



Die uitwerking van die onkruidodder Roundup® op sommige populasies van grondmikrobes

Authors:

Anélia Marais¹
Michael I. Ferreira¹
Mardé Boooyse²
Alfred Botha³

Affiliations:

¹Institute of Plant Production,
Department of Agriculture,
Western Cape, South Africa

²ARC Biometry, Stellenbosch,
South Africa

³Department of Microbiology,
University of Stellenbosch,
South Africa

Correspondence to:

Anélia Marais

Email:

aneliam@elsenburg.com

Postal address:

Institute of Plant Production,
Department of Agriculture,
Western Cape, Private Bag
X1, Elsenburg 7607,
South Africa

Dates:

Received: 24 Dec. 2010
Accepted: 12 May 2011
Published: 29 Sept. 2011

How to cite this article:

Marais, A., Ferreira, M.I.,
Booyse, M. & Botha, A.,
2011, 'Die uitwerking van
die onkruidodder Roundup®
op sommige populasies
van grondmikrobes',
*Suid-Afrikaanse Tydskrif
vir Natuurwetenskap en
Tegnologie* 30(1), Art. #43,
6 pages. doi:10.4102/
satntv30.i1.43

© 2011. The Authors.
Licensee: OpenJournals
Publishing. This work
is licensed under the
Creative Commons
Attribution License.

Die glifosaatbevattende onkruidodder, Roundup®, word wêreldwyd vir onkruidbeheer gebruik. Alhoewel hierdie onkruidodder beskou word as 'n lae-toksiese (en dus veilige) produk, heers daar tog kommer oor die langdurige effek daarvan op grondmikrobes, plante, diere en die mens. Verskeie artikels in die meer populêre media en internet verwys na die gevare van Roundup®. Grondmikrobes speel 'n belangrike rol in die afbraak van landbouchemikalieë. Daar is boere wat sukrose of melasse as 'n voedselaanvulling vir grondmikrobes gebruik. Sommige boere meng dit ook met onkruidodders ten einde die moontlike nadelige effek daarvan op voordelige grondmikrobes te verminder, deur hulle van 'n eenvoudige koolstofbron te voorsien. Die effek van Roundup®, met en sonder die byvoeging van sukrose, is gedurende hierdie ondersoek bepaal met betrekking tot sommige aspekte van die mikrobiologiese gemeenskappe in die grond. Grondmonsters is by drie geleenthede geneem, naamlik voor behandeling, 'n week daarna en 20 dae daarna. Hierdie grondmonsters is daarna gebruik vir die meting van kweekbare protosoë (mees-waarskynlike-getal) en metaboliese potensiaal van hoofsaaklik die bakteriese grondgemeenskap (Biolog Ecoplate™), terwyl die filamentagtige groei *in situ* (versteekte-plaatjie-tegniek) bepaal is. Die byvoeging van suiker het nie 'n betekenisvolle effek gehad op die werking van die onkruidodder nie. Terwyl Roundup® wel die metabolisme van die grondbakterieë beduidend verander het, het die bakteriegemeenskap na 20 dae, waarskynlik as gevolg van natuurlike prosesse, herstel.

The effect of the herbicide Roundup® on some populations of soil microbes

The glyphosate, Roundup®, is used worldwide to combat weeds, but knowledge about its effect on soil microbes is limited. Even though this commercially available herbicide is usually seen as environmentally safe, there remain concerns about its long-term effect on soil microbes, plants, animals and humans. Several articles about the supposedly harmful effects of Roundup® are available, especially in the more popular media and on the internet. Soil microbes play an important role in the cycling of mineral elements in the soil and the maintenance of a healthy soil microbe community is of utmost importance to farmers. Some farmers are in the habit of using sucrose or molasses as soil amendments, since the use of these easily obtainable carbon sources as food sources for microbes has been documented. Some farmers add these to their herbicides in order to minimise its possible effect on the beneficial microbial populations. The simple carbohydrate acts as possible substrate instead of the root exudates from living plants that usually act as food source for the microbes. In this study, the effect of the glyphosate containing herbicide Roundup® was tested, with and without added sucrose, on certain aspects of soil microbial communities. The soil was sampled at three stages, namely before treatment, 1 week after treatment and 20 days after treatment. These soil samples were used to measure culturable protozoa (most probable number method) and the potential metabolism of the bacterial community (Biolog Ecoplate™), whilst the filamentous growth (buried slide method) was measured *in situ*. Adding sucrose did not contribute significantly to the effect of the herbicide on the microbes. Whilst Roundup® did bring about a significant change in the measured potential metabolism of the bacterial community; the effect had worn off after 20 days, possibly as a result of natural processes.

Inleiding

Veral die fisiese en chemiese eienskappe van grond word reeds baie lank bestudeer, maar tot dusver is daar nog min aandag geskenk aan die mikrobes en veral die antropogeniese effekte daarop (Brussaard *et al.* 1997; Zuberer & Wollum 2005:3–25). Mikrobes speel 'n baie belangrike rol in die afbraak van chemiese middels, waaronder onkruidodders (Brussaard *et al.* 1997; Murphy *et al.* 2003:37–59).

Glifosaat word wêreldwyd as 'n breëspektrum onkruidodder (Duke & Powles 2008; Woodburn 2000) in verskillende formulasies gebruik. Dit word ook beskou as 'n chemiese stof met 'n lae



toksiteit vir mense, diere en mikrobies (Williams, Kroes & Munro 2000). In die populêre media en op die internet is daar egter baie verwysings na die moontlike gevare wat met die gebruik van hierdie onkruidodder gepaard gaan (Erdemir 2010; Isenring 1996; Julius 2002; Laskawy 2010; Releya 2005). Hierdie beweerde gevare wissel van nadelige gevolge op fetale ontwikkeling (Richard *et al.* 2005) tot die immobilisering van voedingstowwe in die grond wat tot voedingstoftekorte in die plante kan lei (Huber 2010; Kremer & Means 2009). Die vervaardiger, Monsanto, se webwerf (Anon 2005) beskryf die glifosaat Roundup[®] as skadeloos vir mense, die meeste diere en mikrobies. Slegs erdwurms word na bewering nadelig daardeur beïnvloed. Die Verenigde State van Amerika se omgewingsbeskermingsagenstkap (Environmental Protection Agency, oftewel EPA) se webwerf is dit eens dat glifosaat skadeloos is vir mens, dier en die omgewing. Powell *et al.* (2009) het in 'n redelik onlangse studie bevind dat glifosaat geen langtermyn nadelige uitwerking op die grondlewe gehad het nie, terwyl ander navorsers (Correia & Moreira 2010; Haney, Sensemen & Hons 2002; Huber 2010; Kremer & Means 2009; Whitelaw-Weckert *et al.* 2004; Yamada *et al.* 2009) wel nadelige uitwerkings op die grond en grondlewe aangeteken het. Die verslag van die 'Pesticide Action Network' meld ook teenstrydige bevindings met betrekking tot navorsing wat gedoen is oor die gevaar, al dan nie, van glifosaat (Buffin & Jewell 2001).

Sommige landbouers gebruik melasse (Story 1939) of suiker (Andersen 2003:252–260; Sutigoolabud *et al.* 2004) as 'n bymiddel wat as 'n teenvoeter vir bogenoemde moontlike nadelige effekte van onkruidodders dien, hetsy direk op die grond of in 'n spuittenk saam met onkruidodder. Ten eerste stimuleer die koolhidraat die groei van sommige grondmikrobies omdat dit as koolstofbron dien. Aangesien mikrobies betrokke is by die afbraak van onder meer onkruidodders, kan stimulasie van die groei van mikrobies die onkruidodder moontlik vinniger laat afbreek (Sutigoolabud *et al.* 2004). Terwyl die plante doodgespuit is en nie worteluitskeidings vorm nie, kan die suiker as voedselbron vir sommige mikrobies dien. Ten tweede kan dit ook dien as bymiddel wat die aktiewe bestanddeel van die onkruidodder makliker aan die plante laat kleef en die effektiwiteit daarvan verhoog. Die effek, al dan nie, van hierdie gebruik is ook met hierdie studie ondersoek. Sukrose is gekies omdat dit 'n eenvoudige en maklik bekomme koolhidraat is en aangesien daar aanduidings is dat sukrose wel die uitwerking van sommige onkruidodders kan verminder (Ramel *et al.* 2007; Sutigoolabud *et al.* 2004). Melasse bevat verskeie minerale (Cleasby 1959), bo en behalwe die koolhidraat, wat die effek al dan nie van die koolhidraat moontlik kan verbloem.

Swamme het 'n hoë metaboliese potensiaal, wat dit geskik maak as indikator vir negatiewe effekte (Mandić, Đukić & Đorđević *et al.* 2005; Nielsen & Winding 2002). Aktinomisete (filamentagtige bakterieë) met die vermoë om sekere oesbeskermingsprodukte af te breek (Jayabarath *et al.* 2010) is geïdentifiseer. Protooë word lankal gebruik as bio-indikatore vir verskeie tipes besoedeling (Henebry & Cairns 1980; Nielsen & Winding 2002) en is gevolglik ook in hierdie

ondersoek ingesluit. Die gebruik van die Biolog Ecoplate[™]-stelsel om veranderinge in veral die bakteriële gemeenskappe aan te toon, is omvattend gedokumenteer (Garland 1998; Marais *et al.* 2010). Dit word ook spesifiek vir die aanduiding van besoedelende stowwe in die grond gebruik (Broché 2010; Tiqua 2010; Tischer, Tanneberg & Guggenberger 2008).

Voorheen is bevind dat aspekte soos filamentagtige groei in grond, wat swamme en aktinomisete insluit, asook die metaboliese potensiaal soos bepaal deur die Biolog Ecoplate[™]-stelsel, 'n reaksie toon tydens wisselboupraktieke (Marais *et al.* 2010). In die lig van bogenoemde gesien en die soms teenstrydige gegewens rakende die gebruik van glifosaat, is besluit om die uitwerking van Roundup[®] op filamentagtige groei, protooëgetalle en metaboliese potensiaal, soos bepaal deur die Biolog Ecoplate[™]-stelsel, te ondersoek. Daar is ook besluit om terselfdertyd die effek, al dan nie, van sukrose (in die vorm van kommersieel beskikbare suiker) as 'n bymiddel in die Roundup[®]-toedienings op hierdie aspekte te bepaal. Met hierdie studie is die volgende aspekte van grondmikrobiologie gemeet:

- filamentagtige groei, wat die swamme en aktinomisete insluit
- 'n aanduiding van die protooëgemeenskap in die grond
- die metaboliese potensiaal van hoofsaaklik die bakteriële grondgemeenskap.

Materiaal en metodes

Proefuitleg

Die proefperseel van 20 m x 30 m is op 'n navorsingsplaas van die Departement van Landbou, Wes-Kaap, naamlik Elsenburg, (33°84'S; 18°83'O) uitgelê, op 'n stuk grond wat op daardie stadium in onbruik was.

Die eksperimentele uitleg het bestaan uit 'n ewekansige blokontwerp (alle behandelings in alle blokke) met die vier behandelings ewekansig aan die ses blokke toegeken. Ses rye van vier blokke van 2 m x 3 m elk is afgemerk en ewekansig verdeel tussen die vier behandelings.

Vyf grondmonsters is met behulp van 'n metaalsilinder, 40 mm in deursnee en 150 mm diep, in elk van die onderskeie proefpersele geneem en by laer as 10 °C geberg tot dit gebruik is (binne 'n week na monsterneming). Die vyf grondmonsters van elke perseel is saamgevoeg, goed gemeng en die grond vir die mikrobiële analises is hieruit geneem.

Hierdie eerste grondmonsters is net voor die uitvoering van die behandelings geneem en het as basislyn gedien. Hierna is die verskillende mengsels met kraanwater aangemaak en toegedien, naamlik:

- kontrole (slegs water)
- water + 1 kg/ha suiker
- Roundup[®] (Roundup SL[®] glifosaat-isopropielamien en 360 g/L) teen 3 L/ha
- Roundup[®] teen 3 L/ha + 1 kg/ha suiker.



'n Rugsakspuit wat gekalibreer is om 3 L/ha te lewer, is gebruik vir toediening van die verskillende mengsels. 'n Spesifieke protokol met betrekking tot die chronologie van die eksperiment, is gevolg (Tabel 1).

Filamentagtige groei

Filamentagtige groei is gemeet met behulp van die metode soos beskryf deur Marais *et al.* (2010). Twee skoon glas mikroskoopvoorwerpglasies is met maskeerband aan die een kant op mekaar vassegeplak. Hierdie glasies is op 'n diepte van 10 cm regop begrawe en vir 2 weke so gelaat. Die voorafbehandeling se voorwerpglasies is 14 dae voor die behandelingsdatum begrawe. Na 2 weke is die voorwerpglasies versigtig uit die grond gelig, die oortollige grond aan die buitekant is skoongevee en die maskeerband verwyder. Die binneoppervlaktes is daarna onder 'n ligmikroskoop ondersoek by 100 x vergroting. Op elke voorwerpglasie is 20 mikroskoopvelde ondersoek, dus 'n totaal van 40 velde per monster. Indien enige groei waargeneem is, is dit as '1' aangeteken, terwyl geen groei 'n waarde van '0' ontvang het. Die velde wat groei getoon het, is vervolgens as 'n proporsie van die totale aantal velde bereken.

Daar is nie onderskeid getref tussen die filamente van aktinomisete en swamme nie. Een stel voorwerpglasies is vir elke perseel gebruik.

Protosoë soos bepaal deur die mees-waarskynlike-getal-metode

Die riglyne vir die metode bekend as die mees-waarskynlike-getal (MWG) word beskryf deur Rønn, Eklund en Christensen (1995). 'n Steriele grondekstrak word as voedselbron vir die protosoë gebruik. 'n Verdunningsreeks van grond is vir 5 dae by kamertemperatuur geïnkubeer alvorens direkte tellings by 100 x vergroting van 'n omgekeerde mikroskoop (die objektief en okulêr se posisies is omgeruil) getel is. Die tellings is daarna, met behulp van formules soos beskryf deur Briones en Reichardt (1999), verwerk tot die log van 'n beraamde populasiegrootte van protosoë in die grond.

Metaboliese potensiaal soos bepaal met die Biolog Ecoplate™-stelsel

Meting met behulp van die Biolog Ecoplate™-stelsel bied 'n geheelbeeld van die metaboliese potensiaal, ook bekend as fenotipering (Garland 1998), van veral die bakteriese grondgemeenskap. 'n Grondoplossing is voorberei deur 10 g grond by 90 mL steriele gedistilleerde water te voeg en vir 10 minute te skud, waarna 'n 1 mL-alikwot verwyder is en in 9 mL steriele gedistilleerde water gehersuspendeer is. Dit is vir 2 ure laat staan, waarna 100 µL-hoeveelhede gebruik is om die putte van die plate te inokuleer. Die plate is daarna vir 48 uur in die donker by 26 °C geïnkubeer, waarna die kleurverandering al dan nie, aangeteken is.

Statistiese analises

Die data is verdeel in aaneenlopende veranderlikes van proporsie filamentagtige groei en die log van die geskatte

protosoëgrootte asook binêre (aanwesig of afwesig) veranderlikes van Biolog Ecoplate™. Tyd is in die model ingesluit as 'n subplotfaktor, soos beskryf deur Little en Hills (1972). Die Student *t*-toets (Ott 1993) by $P = 0.05$ (5% betekenisvolle vlak) is toegepas ten einde die verskille tussen die behandelings te bereken. Die aanvaarding dat die residu van die aaneenlopende data normaal verdeel is, is aan Shapiro Wilk se nie-normaliteitstoets onderwerp. Die statistiese program SAS (SAS Institute, Inc. 2008) is gebruik vir die analise van variansie en om die Student *t*-toets toe te pas.

Twee multiveranderlike tegnieke (Rencher 2002) is gebruik om die Biolog Ecoplate™-data te ontleed. 'n Trosanalyse met Ward se metode, is gebruik om na patrone te soek deur die meerveranderlike data in groepe of trosse te groepeer. Hierdie tegnieke is met die rekenaarprogram XLSTAT (Anon 2008) uitgevoer.

In Biolog Ecoplate™ (Biolog, Haywood, CA, USA) word 31 koolstofbronne in mikroputte aan die mikrobies voorsien. Die verbruik van 'n spesifieke koolstofbron word dan deur die reduksie van 'n tetrasoliumkleurstof aangedui. Die patroon van verbruik is gevolglik 'n aanduiding van die metaboliese potensiaal van die mikrobies, meestal bakterieë, wat in die gemeenskap aanwesig is. Sodra hierdie patroon van verbruik verander, dui dit 'n verandering in die gemeenskap aan.

Resultate en bespreking

Behandelingseffek

Die verskillende behandelings het wel die gemete grondorganismes beïnvloed (Tabel 2), aangesien die grondmonsters wat na die bespuiting geneem is (02 Maart 2009), beduidend van die voriges verskil het. Alhoewel Roundup® + suiker ietwat verskil het van die ander behandelings op 02 Maart 2009, was dit nie beduidend nie, soos aangetoon deur dieselfde letter, naamlik A, wat by al die behandelings voorkom. Die behandelings op 02 Maart 2009 het egter van al die behandelings voor, en 20 dae na, die behandeling verskil, soos aangedui deur die verskillende letters.

Filamentagtige groei

Die tellings van filamentagtige groei is 'n aanduiding van die hoeveelheid mikroskopiese swamme en aktinomisete in

TABEL 1: Chronologie van eksperiment.

Datum	Aksie
03/02/2009	Eerste stel voorwerpglasies begrawe
17/02/2009	Eerste stel voorwerpglasies uitgehaal
20/02/2009	Tweede stel voorwerpglasies begrawe
23/02/2009	Eerste stel grondmonsters geneem voor bespuiting Bespuiting
02/03/2009	Tweede stel grondmonsters geneem
06/03/2009	Tweede stel voorwerpglasies uitgehaal
15/03/2009	Eerste stel grondmonsters geneem Derde stel voorwerpglasies begrawe
27/03/2009	Derde stel voorwerpglasies uitgehaal

Bron: Oorspronklike data

**TABEL 2:** Wisselwerking tussen tyd x behandeling, ongeag die organisme, soos verkry met Student se *t*-toets by $P = \pm 0.05$ en $LSD = \pm 4.8759$.

Datum	Kontrole	Kontrole + sukrose	Roundup®	Roundup®+sukrose
23/02	17.333 ^{BC}	13.333 ^{CDE}	14.833 ^{CDE}	17.000 ^{BCD}
02/03	20.333 ^{AB}	20.000 ^{AB}	20.833 ^{AB}	22.500 ^A
15/03	11.667 ^E	12.167 ^{ED}	14.500 ^{CDE}	17.500 ^{BC}

Bron: Oorspronklike data

P, statistiese waarskynlikheid; LSD, Kleinste beduidende verskil.

A, B, C, D, E en kombinasies daarvan is 'n produk van die statistiese ontleding. Syfers met dieselfde letters verskil nie beduidend nie.

die grond teenwoordig (Marais *et al.* 2010). Die veranderinge met tydsverloop is grafies voorgestel (Figuur 1). Die lyn wat die resultate van die kontrole se waardes verteenwoordig, was heelwat laer as dié van die lyn wat die waardes van kontrole + sukrose aandui en het ongeveer inverse patrone gevolg. Alhoewel daar statisties geen verskille was nie, is daar tog 'n tendens van teenoorgestelde reaksies. Die lyn wat die resultate van Roundup® + sukrose-behandeling verteenwoordig, het naasteby dieselfde patroon gevolg as dié van die kontrole. Die lyn verteenwoordigend van die behandeling van Roundup® alleen se resultate, het 'n toename oor die tydperk getoon, wat moontlik verklaar kan word deurdat die filamentagtiges op die verhoging in dooie organiese materiaal na die bespuiting met Roundup® gereageer het. Swamme (Djarwanto & Tachibana 2009) sowel as aktinomisete (Sims 1990), het die vermoë om sellulose en lignosellulose af te breek wat in die dooie plantmateriaal voorkom en die dooie plante sou dus as substraat vir hierdie organismes kon dien.

Toevoeging van sukrose kon die bakterieë aanvanklik bevoordeel het ten opsigte van die swamme (Fierer & Bradford 2007; Jaeger *et al.* 1999) en kon dus die balans tussen bakterieë en swamme beïnvloed het. Aan die einde van die tydperk, egter, sou daar nie meer suiker in die grond oorgebly het nie en die swamme sou gereageer het op die verhoogde vlakke van dooie organiese materiaal.

Net soos in die geval van die protosoë, toon die Student *t*-toets (Tabel 3) min beduidende verskille tussen die behandelings, behalwe tussen die kontrole en Roundup® + sukrose.

Protosoë

Die resultate van die effek van die behandelings op die geskatte protosoëbevolking per gram grond, is getabelleer (Tabel 3) en grafies voorgestel (Figuur 2).

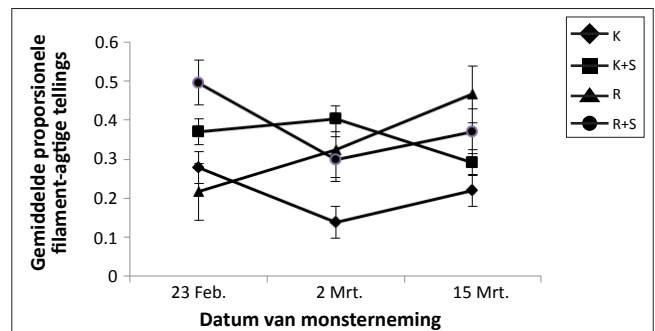
Die behandeling waar suiker alleen toegedien is, het 'n beduidende verskil aan die protosoëtellings gemaak (Tabel 3), alhoewel dit nie die effek van die Roundup® beduidend beïnvloed het nie. Geen merkwaardige tendens is geïdentifiseer tydens die proeftydperk nie. Die effense styging (Figuur 2) in die lyn wat die resultate van die kontrole + sukrose-behandeling verteenwoordig, kan moontlik dui op 'n aanvanklike stimulasie van die bakteriebevolking as gevolg van die suiker. Soortgelyke resultate is deur Fierer en Bradford (2007) en Jaeger *et al.* (1999) verkry. Bakterieë dien dikwels as voedselbron vir verskeie protosoë (Clarholm 1981; Rønn, Ekclund & Christensen 1995). Dit volg dat die styging in die bakteriële telling kon gelei het tot 'n styging in die geskatte protosoëstelling as gevolg van die groter beskikbaarheid van voedsel, in hierdie geval bakterieë. Aan

die einde van die proeftydperk, toe die effek van die suiker afgeneem het, het die protosoëstelling weer teruggekeer na die populasietelling soos voor die behandeling.

Metaboliese potensiaal van die grondbakterieë soos gemeet met die Biolog Ecoplate™-stelsel

Die gebruik van beskikbare koolstofbronne is 'n aanduiding van die metaboliese potensiaal van hoofsaaklik die bakteriese grondgemeenskap (Garland 1998). In hierdie studie het duidelike groeieringspatrone na vore gekom wat beduidend verskil het oor die proeftydperk (Figuur 3). Geen spesifieke groeieringspatrone het na vore gekom by die monsters wat op 23 Februarie 2009 geneem is nie (data nie ingesluit nie). Dis te verstane, aangesien hierdie grondmonsters voor die behandelings geneem is.

Die monsters wat op 02 Maart geneem is (Figuur 3), 'n week na die behandeling, het egter duidelik in drie hoofklasse gegroepeer. Vyf van die ses monsters wat aan Roundup® alleen blootgestel was, het as hulle eie klas gegroepeer. Vier van die ses Roundup® + sukrosemonsters het in dieselfde subgroep gegroepeer, met nog een in dieselfde hoofgroep, alhoewel hier ook ander behandelings gegroepeer het.



Bron: Oorspronklike data

K, kontrole; K+S, kontrole + suiker; R, Roundup®; R + S, Roundup® + suiker.

Verandering oor tyd van tellings was nie betekenisvol nie. Vertikale balkies verteenwoordig standaardafwyking.

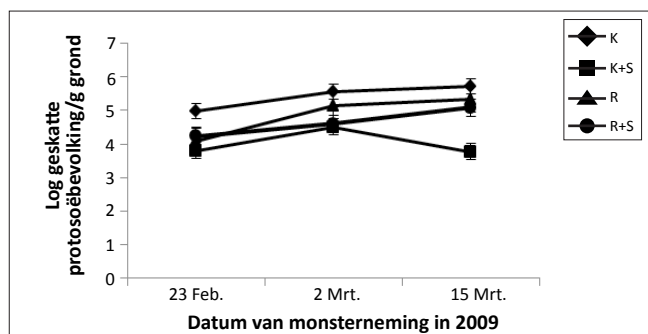
FIGUUR 1: Student *t*-toets by $P = 0.05$ wat veranderinge van gemiddelde proporsionele filamentagtige tellings oor tyd reflekteer.**TABEL 3:** Student *t*-toets by $P = 0.05$.

Behandeling	Filamentagtiges	Protosoë
Kontrole	0.21250 ^B	5.4138 ^A
Roundup®	0.33611 ^{AB}	4.8136 ^{AB}
Roundup® + sukrose	0.40000 ^A	4.6354 ^{AB}
Kontrole + sukrose	0.35556 ^{AB}	3.9977 ^B
Kleinste beduidende verskil	LSD = ± 0.151	LSD = ± 0.8491

Bron: Oorspronklike data

A, B, en kombinasies daarvan is 'n produk van die statistiese ontleding. Syfers met dieselfde letters verskil nie beduidend nie; LSD, Kleinste beduidende verskil.

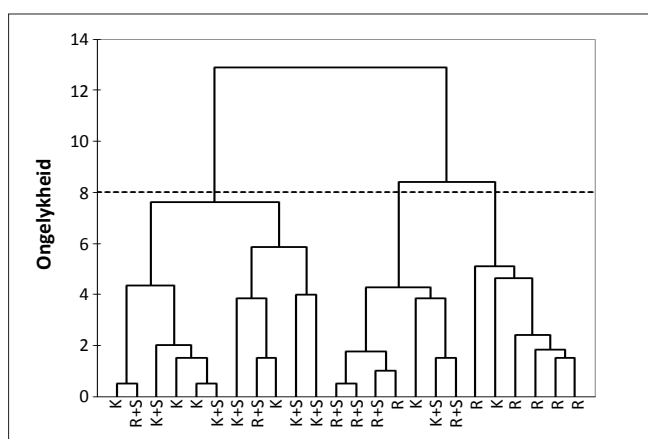
Die invloed van die behandelings op die gemete mikrobes (proporsionele filamentagtige tellings en log van geskatte protosoëbevolking per gram grond). Syfers met dieselfde letters verskil nie beduidend nie.



Bron: Oorspronklike data

K = kontrolle; K + S = kontrolle + suiker; R = Roundup®; R + S = Roundup® + suiker. Veranderinge oor tyd in reaksie op verskillende behandelings was nie statisties beduidend nie. Vertikale balkies verteenwoordig standaardafwyking.

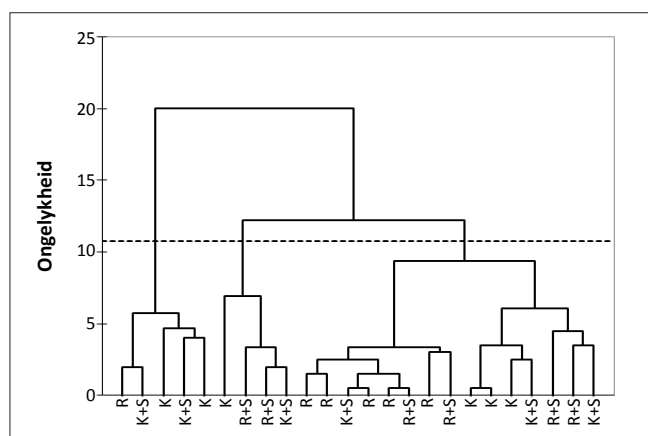
FIGUUR 2: Student *t*-toets by $P = 0.05$ wat veranderinge oor tyd van die log van die geskatte protosoëbevolking per gram grond reflekteer.



Bron: Oorspronklike data

K = kontrolle; K + S = kontrolle + suiker; R = Roundup®; R + S = Roundup® + suiker.

FIGUUR 3: Dendrogram van groepering van Biolog Ecoplate™-data op 02 Maart 2009 wat 'n aanduiding is van die verandering in die metaboliese potensiaal van die grondbakterieë, soos aangedui deur koolstofverbruik.



Bron: Oorspronklike data

K = kontrolle; K + S = kontrolle + suiker; R = Roundup®; R + S = Roundup® + suiker.

FIGUUR 4: Dendrogram van groepering van Biolog Ecoplate™-data op 15 Maart 2009 wat 'n aanduiding is van die verandering in die metaboliese potensiaal van die grondbakterieë, soos aangedui deur koolstofverbruik.

Hieruit kan afgelei word dat Roundup® die metaboliese potensiaal van die bakteriese grondgemeenskap verander het. Dit blyk ook hieruit dat suiker wel 'n effek op die bakterieë het, aangesien die behandelings met Roundup® + suiker ook meestal afsonderlik gegroep het.

Die dendrogram van grondmonsters wat op 15 Maart, meer as 2 weke na die behandeling geneem is, het weer eens geen spesifieke groeperingspatrone getoon nie (Figuur 4). Dit blyk dus asof die effek van Roundup® na 20 dae deur natuurlike prosesse in hierdie spesifieke grond opgehef is.

Gevolgtrekkings

Roundup® het die metaboliese potensiaal van die grondorganismes verander, hoofsaaklik bakterieë, soos deur die Biolog Ecoplate™-stelsel bepaal. Na 20 dae het die metaboliese potensiaal van die bakteriese grondgemeenskap herstel, maar filamentagtige groei is tot aan die einde van die waarnemingsperiode bevoordeel.

Die protosoëgetalle, soos bepaal deur die MWG-metode, het nie beduidend verander nie. Daar moet egter in gedagte gehou word dat spesifieke spesies van swamme, aktinomisete, bakterieë en protosoë wel deur die bespuiting beïnvloed kon word, maar dat dit nie in hierdie studie ondersoek is nie. Die byvoeging al dan nie, van sukrose by Roundup®, het ook nie beduidende verskille by die getalle van die gemete organismes veroorsaak nie, alhoewel daar 'n tendens van stimulasie van die filamentagtiges was in vergelyking met die kontrolebehandeling.

Dit sou sinvol wees om hierdie ondersoek uit te brei na spesifieke mikrobiële spesies, verskillende seisoene en verskillende grondsoorte. Die effek al dan nie van melasse, wat heelwat minerale voedingstowwe naas koolhidrate bevat (Cleasby 1959), behoort ook ondersoek te word. Aangesien glifosaat 'n sterk cheleerder van metale is (Huber 2010), sou dit ook sinvol wees om die effek al dan nie op die minerale voeding te toets, en dan wel oor 'n langer tydperk.

Erkenning

Die outeurs bedank graag die Departement Landbou, Wes-Kaap, vir die befondsing van die projek. Hulle spreek ook hulle waardering uit vir die bystand van Leonard Roberts, van die Departement Landbou, ten opsigte van die tegniese werk.

Outeursbydrae

A.B. het mikrobiologiese inligting voorsien en gehelp met die interpretasie van data. M.I.F., as onkruidwetenskaplike, het gehelp met die uitvoer van die proef, asook inligting verskaf rondom die werking van glifosaat. M.B., as biometriekus, het gehelp met die statistiese ontleding en interpretasie van data.

Literatuurverwysings

- Andersen, A., 2003, 'Human Health' [Gesondheid van die mens], in G. Sait (ed.), *Nutrition rules! Guidelines from the master consultants*, pp. 252–260, Soil Therapy Pty Ltd, Queensland, Australia.
- Anon, 2005, 'Glyphosate background materials' [Glifosaat agtergrondinligting], *Monsanto*, viewed 25 October 2010, from www.monsanto.com/products/documents/glyphosate-background-materials
- Anon, 2008, *XLStat*, Addinsoft, Paris.
- Briones, A.M. Jr. & Reichardt, W., 1999, 'Estimating microbial population counts by 'most probable number' using Microsoft Excel' [Skatting van mikrobegetalle deur middel van die 'mees-waarskynlike-getal-metode' met Microsoft Excel], *Journal of Microbiological Methods* 35, 157–161.



- Broché, S., 2010, 'Effects of pharmaceuticals on natural microbial communities: Tolerance development, mixture toxicity and synergistic interactions' [Die effek van farmaseutiese middels op natuurlike mikrobiese gemeenskappe: Ontwikkeling van toleransie, toksisiteit as gevolg van vermenging en medewerkende interaksies], PhD-thesis, Dept. of Plant and Environmental Science, University of Gothenburg, viewed 25 October 2010, from http://gupea.ub.gu.se/bitstream/2077/23156/1/gupea_2077_23156_1.pdf
- Brussaard, L., Behan-Pelletier, V.M., Bignell, D.E., Brown, V.K., Didden, W., Folgarait, P., et al., 1997, 'Biodiversity and ecosystem functioning in soil' [Biodiversiteit en die funksionering van 'n ekosisteem in grond], *Ambio* 26, 563–570.
- Buffin, D. & Jewell, T., 2001, 'Health and environmental impacts of glyphosate: The implications of increased use of glyphosate in association with genetically modified crops' [Gesondheid- en omgewingsimpak van glifosaat: Die implikasie van 'n toename in die gebruik van glifosaat tesame met geneties gemanipuleerde gewasse], *The Pesticide Action Network UK*, viewed on 23 May 2011 from http://www.foe.co.uk/resources/reports/impacts_glyphosate.pdf
- Clarholm, M., 1981, 'Protozoan grazing bacteria in soil – impact and importance' [Protozoë wat op grondbakterië wei – impak en belangrikheid], *Microbial Ecology* 7, 343–350.
- Cleasby, T.G., 1959, *Use of molasses on the land: A report of four experiments being carried out by the Tongaat Sugar Company, Ltd., 1959* [Die gebruik van melasse op landerye: 'n Verslag van vier eksperimente deur die Tongaat Suiker Maatskappy, Bpk.], viewed 23 May 2011 from, www.sasta.co.za/wp.../1959_cleasby_use%20of%20molasses%20on.pdf
- Correia, F.W. & Moreira, J.C., 2010, 'Effects of glyphosate and 2,4-D on earthworms (*Eisenia foetida*) in laboratory tests' [Die effek van glifosaat en 2,4-D op erdwurms (*Eisenia foetida*) in laboratoriumtoetse], *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 85(3), 264–268.
- Djarwanto & Tachibana, S., 2009, 'Screening of fungi capable of degrading lignocellulose from plantation forests' [Keuring van swamme wat lignosellulose in plantasies kan afbreek], *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12(9), 669–675.
- Duke, S.O. & Powles, S.B., 2008, 'Mini review Glyphosate: a once-in-a-century herbicide' [Mini-oorsig Glifosaat: onkruidodder van die eeu], *Pest Management Science* 64, 319–325.
- Erdemir, S.M., 2010, 'Deleterious effects of Roundup' [Nadelige uitwerking van Roundup], *Gardenguides.com*, viewed 25 October 2010, from <http://www.gardenguides.com/107805-deleterious-effects-roundup.html>
- Fierer, N. & Bradford, M.A., 2007, 'Toward an ecological classification of soil bacteria' [Op pad na 'n ekologiese klassifikasie van grondbakterië], *Ecology* 88(6), 1354–1364.
- Garland, J.L., 1998, 'Potential and limitations of BIOLOG for microbial community analysis' [Die potensiaal en beperkings van BIOLOG in die analise van mikrobiese gemeenskappe], in C.R. Bell, M. Brylinsky & P. Johnson-Greene (eds.), *Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology 1998*, pp. 521–527, Atlantic Canada Society for Microbial Ecology, Halifax, UK.
- Haney, R.L., Sensemen, S.A. & Hons, F.M., 2002, 'Effect of Roundup Ultra on microbial activity and biomass from selected soils' [Die effek van Roundup Ultra op mikrobiese aktiwiteit en biomassa van geselekteerde grondmonsters], *Journal of Environmental Quality* 31, 730–735.
- Henebry, M.S. & Cairns, J. Jr., 1980, 'Monitoring of stream pollution using protozoan communities on artificial substrates' [Monitoring van besoedeling in waterstrome deur protozoongemeenskappe op kunsmatige substrate te gebruik], *Transactions of the American Microscopical Society* 99(2), 151–160.
- Huber, D.M., 2010, 'Agriculture chemical and crop nutrient interactions – current update' [Landbouchemiese en -gewasvoedinginteraksies – huidige opdatering], *Fluid Fertilizer Forum*, Scottsdale, AS, February 14–16, Vol. 27, Fluid Fertilizer Foundation, Manhattan, KS.
- Isernig, R., 1996, 'Glyphosate factsheet' [Glifosaat inligtingstuk], *Pesticide News* 33, 28–29.
- Jaeger III, C.H., Lindow, S.E., Miller, W., Clark, E. & Firestone, M.K., 1999, 'Mapping of sugar and amino acid availability in soil around roots with bacterial sensors of sucrose and tryptophan' [Beskrywing van suiker- en aminosuurbesikbaarheid in die grond rondom wortels deur middel van bakteriese sensore van suikrose en triptofaan], *Applied and Environmental Microbiology* 65(6), 2685–2690.
- Jayabharath, J., Musfira, A.A., Giridhar, S., Sundar, S.S. & Arulmurugan, R., 2010, 'Biodegradation of carbofuran pesticide by saline soil actinomycetes' [Biodegradering van karbofuraanonkruidodder deur soutgrond aktinomisette], *International Journal of Biotechnology and Biochemistry* 6(2), 187–192.
- Julius, H., 2002, 'The glyphosate threat 1 [Die glifosaatbedreiging I]', *The Rivermouth Action Group Inc*, viewed 25 October 2010, from www.rwg.org.au/modifiedfoods/roundup1.htm
- Kremer, R.J. & Means, N.E., 2009, 'Glyphosate and glyphosate-resistant crop interactions with rhizosphere microorganisms' [Interaksies tussen glifosaat en glifosaat-weerstandige gewasse, en risosfeermikrobes], *European Journal of Agronomy* 31(3), 153–161.
- Laskawy, T., 2010, 'Soil: not Roundup ready – USDA (United States Department of Agriculture) downplays own scientists' research on ill effects of Monsanto herbicide' [Grond: nie gereed vir Roundup nie – VSDL (Verenigde State se Departement van Landbou) misken hulle eie wetenskaplikes se navorsing oor die nadelige effek van Monsanto onkruidodder], *Grist*, viewed 25 October 2010, from <http://www.grist.org/article/usda-downplays-own-scientists-research-on-danger-of-roundup/>
- Little, T.M. & Hills, F.J., 1972, *Statistical Methods in Agricultural Experimentation* [Statistiese Metodes in Landbou-eksperimentering], University of California, Davis, CA.
- Mandić, L., Đukić, D. & Đorđević, S., 2005, 'Soil fungi as indicators of pesticide soil pollution' [Grondswamme as aanwysers van onkruidodder-grondbesoedeling], *Proceedings Natural Science, Matrica Srpska Novi Sad* 109, 97–102.
- Marais, A., Hardy, M.B., Morris, C.D. & Botha, A., 2010, 'Measuring culturable microbial populations and filamentous microbial growth in soil of wheat plots subjected to crop rotation and monoculture' [Meting van kweekbare mikrobiese populasies en filamentagtige mikrobiese groei in die grond van koringlande waar wisselbou en monokultuurverbouing toegepas word], *South African Journal of Plant and Soil* 27(2), 133–141.
- Murphy, D.V., Stockdale, E.A., Brookes, P.C. & Goulding, K.W.T., 2003, 'Impact of microorganisms on chemical transformation' [Die impak van mikrobes op chemiese verandering], in L.K. Abbot & D.V. Murphy (eds.), *Soil Biological Fertility – A Key to Sustainable Land Use in Agriculture*, pp. 37–59. Kluwer Academic, The Netherlands.
- Nielsen, M.N. & Winding, A., 2002, 'Microorganisms as indicators of soil health' [Mikrobes as aanduiders van grondkwaliteit], National Environmental Research Institute, Denmark, Technical report no. 388.
- Ott, R.L., 1993, *An Introduction to Statistical methods and data analysis* [‘n Inleiding tot Statistiese metodes en data-analises], Duxbury Press, Belmont, CA.
- Powell, J.R., Levy-Booth, D.J., Gulden, R.H., Asbil, W.L., Campbell, R.G., Dunfield, K., et al., 2009, 'Effects of genetically modified, herbicide-tolerant crops and their management on soil food web properties and crop litter decomposition' [Die gevolge van geneties gemanipuleerde, onkruidodderbestande gewasse en die bestuur daarvan, op grond-voedselweb eienskappe en die ontbinding van gewasreste], *Journal of Applied Ecology* 46, 388–396.
- Ramel, F., Sulman, C., Cabello-Hurtado, F., Taconnat, L., Marting-Magniette, M-L., Renou, J-P., et al., 2007, 'Genome-wide interacting effects of sucrose and herbicide-mediated stress in *Arabidopsis thaliana*: Novel insights into atrazine toxicity-induced tolerance' [Interaksie van suikrose en onkruidodderdruk in *Arabidopsis thaliana* oor die spektrum van die genoom: Nuwe insigte met betrekking tot die toleransie vir atrazientoksiteit], *BMC Genomics* 8, 450–470.
- Releya, R.A., 2005, 'The lethal impact of Roundup on aquatic and terrestrial amphibians' [Die dodelike uitwerking van Roundup op water- en land-amfibieë], *Ecological Applications* 15(4), 1118–1124.
- Rencher, A.C., 2002, *Methods of Multivariate Analysis* [Metodes vir Multiveranderlike Analise], 2nd edn., John Wiley & Sons Publication, Canada.
- Richard, S., Moslemi, S., Sipahutar, H., Benachour, N. & Seralini G-E., 2005, 'Differential effects of glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase' [Differensiële effekte van glifosaat en Roundup op menslike plasentale selle en op aromatase], *Environmental Health Perspectives* 113, 716–720.
- Rønn, R., Eklund, F. & Christensen, S., 1995, 'Optimizing soil extract and broth media for MPN-enumeration of naked amoeba and heterotrophic flagellates in soil' [Optimalisering van grondekstrak en voedingsmedia vir MWG (mees waarsynlike getal)-tellings van naak amebe en heterotrofiese sweepdiertjies in grond], *Pedobiologia* 39, 10–19.
- SAS Version 9.2, 2008, computer software, SAS Institute Inc., Cary, NC
- Sims, G.K., 1990, 'Biological degradation of soil' [Biologiese afbreking van grond], in R. Lal & B.A. Stewart (eds.), *Advances in Soil Science, Vol II: Soil degradation*, pp. 289–329, Springer-Verlag New York, Inc., New York.
- Story, C.G., 1939, 'The lasting effects of molasses used as fertilizer' [Die blywende effek van melasse as bemestingstof], *Queensland Agricultural Journal* 52, 310–311.
- Sutigoolabud, P., Senoo, K., Ongprasert, S., Mizuno, T., Tanaka, A., Obata, H., et al., 2004, 'Decontamination of chlorate in Longan plantation soils by bio-stimulation with sugar amendment' [Ontgiftiging van chloraat in longan plantasiegrond deur bio-stimulasie met suikeraanvulling], *Soil Science and Plant Nutrition* 50(2), 249–256.
- Tiqua, S.M., 2010, 'Metabolic diversity of the heterotrophic microorganisms and potential link to pollution of the Rouge River' [Metaboliese diversiteit van heterotrofiese mikrobes en die maontlike verwantskap met die besoedeling van die Rougerivier], *Environmental Pollution* 158, 1435–1443.
- Tischer, S., Tanneberg, H. & Guggenberger, G., 2008, 'Microbial parameters of soils contaminated with heavy metals: assessment for ecotoxicological monitoring' [Mikrobiese parameters van grond wat gekontamineer is met swaarmetale: ontleding vir ekotoksikologiese monitoring], *Polish Journal of Ecology* 56(3), 471–479.
- Whitelaw-Weckert, M., Hutton, R., Rouse, E., & Lamont, R. 2004, 'The effect of herbicides and permanent swards on soil microbial populations in the vineyard' [Die effek van onkruidodders en standhoudende grasvelde op grondbakteriepopulasies in wingerde], in B. Singh (ed.), *Supersoil 2004: Program and Abstracts for the 3rd Australian New Zealand Soils Conference*, University of Sydney, Australia, 2004 December 05–09, viewed 23 May 2011, from www.regional.org.au/au/assisi/supersoil2004
- Williams, G.M., Kroes, R. & Munro I.C., 2000, 'Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans' [Veiligheidsbeoordeling en risikobepaling van die onkruidodder Roundup en sy aktiewe bestanddeel, glifosaat, vir mense], *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 31, 117–165.
- Woodburn, A.T., 2000, 'Glyphosate: Production, pricing and use worldwide' [Glifosaat: Vervaardiging, prysvaststelling en aanwending wêreldwyd], *Pest Management Science* 56, 309–312.
- Yamada, T., Kremer, R.J., De Camargo e Castro, P.R. & Wood, B.W., 2009, 'Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: Threat to agricultural sustainability?' [Die interaksie van glifosaat met fisiologie, voeding en siektes van plante: 'n Bedreiging vir landboukundige volhoubaarheid?], *European Journal of Agronomy* 31(3), 111–113.
- Zuberer, A. & Wollum II, G., 2005, 'Introduction and historical perspective' [Inleiding en historiese perspektief], in D.M. Sylvia, J.J. Fuhrmann, P.G. Hartel & D.A. Zuberer (eds.), *Principles and applications of soil microbiology*, pp. 3–25, 2nd edn., Pearson Prentice Hall, New Jersey.