts. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.,* 47: 307–308.

JOSHI, M.M., BROWN, H.M., ROMESSER, I.A. (1985): Degradation of chlorsulfuron by soil microorganisms. *Weed Sci.,* 33(6): 888-893.

JOZEPOVITS, GY., BIRÓ, B., JAKAB, J., KECSKÉS M. (1980): Decomposition of azioprotrine by *Coronilla Rhizobium*. *Rhizobium Newsletter*, 25: 151–152.

JUNNILA, S., HEINONENTANSKI, H., ERVIO, L.R., LAITINEN, P. (1996): Phytotoxic persistence and microbiological effect of chlorsulfuron in Finnish soils. *Weed Res.,* 34 (6): 413-423.

KAH, M., BROWN, C.D. (2006): Adsorption of ionisable pesticides in soils. *Reviews of Environm. Contamin. and Toxicol.,*188: 149-217.

KALLQVIST, T., ROMSTAD, R. (1994): Effects of agricultural pesticides on planktonic algae and cyanobacteria - examples of interspecies sensitivity variations. *Norwegian J. of Agric. Sci. Suppl*., 13: 117-131.

KALLQVIST, T., ABDEL-HAMID, M. I., BERGE, D. (1994): Effects of Agricultural Pesticides on Freshwater Plankton Communities in Enclosures. *Norwegian J. of Agric. Sci. Suppl.*, 13: 133-152.

KAUFMAN, D.D. (1967): Degradation of carbamate herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.* 15: 582-591.

KÁTAI, J. (1998): The effect of herbicides on the quantity and activity of microbes in the soil. In: *Soil Pollution* (Ed.: Filep, Gy.) Debrecen University Press. 159–168.

KÁTAI, J., BORBÉLY, M., GYŐRI, Z. (2002): Study of atrazine degradation in a ring test of an international project. In: Proc. 1st Alps–Adria Sci. Workshop, Opatija, Croatia. Agroinform Kiadó. Budapest: 95-99.

KECSKÉS, M. (1976): Mikroorganizmusok, magasabbrendű növények és xenobiotikumok közötti kölcsönhatások értékelése. Akadémiai doktori értekezés és tézisei. Budapest

KISNIEVSKY, B., LOBEL, R., LIFSHITZ, N., GURFEL, D. (2009): Effects of some commercial herbicides on rhizobia and their symbiosis with peanuts. *Weed Res*. 28 (4): 291-296.

KOMAROV, A.M. (1987): Meri borbi sz szornyakami v poszevah lna i konoplja. *Ljon i konoplja,* Moszkva, 3: 27-28.

KOREN, E., FOY, C.L. ASHTON, F.M. (1968): Phytotoxicity and persistence of four thiocarbamates in five soil types. *Weed Sci.,* 16: 172-177.

KOSKINEN, W.C., COX, L., YEN, P.Y. (2001): Changes in sorption/bioavailability of imidacloprid metabolites in soil with incubation time. *Biol. Fertil. Soils*, 33: 546-550.

KOTOULA-SYKA, E., TAL, A., RUBIN, B. (2000): Diclofop-resistant *Lolium rigidum* from northern Greece with cross-resistance to ACCase inhibitors and multiple resistance to chlorsulfuron. *Pest Management Sci.*, 56 (12): 1054-1058.

KOZACZENKO, H. (1988): A klórszulfuron (Glean) gyomirtó szer hatása a tavaszi árpa gyomnövényeinek leküzdésére és terméshozamára (Ocena skutecznosci chlorsulfuron (preparat Glean) w zwaczaniu cwastów oraz pego wlyw na plou jeczmienia jagero) *Acta Acad. Agricult. Techn. Olst.*, 4: 193-201.

KÖDÖBÖCZ, L., PACSUTA, P., HALBRITTER, A. (2005): *Rhizobium* populációk BOX-PCR karakterizálása különböző mezőgazdasági területekről (oroszul). In: Molekularnie Mechanizmi vzaimodejstvia mikroorganizmov i rastenij: *Fundamentalnie i prikladnie aspekti* (Eds.: Konnova *et al.*): 81–84. Szaratov.

KÖVES-PÉCHY, K., BIRÓ, B., VÖRÖS, I., KÁDÁR, I. (1996): Nodulation and N_2-fixation of various *Rhizobium* - legume systems (alfalfa, clover and pea) affected by field applied heavy metal salts. Transactions of the 9th Nitrogen Workshop, Braunschweig, 165-168.

KREZEL, Z., KOSINKIEWICH, B. (1984): The effect of herbicides on the morphology of colonies and antibiotic activity of some *Streptomicetales*. *Acta Microb. Pol.,* 4: 3-9.

KRIETE, G., BROER, I. (1996): Influence of the herbicide phosphinothricin on growth and nodulation capacity of *Rhizobium meliloti*. *Applied Microbiol. Biotechnol.,* 46 (5-6): 580-586.

KRISTUFEK, V., BLUMAUEROVÁ, M. (1983): The herbicide Labuctril 25 reduces the number of actinomycetes in forest soil. *Folia Microbiol.,* 28(3): 237-239.

KUK, YONG-IN, BURGOS, N.R., TALBERT, R.E. (2000): Cross- and multiple resistance of diclofop-resistant *Lolium* spp. *Weed Sci.,* 48: 412-419.

KUNZ, D.A., CHAPMAN, P.J. (1981): Catabolism of pseudocumene and 3-ethyltoluene by *Pseudomonas putida* (arvilla) int-2: evidence for new function of TOL (pWWO) plasmid. *J. Bacteriol.,* 146: 179-191.

LA ROSSA, R.A, SCHLOSS, J.V. (1984): The sulfonylurea herbicide sulfometuron methyl is an extremely potent and selective inhibitor of acetolactate synthase in *Salmonella typhimurium*. *J. Biol. Chem.,* 259 (14): 8753-8757.

LEE, A., (1984): EPTC /S-ethyl-N,N-propylthiocarbamate/- degrading microorganims isolated from a soil previously to EPTC. *Soil Biol. Biochem.* 16: 521-531.

LEE, A., RACHMAN, A., HOLLAND, P.T. (1984): Decomposition of the herbicide EPTC in soil with a history of previous EPTC applications. New Zeland, *J. Agric. Res.* 27: 201-206.

LEFEBRE, P., LABIT, B., DELATTRE, M. (1983): Mi a klórszulfuron? (Qu est-ce que te chlorsulfuron?) *Def. Veg. Paris,* 37(224): 345-355.

LI, JUN-HONG; YAN, HUI; SONG, WEN-HUA (2004): Dynamic quantitative structure-biodegradation relationship research of sulfonylurea herbicides. *J. of Agro-Environm. Sci.,* 23 (6): 1128-1132.

LI, Y., ZIMMERMAN W.T., GORMAN, M.K., REISER, R.W., FOGIEL, A.J., HANEY, P E. (1999): Aerobic soil metabolism of metsulfuron-methyl. *Pestic. Sci.,* 55: 434-445.

LODE, O., SKUTERUD, R. (1983): EPTC persistence and phytotoxicity influenced by pH and manure. *Weed Res.* 23 (1): 19–25.

LOCH J., NOSTICZIUS Á. (1983): Alkalmazott kémia, Mezőgazdasági Kiadó Budapest, pp. 363.

LOCH J., NOSTICZIUS Á. (2004): Agrokémia és növényvédelmi kémia, Mezőgazda Kiadó, Budapest, pp. 408.

MACRAE, I.C., ALEXANDER, M. (1965): Microbial degradation of selected herbicides in soil. *J. Agric. Food Chem.,* 13: 72-75.

MALATO, S., BLANCO, J., CACERES, J., FERNANDEZ-ALBA, A.R., AGUERA, A. RODRIGUEZ, A. (2002): Photocatalytic treatment of water-soluble pesticides by photo-fenton and TiO_2 using solar energy. *Catal.,* 21: 4359-4366.

MALKOMES, H.P. (1989): Einflub des herbizids gropper (metsulfuron-ester) auf mikrobielle aktivitaten im boden unter laborbedingungen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd. Braunschweig,* 41: 104-108.

MALKOMES, H.P. (1990): Einflub des sulfonylharnstoff-herbizids, 'gropper' auf die kohlenstoff und stickstoffmineralisierung im boden. *Zentralbl. Mikrobiol.,* 145: 529-538.

MARCZEWSKA K. (2006): Phytotoxicity and efficacy of chlorsulfuron in winter wheat. *J. of Plant Protect. Res.* 46 (4): 387-396.

MÄRTENSSON, A.M., NILSSON, A.K. (1989): Effects of chlorsulfuron on *Rhizobium* grown inpure culture and in symbiosis with alfalfa (*Medicago sativa*) and red clover (*Trifolium pratense*). *Weed Sci.,* 37: 445-450.

MÄRTENSSON, A.M. (1992): Effects of agrochemicals and heavy metals on fastgrowing rhizobia and their symbiosis with small seeded legumes. *Soil Biol. Biochem,.* 24. 435-445.

MARTINEZ-TOLEDO, M.V., SALMERON, V., RODELAS, B., POZO, C., GONZALEZ-LOPEZ, J. (1996): Studies on the effects of the herbicide simazine on microflora of four agricultural soils. *Environm. Techn. and Chem.,* 15 (7): 1115-1118.

MARTINEZ, C.O., SILVA, C.M., FAY, E.F., NUNES MIA A.H., ABAKERLI, R.B., DURRANT, L.R. (2008): Degradation of the herbicide sulfentrazone in a Brazilian typic hapludox soil. *J. Soil Biol. and Biochem.* 40 (4): 879-886.

MAYER, J.R., BERGEN, P., KOZUB, O.C. (1989): Chlorsulfuron persistence and response of legumes in an alkaline soil. *J. Environ. Sci. Health Part B. Pestic. Food Contam. Agric. Wartess* 24 (1): 37-56.

MÁRIALIGETI, K. (2003): Investigations on the ratio of culturable and VBNC bacteria in beef as a function of preservation treatments. In: Abstracts, 14th Int. Congress of the Hung. Soc. for Microbiology, Balatonfüred., 130–131.

MATTHEWS, J.M., HOLTUM, A.M., LILJEGREN, D.R. FURNESS, B., POWLES S.B. (1990): Cross-resistance to herbicides in annual ryegrass (*Lolium rigidum*) I. Properties of the herbicide target enzymes acetyl-coenzyme A carboxylase and acetolactate synthase. *Plant Physiol.,* 94 (3): 1180–1186.

MCCAIG, A.E., GLOVER, L.A., PROSSER, J.I. (1999): Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures. *Appl. Environ. Microbiol.,* 65: 1721-1730.

MCGRATH, S.P., BROOKES, P.C. AND GILLER, K.E. (1988): Effects of potentially toxic metals in soil derived from past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. *Soil Biol. Biochem,.* 20: 415-424.

MILLER J.L., WOLLURN, A.G., WEBER, J.B. (1997): Sterile and nonsterile degradation of carbon-14-primisulfuron in soil from four depths. *J. Environ. Qual.,* 26: 440-445.

MILOSEVIC, N.A., GOVEDARICA, M.M. (2002): Effect of herbicides on microbiological properties of soil zbornik Matice srpske za prirodne nauke, *Proceedings for Natural Sciences,* Matica Srpska, Novi Sad, 102: 5-21.

MISZCZYK, M., PYKA, A. (2006): Investigation of selected sulfonylurea herbicides by TLC and HPLC. *J. of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29 (16): 2437-2449.

MOORMAN, T.B. (1988): Populations of EPTC degrading microorganism in soil with accelerated rates of EPTC degradation. *Weed Sci.,* 26: 96-101.

MRKOVACKI, N.B., CACIC, N.A., MILIC, V.M. (2002): Effects of Pesticides on *Azotobacter chroococcum*. Proceedings for Natural Sciences, Matica Srpska Novi Sad, 102: 23-28.

NAÁR, Z., NAGY, M., KISS, Z., BAYOUMI, H.E.A.F., KECSKÉS, M. (1997): Colonization of *Trichoderma* strains in different soil types affected by microbicides. In: Proc. Int. Reg. Seminar Transcarpathian Region on Environment Protection, May 13–16, 1997, Uzhgorod National University, Uzhgorod, Ukraine. *Modern Stud. of Ecol. and Microbiol.*, 2: 199-203.

NAGY, I., NAGY, J., MÁTYÁS, J., KECSKÉS, M. (1987): Decomposition of EPTC by soil microbes in two soils. Brit. Crop. Prot. Conf. Weeds Brighton 174: 525-530.

NAGY, I., NAGY, J., BALÁZSI, S., KUKOLYA, J., KECSKÉS, M. (1988): Decomposition of tiocarbamate herbicides in an alluvial soil. Humus el Planta Conf. Praga

NAGY I. (1989): Extenderek, tiokarbamát herbicidek, mikroorganizmusok és növények közötti kölcsönhatások. Kandidátusi értekezés. Gödöllői Agrártudományi Egyetem. Gödöllő.

NALEWAJA, J.D., BEHRENS, R., SMITH A.E. (1964): Uptake location and fate of EPTC in alfalfa. *Weed* 12: 269-272.

NÉMETH I., BLASKÓ D. (2005): Vegyszeres gyomszabályozás és herbicidismeret, Szent István Egyetem, Gödöllő, pp. 114.

NOVOGRUDSZKAJA, E.O., SAJEVA, L.I. (1965): Vlijanyije gerbicidov na pocsvennuju mikrofloru. *zsurnal Agrobiologija*, 4: 477-584.

OBRIGAWITCH, T., MARTIN, A.R., ROETH, F.W. (1983): Degradation of thiocarbamate herbicides in soils exhibiting rapid EPTC breakdown. *Weed Sci.* 31: 187-192.

O'DONNELL, A.G., GOODFELLOW, M., HAWKSWORTH, D.L. (1994): Theoretical practical aspects of the quantification of biodiversity among microorganism. Philos. Trans. R. Soc. London B *Biol. Sci.* 345: 65-73.

O'DONNELL, A.G., GÖRRES, H.E. (1999): 16S rDNA methods in soil microbiology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 10: 225-229.

O'KEEFE, D.P., ROMESSER, J.A., LETO, K.J. (1987): Plant and bacterial cytochromes P450: involvement in herbicide metabolism. *Recent Adv. Phytochem.,* 21: 151-173.

O'KEEFE, D.P., ROMESSER, J.A., LETO, K.J. (1988): Identification of constitutive and herbicide inducible cytochromes P450 in *Streptomyces griseolus*. *Arch. Microbiol.,* 149: 406-412.

O'KEEFE, D.P. (1990): Genes for two herbicide-inducible cytochromes P-450 from *Streptomyces griseolus. J. Bacteriol.*, 172: 3335-3345.

OLDEMAN, L.R. (1994): The global extent of soil degradation In D. J. Greenland and I. Szabolcs (ed.), Soil resilience and sustainable land use. CAB International, Wallingford, Oxon, United Kingdom, 99-118.

OMER, C.A., LENSTRA, R., LITLE, P.J., DEAN, C., TEPPERMAN, J.M., LETO, K.J., ROMESSER, J.A., OPPONG F.K., SAGAR G.R. (1992): Degradation of triasulfuron in soil under laboratory conditions. *Weed Res.,* 32: 167-173.

PAMPULHA, M.E., OLIVEIRA, A. (2006): Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Current Microbiol.* 53(3): 238-243.

PAMPULHA, M.E., FERREIRA, M., OLIVEIRA, A. (2008): Effects of a phosphinothricin based herbicide on selected groups of soil microorganisms. *J. of Basic Microbiol.,* 47(4) 325-331.

PANKHURST, C.E., DOUBE, B.M., GUPTA V.V.S.R. (ed.) (1997): Biological indicators of soil health. CAB International, Wallingford, United Kingdom.

PATNAIK, G.K. KANUNGO, P.K. MOORTHY, B.T.S. MAHANA, P.K. ADHYA, T.K., RAO, R.V. (1995): Effect of herbicides on nitrogen fixation (C2H2 reduction) associated with rice rhizosphere. *Chemosphere,* 30 (2): 339-343.

PERUCCI, P., SCOPA, A., DUMONTET, S., CELANO, G. (1993): The effect of six herbicides on the respiration of two different soils. In: IX Symp. Pest. Chem.: Mobility and degradation of xenobiotics, Piacenza, 11-13/10. G. Biagini ed., Lucca, 471-478.

PONS, N., BARRIUSO, E. (1998): Fate of metsulfuron-methyl in soil in relation to pedo-climatic conditions. *Pestic. Sci.,* 53: 311-323.

POSTA, K., SASVÁRI Z. (2008): Importance of AMF diversity for typical agricultural soil of Hungary with special respect to maize cropping system. In: Feldmann F, Kapulnik Y, Baar J (eds.), Mycorrhiza Works, Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig, Germany, 186-195.

PRETTY, J., BRETT, C., GEE, D., HINE, R., MASON, C.F., MORISON, J.I.L., RAVEN, H., RAYMENT, M., BIJL, G. (2000): An assessment of the total external costs of UK agriculture. *Agric. Syst.* 65: 113-136.

PRETTY, J.N., MASON, C.F., NEDWELL, D.B., HINE, R.E. (2003): Environmental costs of freshwater eutrophication in England and Wales. *Environ. Sci. Technol.,* 37: 201-208.

RACHMAN, A., ATKINSON, G.C., DOUGLAS, I.A., SINCLEAR, D.P. (1979): Eradicans causes problems New Zeland. *J. Agric.* 139: 47-49.

RACSKÓ J., BUDAI L. (2004): Az ökológiai tényezők hatása a gyomirtó szerek (herbicidek) hatékonyságára és hatástartósságára. *MezőHír*, Mezőgazdasági Szaklap, 3: pp. 5.

RAKIMOV, A.A., RIBKINA, V.F. (1963): Vlijanyije nyekotorih gerbicidov na pocsvennuju mikrofloru. *Uzbek. Biol.* 3: 74-76.

RAY, T.B. (1984): Site of action of chlorsulfuron. Inhibition of valine and isoleucine biosynthesis in plants. *Plant Physiol.,* 75: 827-831.

REBECCHI, L., SABATINI, M.A., CAPPI, C., GRAZIOSO, P., VICARI, A., DINELLI, G., BERTOLANI, R. (2000): Effects of a sulfonylurea herbicide on soil microarthropods. *Biol. Fertil. Soils* 30: 312-317.

REDDY, G.B., CHENG, C.N., DUNN, S.J. (1983): Survival of *Rhizobium japonicum* in soil sludge environment. *Soil Biol. Biochem.* 15: 343-345.

REICHART, O. (2005): Kísérlettervezés és értékelés a mikrobiológiai gyakorlatban. Budapest, pp.97.

REISER, R.W., BAREFOOT, A.C., DIETRICH, R.F., FOGIEL, A.J., JOHNSON, W.R., SCOTT, M.T. (1991): Application of microcolumn liquid chromatography-continuous-flow fast atom bombardment mass spectrometry in environmental studies of sulfonylurea herbicides. *J. Chromatogr.,* 554: 91-101.

RIEBL, R., WORSHAM (1987): A kórszulfuron hatása a diklofop fitotoxicitására a *Lolium multiflorum* irtásában. (Effect of chlorsulfuron on diclofop phytotoxicity to Italian ryegrass /*Lolium multiflorum*/.) *Weed Sci.,* 35(3): 383-387.

ROBERTI, R., BADIALI, F., PISI, A., VERONESI, A., PANCALDI, D., CESARI, A. (2006): Sensitivity of *Clonostachys rosea* and *Trichoderma* spp. as potential biocontrol agents to pesticides. *J. Phytopathol.,* 154 (2): 100-109.

ROBERTS, T. (1998): Metabolic pathways of agrochemicals, Part I; *The Royal Society of Chemistry*, Cambridge, UK, 1998, 494-498.

ROMESSER, J.A., O'KEEFE, D.P. (1986): Induction of cytochrome P-450-dependent sulfonylurea metabolism in *Streptomyces griseolus. Biochem. Biophys. Res. Commun.,* 140: 650-659.

ROST, T.L. (1984): The comparative cell cycle and metabolic effects of chemical treatments on root tip meristems. III. Chlorsulfuron. *J. Plant Growth Reg.,* 3: 51-63.

SABADIE, J. (1990): Hydrolyze chimique acide du metsulfuron méthyle. Weed. Res. 30: 413-419.

SANTRIS, L., RADIVOJEVIC, L, STANKOVIC-KALEZIC, R., DORDEVIC, S. (2004): Microbiological activity of soil treated with nicosulfuron. *J. Pesticidi i fitomedicina,* 19(1): 55-60.

SAPUNDJIEVA, K., KOUZMANOVA, J., KARTALSKA, Y. (2003): Effect of trophy (acetochlor) herbicide upon soil microbiological activity. *J. of Environm. Protect. Ecol.,* 4 (3): 631-635.

SAWICKA, A., SELWET, M. (1998): Effect of active ingredients on *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* legume dinitrogen fixation. *Polish J. Environm. Stud.,* 5: 317–320.

SARMAH, A., KOOKANA, S., ALSTON, A.M. (1999): Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soils under laboratory conditions. *Weed Res.*, 39 (2): 83-94.

SARMAH, A.K., ALSTON, A.M., KOOKANA, R.S. (2000): Leaching and degradation of triasulfuron, metsulfuron-methyl, and chlorsulfuron in alkaline soil profiles under field conditions. Australian *J. Soil Res.,* 38 (3): 617-631.

SCHRIJVER, ADINDA D., MOT, R. (1999): Degradation of pesticides by *Actinomycetes*. *Critical Reviews in Microbiol.,* 25 (2): 85-119.

SCHUMAN, D.B., HARVEY, R.G. (1980): Accelerated degradation of thiocarbamate herbicides on an EPTC predisposed soil. Conf. 36: 121.

SEGHERS, D., VERTHE, K., REHEUL, D., BULCKE, R., SICILIANO, S.D., VERTSTRAETE, W., TOP, E.M. (2003): Effect of long-term herbicide applications on the bacterial community structure and function in an agricultural soil. *FEMS Microbiol. Ecol.,* 46(2): 139-146.

SETTE L.D., DE OLIVEIRA, V., MANFIO, M., GILSON P. (2005): Isolation and characterization of alachlor-degrading actinomycetes from soil. *Antonie van Leeuwenhoek,*. 87 (2): 81-89.

SHEA, P.J. (1986): A klórszulfuron disszociációja és adszorpciója különböző adszorbenseken és talajokban. (Chlorsulfuron dissociation and adsorption on selected adsorbents and soils) *Weed Sci.,* 34(3): 474-478.

SIEW S.P., GUDDAT, L.W., DUGGLEBY, R.G. (2003): Molecular basis of sulfonylurea herbicide inhibition of acetohydroxyacid synthase. *J. Biol. Chem.,* 278, (9): 7639-7644.

SKIPPER, H.D., MURDOCK, E.C., GOODEN, D.T., ZUBLENA, J.P., AMARIKI, M.A. (1986): Enhanced herbicide biodegradation in South Carolina soils previously treated with butylate. *Weed Sci.,* 34, No. (4): 558-563.

SMALLA, K., WACHTENDORF, U. HEUER, H. LIU, W.-T., FORNEY, L. (1998): Analysis of BIOLOG GN substrate utilization patterns by microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.,* 64: 1220-1225.

SMITH, A.E. (1986): Persistence of the herbicides (^{14}C) chlorsulfuron and (^{14}C) metsulfuron-methyl in prairie soils under laboratory conditions. *Bull. of Environm. Contamin. and Toxicol.,* 37(5): 698-704.

SMITH, A.E., FRITZPATRICK (1970): The loss of five thiocarbamate herbicides in nonsterile soils and their stability in acidic and basic solution. *J. Agric. Food. Chem.,* 18: 720-722.

SMITH, S.R. AND GILLER, K. (1986): Effective *Rhizobium leguminosarum biovar trifolii* present in five soils contaminated with heavy metals from long-term applications of sewage sludge or metal mine spoil. *Soil Biol. Biochem.,* 24: 781-788.

SMITH, S. R. (1992): Symbiotic N_2-fixation and microbial activity in soil contaminated with heavy metals resulting from long-term soil sewage-sludge application. *Water Res. Cent. Res. Rep.,* FR 0128 Medmenham, Marlow.

STEFANOVITS P. (1977): Talajvédelem, környezetvédelem, Mezőgazdasági Kiadó Budapest, pp.243.

STEVENS, M., DUXBURY, T. (1992): Aspergillus niger and a *Penicillium* sp. are not directly involved in the degradation of chlorsulfuron. *Pestic. Sci.,* 36(3): 287-291.

STILL, G.G., DAVIS, D.G., ZAUDER, G.L. (1970): Plant epicuticular lipids alternation by herbicidal carbamates. *Plant Phys.*, 46: 307-314.

STREK, H.J. (1998): Fate of chlorsulfuron in the environment. 1. Laboratory evaluations. *Pestic. Sci.,* 53: 29-51.

SUBBA-RAO, R.V., CROMATIC, T.H., GRAY, R.A. (1987): Methodology in accelerated biodegradation of herbicides. *Weed Technol.,* 1: 333-340.

SZABÓ, I.M. (1989): A bioszféra mikrobiológiája. II. kötet. Akad. Kiadó, Bp. pp. 1235.

SZABÓ, I.M. (2008): A bioszféra mikrobiológiája. II. kötet. Akad. Kiadó, Bp. pp. 1235.

SZEGI J. (1979): Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek Mezőgazdasági Kiadó Budapest, pp. 310.

SZILI-KOVÁCS, T. (1997): Application of some biological methods for the indication of the soil environmental quality. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.,* 44: 100–101.

TAM, BEHKI, KHAN (1987): Isolation and characterization of an S-ethyl-N,N-dypropyl thiocarbamate degrading *Artrobacter* srain and evidence for plasmid-associated S-ethyl-N,N-dypropyl thiocarbamate degradation. *Appl. Environm. Microbiol.,* 53: 1088-1093.

TAM, BEKHI, KHAN (1988): Effect of dietholate (R-33865) on degradation of thiocarbamate herbicides by EPTC degrading bacterium. *J. Agric. Food Chem.*, 36: 654-657.

THIRUNARAYANAN, K., ROBERT L. ZIMDAHL, R.L., SMIKA, D.E. (1985): Chlorsulfuron Adsorption and Degradation in Soil. *Weed Sci.*, (33) 4: 558-563.

THOMPSON, D.G., HOLMES, S.B., THOMAS, D., MACDONALD, L., SOLOMON, K.R. (1993): Impact of hexazinone and metsulfuron methyl on the phytoplankton community of a mixedwood boreal forest lake. *Environm. Toxicol. Chem.,* 12: 1695-1707.

TILMAN, D., CASSMAN, K.G., MATSON, P.A., NAYLOR, R., POOLASKY, S. (2002): Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671-677.

Tu, C.M. (1992): Effect of some herbicides on activities of microorganisms and enzymes in soil. *J. Environm. Sci. and Health, Part B: Pest., Food Contamin. and Agric. Wastes,* B27 (6): 695-709.

VALLE, A., BOSCHIN, G., NEGRI, M., ABBRUSCATO, P., SORLINI, C., D'AGOSTINA, A., ZANARDINI, E. (2006): The microbial degradation of azimsulfuron and its effect on the soil bacterial community. *J. of Appl. Microbiol.,* 101 (2): 443–452.

VAN DYK, T.K., LA ROSSA, R.A. (1986): Sensitivity of a *Salmonella typhimurium aspC* mutant to sulfometuronmethyl, a potent inhibitor of acetolactate synthase II. *J. Bacteriol.,* 165: 386-392.

VEGA, D., BASTIDE, J., POULAIN, C. (1992): Degradation chimique ou microbiologique des sulfonyurées dans le sol II. Cas de metsulfuron methyle. *Weed Res.,* 31: 149-155.

VIEIRA, ROSANA F., CĂŠLIA, SILVA, MARIA M.S., SILVEIRA, ADRIANA P.D. (2007): Soil microbial biomass C and symbiotic processes associated with soybean after sulfentrazone herbicide application. *J. Plant and Soil.,* 300: 1-2.

VINCENT, J.M. (1970): A manual for the practical study of nitrogen-fixing bacteria. Oxford Press. Sidney pp. 150.

VIRÁG, Á. (1981): A mezőgazdasági kemizálás környezetvédelmi összefüggései. Mezőgazdasági Kiadó. Bp. 58-148.

WALKER, A., COTTERIL, E.G., WELCH, S.J. (1989): Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soils from different depths. *Weed Res.,* 29: 281-287.

WALKER, A., WELCH, S.J. (1989): The relative movement and persistence in soil of chlorsulfuron, metsulfuron-methyl and triasulfuron. *Weed Res.,* 29: 375-383.

WEI, L., YU, H., SUN, Y., FEN, J., WANG, L. (1998): The effects of three sulfonylurea herbicides and their degradation products on the green algae *Chlorella pyrenoidosa*. *Chemosphere,* 37(4): 747-751.

WHITELAW-WECKERT, M., HUTTON, R., ROUSE, E., LAMONT, R. (2004): The effect of herbicides and permanent swards on soil microbial populations in the vineyard. *SuperSoil 2004,* Published by The Regional Institute Ltd., pp. 8.

WILKINSON, R.E., SMITH, A.E. (1975): Reversal of EPTC indiced fatty acid synthesis inhibition. *Weed Sci.* 23: 90-92.

WILSON, R.G. (1984): Accelerated degradation of thiocarbamate herbicides in soil with prior thiocarbamate herbicide exposure. *Weed Sci.,* 32: 264-268.

WILSON, R.G. (1984): Influence of dietholate fenofos and SC-0058 on EPTC degradation. Proc. North Cent. Weed Cont. Conf. St.Luis 40: pp. 11.

WHITCOMB, C.E. (1999): An introduction to ALS-inhibiting herbicides. *Toxicol. and Indust. Health,* 15 (1-2): 232-240.

WYSE, D.L., MEGGIT, W.F., PENNER, D. (1976): Effect of herbicides on the development of root rot on navy bean. *Weed Sci.,* 24: 11-15.

YAMAGUCI, S. (1961): Adsorption and distribution of EPTC S ' 35. *Weeds,* 9: 374 -380.

YONG HUA H., DONG SHENG S., CHENG RAN F., RUO HE, YIN MEI Z. (2006): Effects of metsulfuron-methyl on the microbial population and enzyme activities in wheat rhizosphere soil. *J. Environm. Sci. Health,* 41 (3): 269-284.

YONG HUA H., DONG SHENG S., CHENG RAN F., YIN MEI Z. (2006): Rapid biodegradation of metsulfuron-methyl by a soil fungus in pure cultures and soil. *World J. Microbiol. Biotechnol,* .22 (10): 1095-1104.

YOUBIN, S., SHENQUIANG W., JING Z., RIMAO, H., DONGMEI Z. (2005): Leaching and degradation of ethametsulfuron-methyl in soil. *Chemosphere,* 60 (5): 601-609.

ZANARDINI, E., ARNOLDI, A., BOSCHIN, G.D' AGOSTINA, A. NEGRI, M., SORLINI, C. (2002): Degradation pathways of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl by a *Pseudomonas fluorescens* strain. *Annals of Microbiol.,* 52: 25-37.

ZSUPOSNÉ, O.Á. (2002): Talajt javító és kímélő technológiák talajbiológiai tesztelése., In.: Talajjavítás-talajvédelem (Szerk. Pepó P., Jávor A.). Debreceni Egyetem ATC. 63-71.

ZSUPOSNÉ, O.Á. CSUBÁK, M. (2005): The biological activity and the humus quality in different soils. *Natural Resources and Sustainable Agriculture.* International Scientific Session and Reviewed Papers. Oradea-Debrecen, 123-131.

89/2004. (V. 15.) FVM rendelet a növényvédő szerek forgalomba hozatalának és felhasználásának engedélyezéséről, valamint a növényvédő szerek csomagolásáról, jelöléséről, tárolásáról és szállításáról

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton fejezem ki köszönetemet témavezetőmnek Prof. Dr. habil. Biró Borbálának a munkám során nyújtott szakmai és emberi segítségért, bátorításért, valamint a téma folytatásának a kialakításáért. Köszönöm az MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet vezetőségének és a Rhizobiológiai Kutatórészlegnek a kísérleti háttér biztosítását.

Köszönöm a Szent István Egyetem Környezettudományi Doktori Iskola korábbi és jelenlegi vezetésének, név szerint Prof. Dr. Menyhért Zoltánnak és Prof. Dr. Heltai Györgynek, hogy a doktori iskola programjához csatlakozhattam és hátteret nyújtottak tanulmányaimhoz.

Köszönöm a sok hasznos szakmai segítséget Prof. Dr. Kecskés Mihálynak és Prof. Dr. habil. Bayoumi Hamuda Hosamnak.

Köszönöm Nyárádi Zitának a Dunaferr ISD Kokszoló Kft. (korábbi Dunaferr DBK Kokszoló Kft.) szennyvíztisztító telep üzemvezetőjének, hogy a kokszolói szennyvízmintákat és azok kémiai vizsgálati eredményeit a kísérleteimhez rendelkezésre bocsátotta.

Köszönöm Dr. Füzy Annának és Dr. Ködöböcz Lászlónak, valamint további kollegáimnak, diáktársaimnak is, hogy a dolgozatom elkészültét szakmai tanácsaikkal segítették.

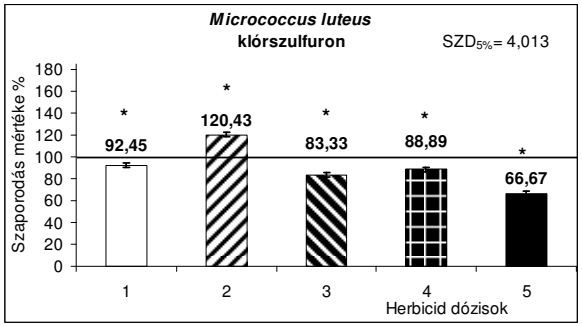
Köszönet illeti meg közvetlen vezetőmet Szabó Imre irodavezetőt és kollégáimat Szántó Krisztinát, Tóth Lászlót és Tóth Tamást a nekem nyújtott segítségért, valamint munkáltatómat, Dunaújváros MJV Polgármesteri Hivatalának címzetes főjegyzőjét, Dr. Tóth Istvánt a PhD tanulmányaim teljes körű támogatásáért.

Hálás köszönet egész családomnak: férjemnek, fiamnak és szüleimnek a sok biztatásért, segítségért és a megértő támogatásért.

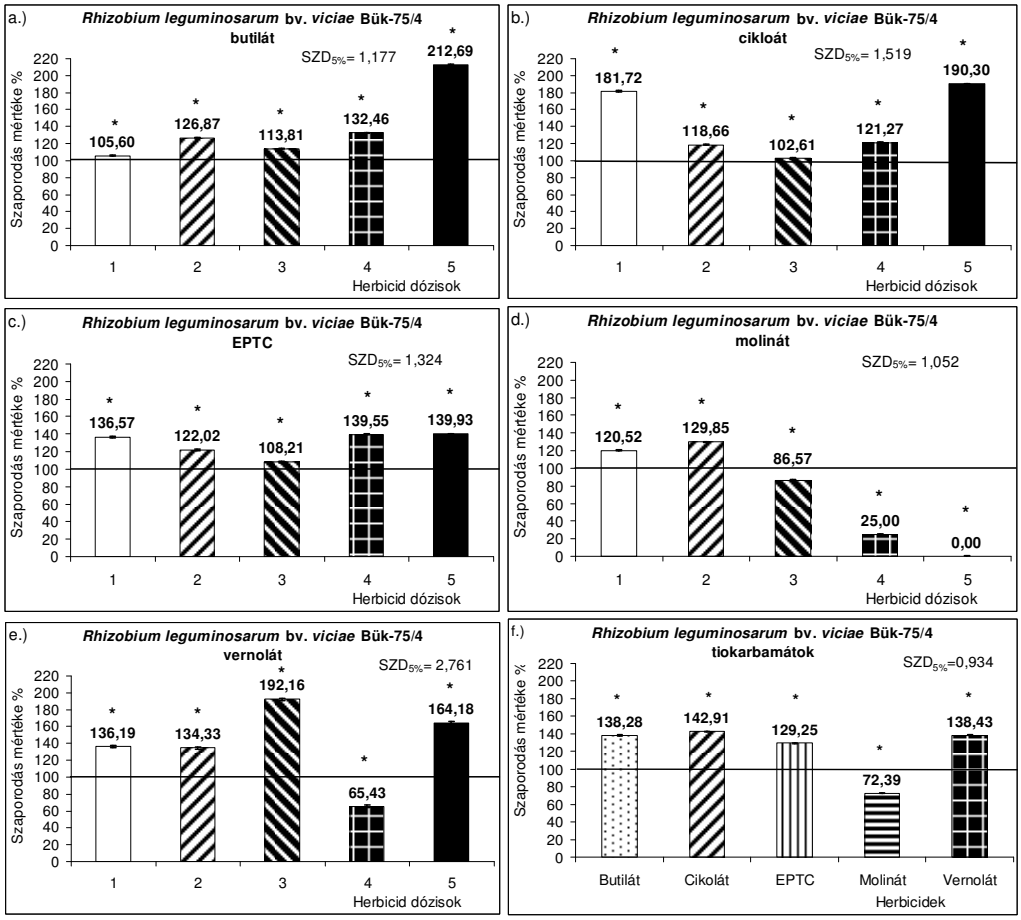
Köszönöm továbbá a számomra igen hasznos tanácsokat, észrevételeket és a segítő szándékot az értekezésem jobbítására a munkahelyi vitán opponenseimnek, Dr. habil. Posta Katalinnak és Dr. Vereczkey Gábornak.

MELLÉKLETEK

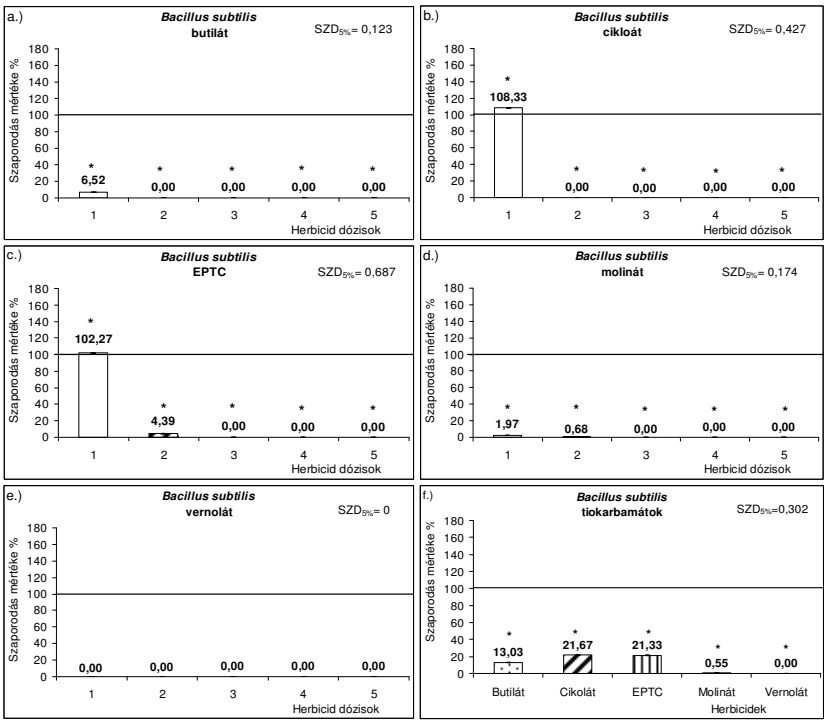
M-1. Ábrák



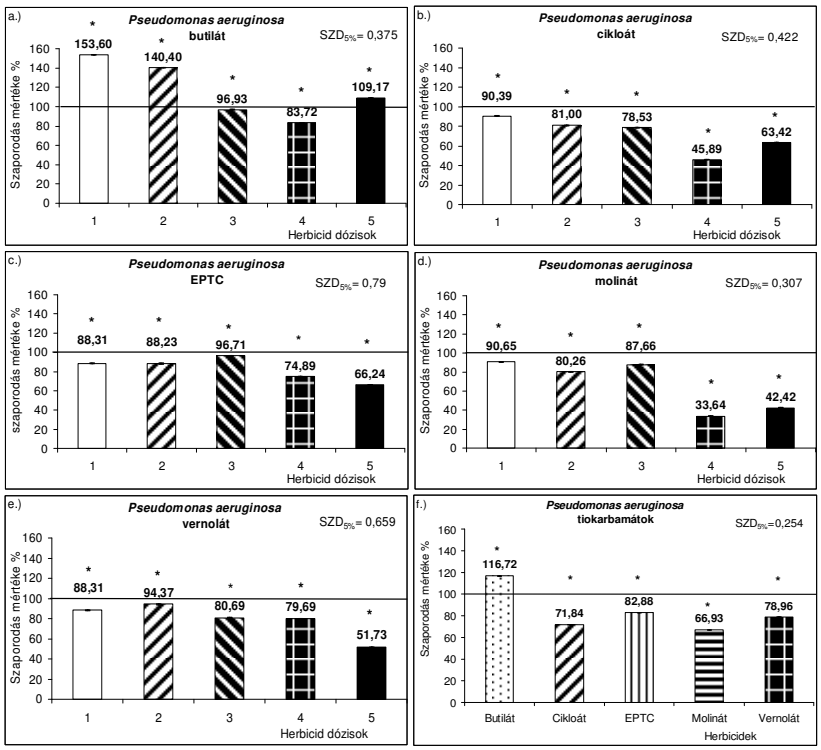
m-1. ábra: A klórszulfuron növekvő koncentrációinak hatása a *Mikrococcus luteus* baktérium szaporodására mikrofermentoros módszerrel, (alkalmazott klórszulfuron dózisok jelölései: 1.) 0,001-; 2.) 0,01-; 3.) 0,1-; 4.) 1-; 5.) 10 mgL^{-1})



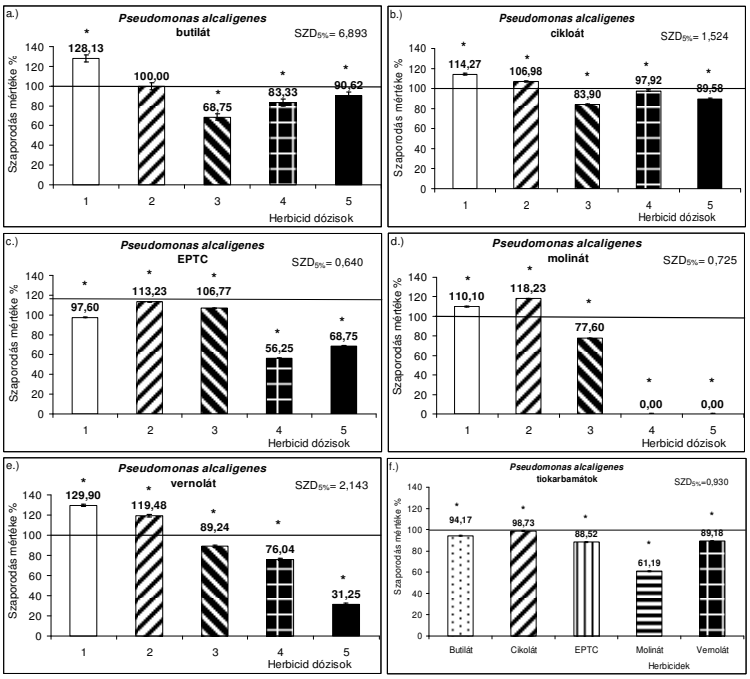
m-2. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel, herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



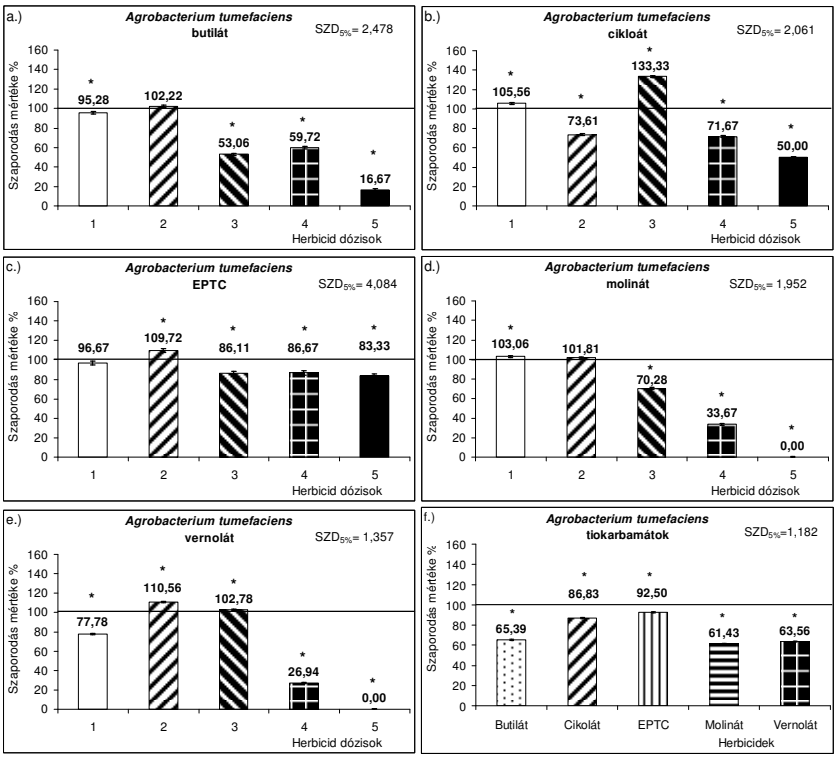
m-3. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Bacillus subtilis* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát átlagos hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



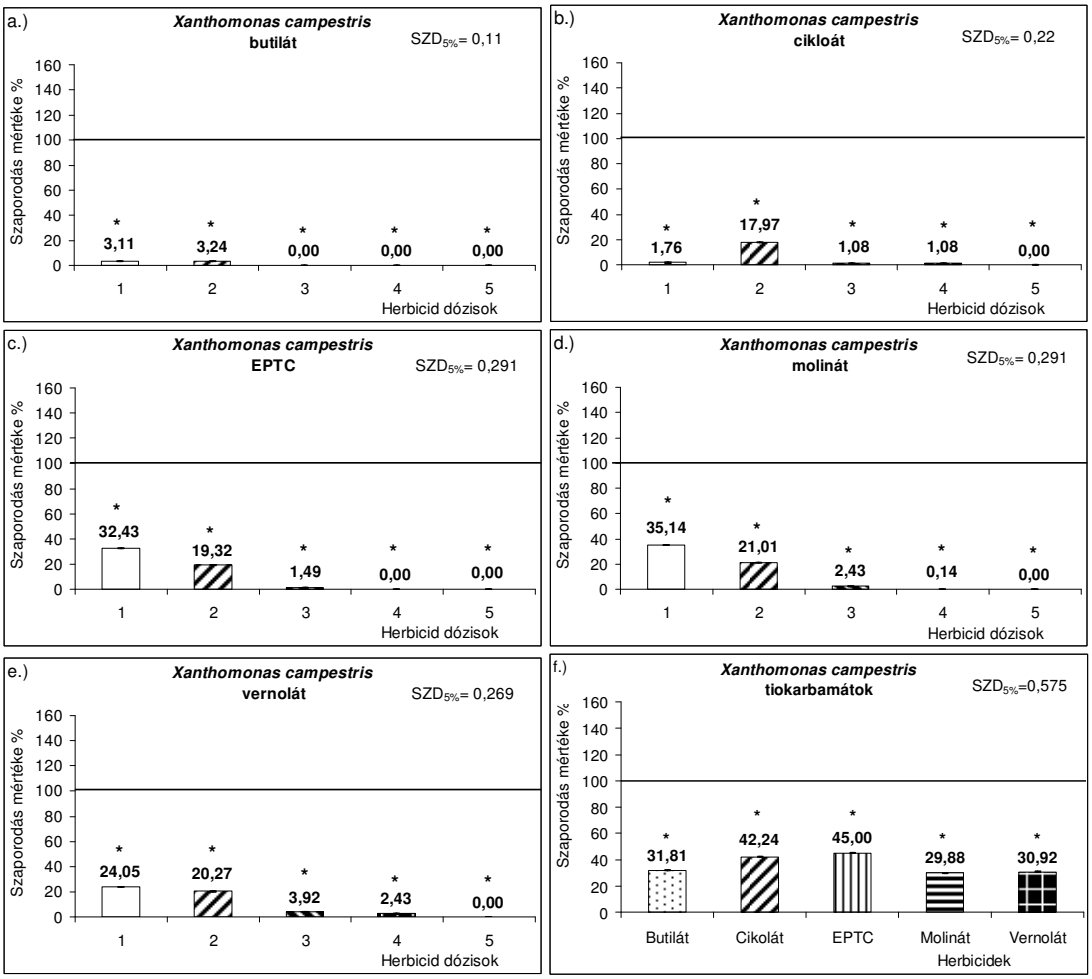
m-4. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Pseudomonas aeruginosa* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



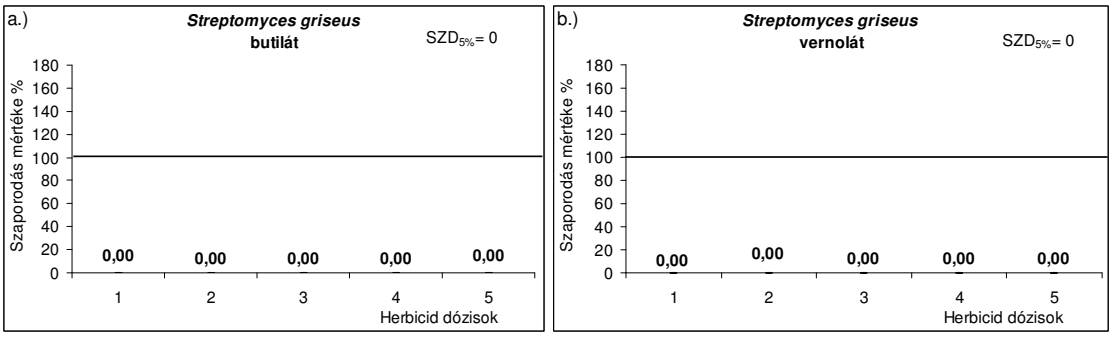
m-5. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Pseudomonas alcaligenes* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



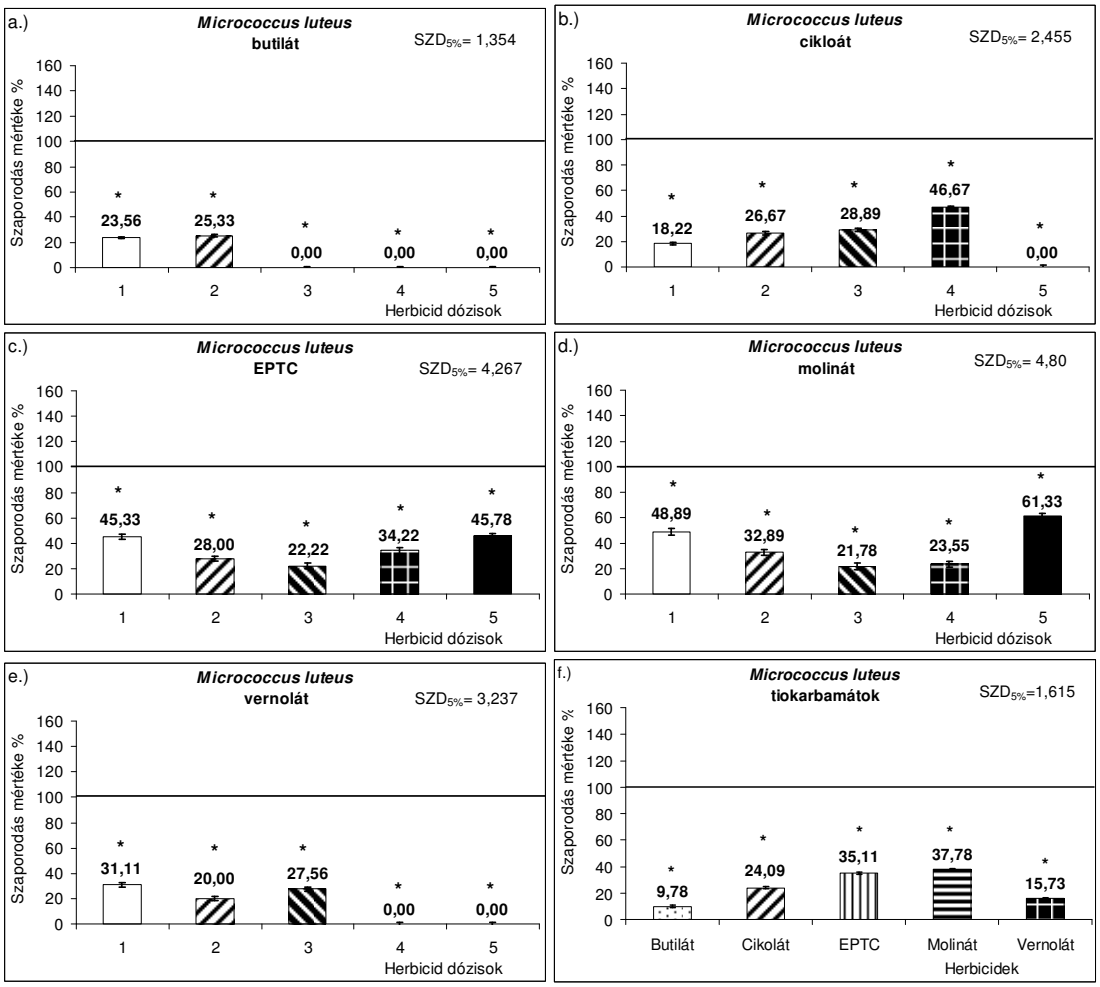
m-6. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása az *Agrobacterium tumefaciens* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel, Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



m-7. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Xanthomonas campestris* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel, Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát átlagos hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



m-8. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel, Herbicidek: a.) butilát, b.) vernolát, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}



m-9. ábra: A tiokarbamát herbicidek növekvő koncentrációinak hatása a *Micrococcus luteus* baktériumtörzs szaporodására mikrofermentoros módszerrel, Herbicidek: a.) butilát, b.) cikloát, c.) EPTC, d.) molinát, e.) vernolát, f.) összes tiokarbamát átlagos hatása, Koncentráció jelölések: 1.) 50-; 2.) 100-; 3.) 250-; 4.) 500-; 5.) 1000 mgL^{-1}

M-2. A statisztikai analízisekhez tartozó variancia táblázatok

Klórszulfuron és tiokarbamát herbicidek összhatása a vizsgált mikroorganizmusokra *in vitro* kísérletben mikrofermentoros módszerrel

Kéttenyezős variancia analízis

(6; 12; 14.a-b;14.c; 25; 26; 27; 28; 29; 30. számú ábrák)

Herbicid	**Klórszulfuron**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	86098,7765	84					
Elrendezés1 (c-b)	10515,8353	4	2628,96	2	9,2	2,5	11,6
Elrendezés2 (d-b)	57293,5765	16	3580,85	2	12,53	1,8	21,4
Maradék (1-2-3)	18289,3647	64	285,77				
Herbicid	**Butilát**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	192656,9882	84					
Elrendezés1 (c-b)	15303,8118	4	3825,95	2	7,55	2,5	15,4
Elrendezés2 (d-b)	144921,7882	16	9057,61	2	17,87	1,8	28,5
Maradék (1-2-3)	32431,3882	64	506,74				
Herbicid	**Cikloát**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	234942,3059	84					
Elrendezés1 (c-b)	3916,3059	4	979,08	2	1,109	2,5	20,4
Elrendezés2 (d-b)	174517,5059	16	10907,34	2	12,35	1,8	37,6
Maradék (1-2-3)	56508,4941	64	882,95				
Herbicid	**EPTC**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	175557,6941	84					
Elrendezés1 (c-b)	35978,6353	4	8994,66	2	13,1	2,5	18,0
Elrendezés2 (d-b)	95634,4941	16	5977,16	2	8,705	1,8	33,1
Maradék (1-2-3)	43944,5647	64	686,63				
Herbicid	**Molinát**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	168799,1059	84					
Elrendezés1 (c-b)	87613,3412	4	21903,34	2	37,92	2,5	16,5
Elrendezés2 (d-b)	44214,3059	16	2763,39	2	4,784	1,8	30,4
Maradék (1-2-3)	36971,4588	64	577,68				
Herbicid	**Vernolát**						
Variancia-forrás	**Négyzet-összeg**	**Szf.**	**S^2**	**t**	**F**	**$F_{0,05}$**	**$SZD_{5\%}$**
Összes (a-b)	196999,2235	84					
Elrendezés1 (c-b)	21974,5176	4	5493,63	2	9,667	2,5	16,35
Elrendezés2 (d-b)	138652,8235	16	8665,80	2	15,25	1,8	30,15
Maradék (1-2-3)	36371,8824	64	568,31				

A klórszulfuron hatása a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (36. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	3,4505	14						
Kezelések (c-b)	3,2742	3	1,09	2,31	49,5	4,1	7,6	0,259
Véletlen (a-c)	0,1764	8	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	5,3445	14						
Kezelések (c-b)	5,0115	3	1,67	2,31	40,14	4,1	7,6	0,356
Véletlen (a-c)	0,3330	8	0,04					

A klórszulfuron hatása a *Actinomyces*-ek csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (37. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	5,6769	14						
Kezelések (c-b)	5,0278	3	1,68	2,31	20,66	4,1	7,6	0,537
Véletlen (a-c)	0,6491	8	0,08					
3 hónap								
Összes (a-b)	1,8742	14						
Kezelések (c-b)	1,7667	3	0,59	2,31	43,8	4,1	7,6	0,219
Véletlen (a-c)	0,1076	8	0,01					

A klórszulfuron hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (38. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	4,3479	14						
Kezelések (c-b)	0,6698	3	0,22	2,31	0,486	4,1	7,6	1,279
Véletlen (a-c)	3,6781	8	0,46					
3 hónap								
Összes (a-b)	6,4728	14						
Kezelések (c-b)	6,2779	3	2,09	2,31	85,89	4,1	7,6	0,294
Véletlen (a-c)	0,1949	8	0,02					

A klórszulfuron hatása a heterotróf baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (39. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	1,4480	14						
Kezelések (c-b)	1,3176	3	0,44	2,31	26,95	4,1	7,6	0,241
Véletlen (a-c)	0,1304	8	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	10,8038	14						
Kezelések (c-b)	10,6854	3	3,56	2,31	240,7	4,1	7,6	0,229
Véletlen (a-c)	0,1184	8	0,01					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz együttes hatása a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (40-41. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	3,6583	17						
Kezelések (c-b)	3,4627	4	0,87	2,23	44,26	3,5	6,0	0,255
Véletlen (a-c)	0,1956	10	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	7,3059	17						
Kezelések (c-b)	7,2096	4	1,80	2,23	187,1	3,5	6,0	0,179
Véletlen (a-c)	0,0964	10	0,01					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz kombinációinak hatása a szabadon élő nitrogénkötő baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (42. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	4,1426	29						
Kezelések (c-b)	3,8035	8	0,48	2,1	25,23	2,5	3,7	0,235
Véletlen (a-c)	0,3392	18	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	13,0589	29						
Kezelések (c-b)	12,6586	8	1,58	2,1	71,15	2,5	3,7	0,256
Véletlen (a-c)	0,4003	18	0,02					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz együttes hatása az *Actinomyces*-ek csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (40-41. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	0,2461	17						
Kezelések (c-b)	0,0863	4	0,02	2,23	1,3491	3,5	6,0	1,3491
Véletlen (a-c)	0,1598	10	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	3,0146	17						
Kezelések (c-b)	2,7106	4	0,68	2,23	22,29	3,5	6,0	0,3
Véletlen (a-c)	0,3040	10	0,03					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz kombinációinak hatása az *Actinomyces*-ek csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (43. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	6,9205	29						
Kezelések (c-b)	6,1388	8	0,77	2,1	17,67	2,5	3,7	0,357
Véletlen (a-c)	0,7817	18	0,04					
3 hónap								
Összes (a-b)	8,2989	29						
Kezelések (c-b)	7,8891	8	0,99	2,1	43,32	2,5	3,7	0,259
Véletlen (a-c)	0,4098	18	0,02					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz együttes hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktérium csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (40-41. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	3,5567	17						
Kezelések (c-b)	2,0384	4	0,51	2,23	3,356	3,5	6	0,709
Véletlen (a-c)	1,5183	10	0,15					
3 hónap								
Összes (a-b)	15,3754	17						
Kezelések (c-b)	15,2360	4	3,81	2,23	273,3	3,5	6	0,215
Véletlen (a-c)	0,1394	10	0,01					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz kombinációinak hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* baktérium csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (44. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	7,9165	29						
Kezelések (c-b)	2,7710	8	0,35	2,1	1,212	2,5	3,7	0,917
Véletlen (a-c)	5,1455	18	0,29					
3 hónap								
Összes (a-b)	20,5999	29						
Kezelések (c-b)	20,3111	8	2,54	2,1	158,3	2,5	3,7	0,217
Véletlen (a-c)	0,2887	18	0,02					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz együttes hatása a kitenyészthető heterotróf baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben. Egytényezős variancia-analízis (40-41. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	3,2224	17						
Kezelések (c-b)	2,9927	4	0,75	2,23	32,58	3,5	6	0,276
Véletlen (a-c)	0,2297	10	0,22					
3 hónap								
Összes (a-b)	17,2185	17						
Kezelések (c-b)	17,0730	4	4,27	2,23	293	3,5	6	0,22
Véletlen (a-c)	0,1455	10	0,01					

A klórszulfuron és kokszolói szennyvíz kombinációinak hatása a kitenyészthető heterotróf baktériumok csíraszámára 3 heti és 3 hónapos hatóidő után tenyészedényes kísérletben Egytényezős variancia-analízis (45. ábra)

Variancia-forrás	Négyzetösszeg	Szf.	S^2	t (95%)	F	$F_{0,05}$	$F_{0,01}$	$SZD_{5\%}$
3 hét								
Összes (a-b)	11,5468	29						
Kezelések (c-b)	11,1881	8	1,40	2,1	70,19	2,5	3,7	0,242
Véletlen (a-c)	0,3587	18	0,02					
3 hónap								
Összes (a-b)	28,9458	29						
Kezelések (c-b)	28,6872	8	3,59	2,1	249,6	2,5	3,7	0,206
Véletlen (a-c)	0,2586	18	0,01					

M-3. Ábrák és táblázatok jegyzéke

I. Ábrák

a.) Az értekezésben szereplő ábrák jegyzéke

1. ábra: A metszulfuron-metil lebomlásának lépései: 21. oldal
2. ábra: A klórszulfuron és metszulfuron-metil köztes bomlástermékei: 21. oldal
3. ábra: A klórszulfuron lebomlásának lépései: 22. oldal
4. ábra: A klórszulfuron kémiai lebomlásának egyik terméke: 23. oldal
5. ábra: A klórszulfuron kémiai szerkezete 38. oldal
6. ábra: A klórszulfuron különböző általunk alkalmazott dózisainak kumulatív hatása 17 mikroorganizmus szaporodására: 46. oldal
7. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a *Rhizobium*-ok szaporodására: 47. oldal
8. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a *Bacillus*-ok szaporodására: 48. oldal
9. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a *Pseudomonas*-ok szaporodására: 48. oldal
10. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a növényi és humán patogén baktériumok szaporodására: 49. oldal
11. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus, S. griseolus* szaporodására: 50. oldal
12. ábra: A klórszulfuron összhatása a vizsgált mikroorganizmusokra: 50. oldal
13. ábra: A klórszulfuron herbicid különböző koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodásának mértékére: 52. oldal
14. a. ábra: A butilát tiokarbamát herbicid különböző általunk alkalmazott dózisainak kumulatív hatása az összes vizsgált mikroorganizmusra: 53. oldal
14. b. ábra: A cikloát, EPTC, molinát, vernolát tiokarbamát herbicidek dózisainak kumulatív hatása az összes vizsgált mikroorganizmusra: 53. oldal
15. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* szaporodásának mértékére: 56. oldal
16. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a *Sinorhizobium meliloti* Lu-K szaporodására: 57. oldal
17. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek különböző koncentrációinak hatása a *Bradyrhizobium (Lupinus)* sp. Csf-75/1: 58. oldal
18. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása az *Azotobacter* spp. baktérium szaporodására: 59. oldal
19. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek különböző koncentrációinak hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* szaporodására: 60. oldal
20. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a *Pseudomonas fluorescens* szaporodására: 61. oldal
21. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása az *Erwinia carotovora* szaporodására: 62. oldal
22. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása az *Escherichia coli* szaporodására: 63. oldal
23. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodására: 64. oldal
24. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseolus* szaporodására: 65. oldal
25. ábra: A butilát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusokra: 66. oldal
26. ábra: A cikloát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusokra: 66. oldal
27. ábra: Az EPTC herbicid összhatása a vizsgált mikroorganizmusokra: 67. oldal
28. ábra: A molinát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusokra: 67. oldal
29. ábra: A vernolát herbicid kumulált hatása a vizsgált mikroorganizmusokra. 68. oldal
30. ábra: A tiokarbamát herbicidek kumulált hatása a mikroorganizmusokra: 68. oldal
31. ábra: A tiokarbamát származék herbicidek koncentrációinak hatása a

Streptomyces griseus szaporodására szárazanyag-tartalom mérés módszerrel: 69. oldal
32. ábra: A klórszulfuron és tiokarbamát herbicidek dózisainak kumulált hatása az összes vizsgált mikroorganizmusra: 70. oldal
33.a-b. ábra: A vizsgált baktériumcsoportok klórszulfuron-érzékenysége: 71. oldal
33. c. ábra: A vizsgált baktériumcsoportok klórszulfuron-érzékenysége, a két időintervallum összesített hatása: 71. oldal
34. ábra: A klórszulfuron különböző dózisainak kumulatív hatása a vizsgált mikro-organizmus csoportok szaporodására 3 hét és 3 hónap hatóidő után *in vivo* 73. oldal
35. ábra: A klórszulfuron különböző dózisainak kumulatív, összesített hatása a mikroorganizmus csoportok szaporodására *in vivo* 73. oldal
36. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak hatása a N_2-kötő baktériumok sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 74. oldal
37. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak hatása az *Actinomyces*-ek sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 74. oldal
38. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak hatása a *Bacillus cereus* var. *mycoides* sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 75. oldal
39. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak hatása a heterotróf baktériumok sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 75. oldal
40. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíznek együttes hatása a mikroorganizmus csoportok sejtszámára 3 hét után *in vivo* 76. oldal
41. ábra: A klórszulfuron növekvő dózisainak és a szennyvíznek együttes hatása a mikroorganizmus csoportok sejtszámára 3 hónap után *in vivo* 77. oldal
42. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak és a szennyvíz kombinációinak hatása a N_2-kötők sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 79. oldal
43. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak és a szennyvíz kombinációinak hatása az *Actinomyces*-ek sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 80. oldal
44. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak és a szennyvíznek kombinációinak hatása a *B. mycoides* sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 81. oldal
45. ábra: A klórszulfuron herbicid dózisainak és a szennyvíz kombinációinak hatása a heterotróf baktériumok sejtszámára 3 hét és 3 hónap után *in vivo*: 82. oldal

b.) Az értekezés mellékletében szereplő ábrák jegyzéke

m-1. ábra: A klórszulfuron herbicid koncentrációinak hatása a *Micrococcus luteus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet i. oldal
m-2. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* Bük-75/4. szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet i. oldal
m-3. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *B. subtilis* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet ii. oldal
m-4. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Pseudomonas aeruginosa* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet ii. oldal
m-5. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Pseudomonas alcaligenes* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet iii. oldal
m-6. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása az *Agrobacterium tumefaciens* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet iii. oldal
m-7. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Xanthomonas campestris* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet iv. oldal
m-8. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Streptomyces griseus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet: iv. oldal
m-9. ábra: A tiokarbamát herbicidek koncentrációinak hatása a *Micrococcus luteus* szaporodására mikrofermentoros módszerrel: M-1. melléklet v. oldal

II. Táblázatok

a.) Az értekezésben szereplő táblázatok jegyzéke

1. táblázat: A klórszulfuron fizikai tulajdonságai és oldhatósága: 8. oldal
2. táblázat: A klórszulfuron toxicitási értékei: 8. oldal
3. táblázat: A kultúrnövények viszonylagos klórszulfuron érzékenysége: 12. oldal
4. táblázat: Az *in vitro* kísérletekben vizsgált mikroorganizmusok: 37. oldal
5. táblázat: a tiokarbamát herbicidek adatai: 39. oldal
6. táblázat: Az *in vitro* kísérlet elrendezése: 39. oldal
7. táblázat: A mészlepedékes csernozjom talaj főbb kémiai tulajdonságai: 40. oldal
8. táblázat: a felhasznált kokszolói szennyvíz vízvizsgálati eredményei: 40. oldal
9. táblázat: Mikroorganizmusok klórszulfuron-érzékenységének összehasonlító értékelése: 51. oldal
10. táblázat: A vizsgált mikroorganizmusok érzékenysége a tiokarbamát herbicidek különböző koncentrációira *in vitro*: 55. oldal
11. táblázat: Kitenyészthető mikroorganizmus csoportok klórszulfuron-érzékenységénekösszehasonlító értékelése *in vivo* 72. oldal
12. táblázat: Kitenyészthető mikroorganizmus csoportok klórszulfuron- és szennyvíz-„érzékenységének” összehasonlító értékelése *in vivo* 78. oldal

b.) Az értekezés mellékletében szereplő táblázatok jegyzéke

M-2. A statisztikai analízisekhez tartozó variancia táblázatok: M-2. melléklet vi-x. oldal