

Biologisk sønderdeling af ukrudtsmidler i jordbunden

I. Monochloracetat, trichloracetat og dichlorpropionat

Ved H. L. JENSEN

585. beretning fra Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

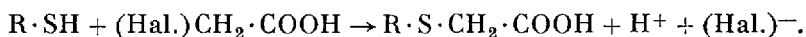
Ved Statens Planteavls-Laboratoriums bakteriologiske afdeling er der udført en række undersøgelser over biologisk inaktivering af forskellige ukrudtsmidler etc. Resultaterne af forsøg med tvangsmodningsmidlet monochloracetat og de egentlige ukrudtsmidler trichloracetat og dichlorpropionat forelægges i nærværende beretning, der er udarbejdet af afdelingsbestyrer, dr. agro. H. L. Jensen.

Forstanderne ved Statens Forsøgsvirksomhed i Plantekultur

I forbindelse med den explosive udvikling, som de kemiske ukrudtsbekæmpelsesmidlers anvendelse i land- og havebruget har gennemgået, har man i den sidste halve snes år udført omfattende undersøgelser over disse forbindelsers stabilitet i jordbunden. Midlernes anvendelighed er betinget af en vis holdbarhed, medens til gengæld en særlig stor modstandsdygtighed mod kemisk eller biologisk nedbrydning kan medføre skadevirkninger overfor efterfølgende afgrøder, med mindre de pågældende stoffer let udvaskes fra jorden – og selv i så fald bør man ikke se bort fra deres mulige virkning andetsteds. Man har undersøgt mange forskellige ukrudtsmidlers holdbarhed i stort omfang ved måling af deres hemningsvirkning overfor forskellige indikatorplanter, men studiet af de mikroorganismer, der nedbryder stofferne, har hidtil i hovedsagen været begrænset til »hormonpræparaterne« 2,4-dichlorphenoxyeddikesyre (2,4-D) og 2-methyl-4-chlorphenoxyeddikesyre (4K-2M). Forskellige bakterier kan udnytte disse forbindelser som næringsstoffer, idet kulstofskelettet og brintatomerne anvendes dels til respiration og dels til opbygning af

cellemateriale, medens chloratomerne fraspaltes i ioniseret form (se f.ex. Audus 1949-51, Jensen og Petersen 1952, Stapp og Spicher 1954, Rogoff og Reid 1956, Steenson og Walker 1956, Walker og Newman 1957, Bell 1957). Langt mindre opmærksomhed har man skænket de simple chlorsubstituerede organiske syrer, der i de senere år er kommet frem dels som egentlige ukrudtsmidler (trichloracetat og dichlorpropionat) og dels som tvangsmodningsmidlet monochloracetat.

Halogensubstitueret eddikesyre kan sønderdeles rent kemisk ved reaktion med organiske SH-forbindelser efter skemaet:



Denne reaktion forløber hurtigt med jod- og bromeddikesyre, men langsomt med chloreddikesyre; iflg. Dickens (1933) er hastighedskonstanterne for de tre forbindelsers reaktion med glutathion ved 25° C henholdsvis 15, 9 og 0,15. Ved en sådan ikke-enzymatisk proces kan levervæv iflg. Bray o.a. (1952) frigøre chloridioner fra forskellige organiske chlorforbindelser, bl.a. trichloracetat, der dog ikke sønderdeles særlig hurtigt.

Undersøgelser over sådanne stoffers mikrobiologiske omsætning er ret fåtallige. I kvalitative forsøg fandt den Dooren de Jong (1926) mange bakterier i stand til at udnytte α - og β -brompropionat, α -brombutyrat og monobromsuccinat, men ikke trichloracetat, trichlorbutyrat eller monobromacetat (chlorforbindelsen undersøgt ikke). Iflg. Erikson (1941) kan visse actinomyceter (*Micromonospora*) udnytte paradichlorphenol og heptachlorpropan, men næppe trichloracetat. Jensen (1957a) isolerede fra jord tre grupper af bakterier, hvoraf een (*Pseudomonas* sp.) sønderdelte monochloracetat energisk og desuden i mindre omfang dichloracetat, mono- og dichlorpropionat, men ikke trichloracetat. En anden organisme af usikker identitet (*Arthrobacter*?) var særlig virksom overfor trichloracetat, medens en tredje gruppe (*Agrobacterium* sp.) angreb dichlorpropionat og -acetat lige stærkt, men ikke trichloracetat. Ingen af dem var virksom overfor 2,4-D. Senere isoleredes flere andre stammer af de samme grupper, der vil blive nærmere omtalt i en kommende meddelelse. Et par stammer af de stærkt monochloracetatsønderdelende *Pseudomonas* viste sig tillige aktive overfor dichlorpropionat og i

nogen grad trichloracetat. Tabel 1 viser en oversigt over de forskellige bakteriers virksomhed i et grundsubstrat indeholdende jordextrakt eller 0,05 pct. gæreextrakt.

Tabel 1. Sønderdeling af chlorsubstituerede organiske syrer ved renkulturer af forskellige bakterier

Bakteriegruppe	pct. Cl ioniseret efter 28 dage			Grundsubstrat
	monochlor- acetat	trichlor- acetat	dichlor- propionat	
	0.04 m	0.02 m	0.02 m	
I A (5 stammer)	99—100	0	0—15	Gæreextrakt
I B (2 stammer)	98—100	10—18	37—57	Jord- og gærex.
II (8 stammer)	0—2	27—52	4—15	Jordextrakt
III (10 stammer)	8—27	0—8	33—57	»

Evnen til at omsætte disse stoffer synes ikke at være særlig hyppig hos mikroorganismene; dog viste senere forsøg (Jensen 1957b), at flere stammer af skimmelsvampene *Trichoderma viride*, *Penicillium roqueforti* og *Clonostachys* sp. sønderdelte monochloracetat lige så energisk som bakterierne, når der tilsættes glucose, cellulose eller xylan som extra kulstofkilde. Også dichloracetat og monochlorpropionat kunne angribes, men ikke trichloracetat, dichlorpropionat eller 2,4-D. Fig. 1 viser eksempler på disse svampes aktivitet.

I tilslutning hertil udførtes der en række undersøgelser over nedbrydningen af monochloracetat, trichloracetat og dichlorpropionat i jord under forskellige betingelser. Til jord af forskellig beskaffenhed sattes de tre stoffer i form af opløsninger af natriumsalte fremstillede ved neutralisation af de frie syrer med natriumhydroxyd; de angivne mængder er i det følgende udtrykt som vægtprocent fri syre i lufttør jord. Ren α -dichlorpropionsyre, der ikke findes i handelen, var velvilligst stillet til rådighed af A/S Kemisk Værk Køge. Nedbrydningshastigheden målttes dels ved kuldioxydproduktionen efter Petersen's (1926) metode, dels (og i langvarige forsøg alene) ved bestemmelse af chlorid efter Benjaminsen og Jensen (1955); i disse forsøg opbevarede jorden i glas med løstsiddende plasticlåg eller for mindre jordportioners vedkommende i mælkeflasker med gennemborede, vatlukkede gummiprøpper.

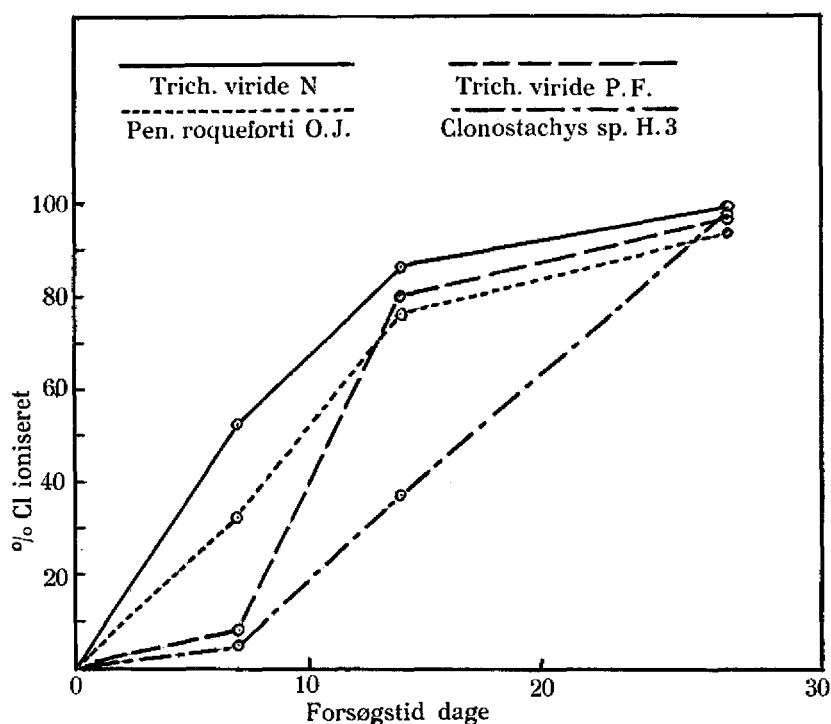


Fig. 1. Skimmelsvampes sønderdeling af 0,04 m monochloracetat i syntetisk opløsning + 0,20 pct. glucose.

Hvor ikke andet er nævnt, anstilledes forsøgene ved 25° C og en fugtighedsgrad på ca. 2/3 af jordens vandkapacitet. Analysetallene er udtrykt på basis af jord tørret ved 100° C og repræsenterer gennemsnit af duplikatportioner af jord. Til kulsyreproduktionsforsøgene anvendtes alm. 3 eller 4, i nogle tilfælde flere parallelkolber.

Forsøgsresultater

SØNDERDELING AF MONOCHLORACETAT

Indledende forsøg viste, at monochloracetat svarende til 0,05–0,20 pct. fri syre sønderdeltes i neutralt og svagt sur jord i løbet af 10 til 30 dage. En stærk stigning i kuldioxidproduktionen indtrådte efter en latensperiode, hvor en vis hemningsvirkning

gjorde sig gældende (stærkest og langvarigst med den største mængde monochloracetat), og ved forsøgets afslutning fandtes det tilsatte organisk bundne chlor for størstedelen i form af chlorid. Latensperioden må opfattes som det tidsrum, der kræves til at inducere dannelsen af chloridfraspaltende enzymer hos de potentielt aktive mikroorganismer og til at opbygge en population heraf i jorden. At dette er tilfældet, og at de ovenfor omtalte bakterier faktisk er virksomme i jorden, fremgår af et forsøg i neutral lerjord (havejord, Rt 7,2) med tilsætning af 0,05–0,10–0,20 pct. monochloreddikesyre; som »podemateriale« tilførtes en tynd celsesuspension (1 ml. pr. 50 g jord) af aktive bakterier dyrkede på monochloracetat-agar. Resultaterne ses i tabel 2.

Tabel 2. Sønderdeling af monochloracetat i havejord med og uden podning med chloracetatsønderdelende bakterier (*Pseudomonas* Cl-R) Monochloreddikesyre

%		0		0.05		0.10		0.20	
Podning		—	+	—	+	—	+	—	+
CO ₂ mg/50 g jord									
efter dage:	1.....	12	12	8	20	6	16	5	8
	2.....	18	18	15	31	12	47	11	28
	3.....	—	—	—	—	—	52	—	58
	4.....	26	26	36	40	28	57	18	83
	6.....	32	32	44	47	60	65	26	94
	8.....	37	37	50	52	67	73	39	103
CO ₂ overskud over									
kontrol 8 dage.....		—	—	13	15	30	36	(2)	66
— % af tilsat C.....		—	—	57	65	64	76	—	70
Cl [—] mg/kg efter 8 dage ..		22	23	205	206	402	406	140	729
Overskud over kontrol..		—	—	183	184	380	384	118	707
— % Cl ioniseret.....		—	—	96	96	100	(101)	15	93

Kuldioxydproduktionen i kontroljorden påvirkes ikke af podningen, hvilket forøvrigt heller ikke var tilfældet i andre forsøg. I upodet jord med henholdsvis 0,05, 0,10 og 0,20 pct. monochloreddikesyre varer latensperioden henholdsvis ca. 2, 4 og 8 dage, men i podet jord forøges kuldioxydproduktionen i sammenligning med kontroljord allerede efter 1 eller 2 dage. Ved forsøgets afslutning efter 8 dage er sønderdelingen først ved at begynde i

den upodede jord med den største dosis (0,20 pct.), men i alle andre tilfælde er mere end halvdelen af monochloracetatets kulstof frigjort som kuldioxyd og praktisk alt dets chlor ioniseret.

Tilførsel af aktive bakterier eliminerer således kuldioxydproduktionens latensperiode. Et andet forsøg med den samme jord (tabel 3) viser at dette også gælder for chloridfraspaltningen, der går parallelt med eller lidt forud for kuldioxydproduktionen. I dette forsøg anvendtes et større antal fælleskolber, og med mellemrum udtoges en kolbe til chloridbestemmelse. I podet jord ioniseres langt den største mængde chlor allerede de første to dage, men i upodet jord først mellem 4. og 6. dag, ledsaget af en stærkt stigende kuldioxydproduktion.

Tabel 3. Sønderdeling af monochloracetat (0,10 pct. fri syre) i havejord, Rt 7,2, med og uden podning med *Pseudomonas* Cl-R. Periodisk bestemmelse af kuldioxyd- og chloridproduktionen

Forsøgstid dage	CO ₂ mg/50 g jord			Cl ⁻ mg/kg		% Cl ioniseret	
	kontrol ¹	upodet	podet	upodet	podet	upodet	podet
0.....	—	—	—	25	25	—	—
1.....	12	9	28	22	272	0	65
2.....	18	17	52	24	405	0	100
3.....	22	23	58	—	—	—	—
4.....	26	35	63	124	404	26	99
6.....	32	75	73	382	384	94	94
8.....	37	83	80	406	396	100	97

1. Se tabel 2.

I renkultur voksede de monochloracetatsønderdelende bakterier endnu ret kraftigt på glucose-agar ved pH 5,2, men med monochloracetat som eneste kulstofkilde var væksten begrænset til et interval fra pH 5,7 til 8,0. Der anstilledes et orienterende forsøg for at afgøre, om disse pH-grænser også gælder for bakteriernes virksomhed i jorden: til en stærkt sur lerjord (Rt 4,8) sættes 0,05 og 0,10 pct. monochloreddikesyre med og uden podning med aktive bakterier. Kuldioxydproduktionen steg kendeligt efter en uges forløb, men påvirkedes kun i ringe grad af podningen. Efter 14 dage var 85–87 pct. chlor ioniseret uanset podningen, hvis relative virkningsløshed lader formode, at andre organismer havde sønderdelt monochloracetatet. Dette bekræftedes i et mere

detailleret forsøg med to lerjorder fra Virumgaard (kalkforsøg, forsøgsled c og d), af Rt henholdsvis 5,5 og 4,5; det første svarer omtrent til surhedsgrænsen for bakteriernes vækst på monochloracetat i renkultur. Ligesom i forsøget tabel 3 udtoges her med mellemrum en kolbe til chloridbestemmelse. Resultaterne findes i tabel 4 og viser, at ved begge reaktioner begynder kuldioxydproduktionen at forøges mellem den 3. og 6. dag, og samtidig eller lidt før begynder chloridfraspaltningen, der når ca. 90–95 pct. efter 12 dage og synes at ske hurtigst i den stærkest sure jord. Podningens indflydelse er næppe kendelig; bakterierne synes heller ikke i jorden at være virksomme ved Rt væsentlig under 6.

Tabel 4. Sønderdeling af monochloracetat (0,10 pct. fri syre) i stærkt og moderat sur lerjord med og uden podning med *Pseudomonas* Cl-R. Periodisk bestemmelse af kuldioxyd- og chloridproduktion

Rt	For- søgs- tid, dage	CO ₂ mg/50 g jord			Cl ⁻ mg/kg		% Cl ioniseret	
		kontrol ¹	upodet	podet	upodet	podet	upodet	podet
4.5	0	—	—	—	50	50	—	—
	1	3	1	2	—	—	—	—
	3	7	4	6	48	58	0	(2)
	6	13	29	32	262	272	55	58
	8	15	47	48	392	413	90	95
	12	19	54	55	408	404	93	93
5.5	0	—	—	—	58	58	—	—
	1	6	4	—	—	—	—	—
	2	9	6	6	71	69	4	3
	4	13	13	12	105	107	12	12
	6	17	24	26	189	211	35	40
	8	19	38	41	331	320	71	69
	12	24	56	58	389	407	86	91

1. Gennemsnit af upodet og podet jord uden monochloracetat.

En tælling af skimmelsvampe ved spredning på sur glucose-pepton-agar i jord d (Rt 4,5) ved forsøgets afslutning og igen efter 6 dages henstand viste en stærk stigning i antallet af svampekolonier efter tilsætning af monochloracetat:

	Svampekolonier, 1000 pr. g jord	
	efter 12 dage	efter 18 dage
Kontrol-jord	110	71
+ monochloracetat	>1000	>2000

I kontroljorden fandtes en blandet flora uden karakteristisk sammensætning, medens *Trichoderma viride* var aldeles dominerende i den monochloracetatbehandlede (tallene fra denne jord må iøvrigt opfattes som minimumsværdier, da en nøjagtig tælling var umulig på grund af *Trichoderma*-koloniernes hurtige og stærkt spredende vækst). To stammer af *T. viride* isoleredes herfra og viste sig stærkt aktive i opløsning med 0,2 pct. glucose og 0,04 M monochloracetat, hvor 94–97 pct. chlor ioniseredes efter 14 dage (sml. fig. 1).

Fra jord *d* foretoges der efter forsøget dels podning med opslæmning i stigende fortynding fra 1/100 til 1/100 000 i 0,04 M monochloracetatopløsning, dels spredning på tilsvarende agar-substrat (fortynding 1/100 000). Kontroljorden foranledigede kun chloridfraspaltning i fortyndingen 1/100, og på agarsubstratet fremkom en blandet flora, der ikke indbefattede *Trichoderma*. Monochloracetatbehandlet jord viste stærk chloriddannelse endnu i højeste fortynding (1/100 000), og på agar voksede *Trichoderma* rigeligt, ledsaget af en stærk chloridreaktion i substratet; også herfra isoleredes to stærkt aktive stammer af *T. viride*.

I begge jorder var monochloracetatsønderdelingen forbundet med en livlig formering af *T. viride*, der må anses for et af de virksomme agenser i denne proces ved sur jordreaktion.

Temperaturens indflydelse undersøgtes dels i neutral havejord (Rt 7,2) og dels i to prøver af sur lerjord fra Virumgaard (Rt 4,9 og 5,1), der med og uden tilsætning af 0,10 pct. monochloreddikesyre (Na-salt) henstilledes i en køletermostat ved 15° C og 7° C. Resultaterne ses i fig. 2 og 3. I den neutrale jord er latensperioden ved 15° C noget længere end ved 25° C (sml. tabel 3), men spaltningen er omtrent fuldstændig efter 2–3 uger; ved 7° C varer latensperioden henved en måned, hvorefter spaltningen forløber ret hurtigt. I den sure jord får processen ved 15° C først virkelig fart efter et par uger, men er til ende efter 5 uger (kun jorden af Rt 4,9 undersøgtes ved denne temperatur). Ved 7° C viste der-

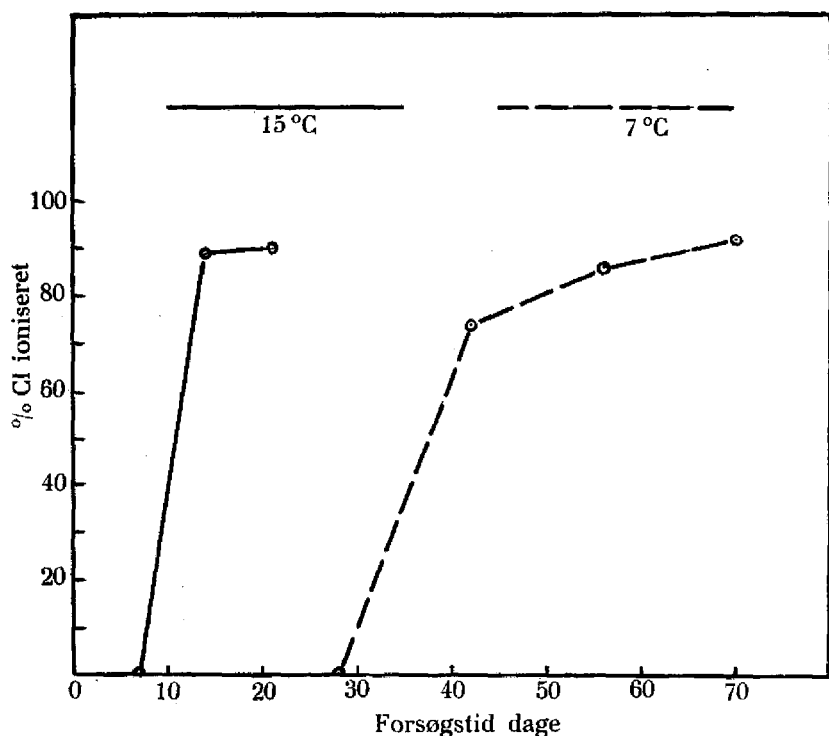


Fig. 2. Sønderdeling af monochloracetat (0,10 pct. fri syre) i neutral lerjord (Rt 7,2) ved 15° C og 7° C.

imod begge jordprøver af sur reaktion gennem 10 uger kun en meget svag og muligvis ikke signifikant chloridproduktion. I overensstemmelse hermed havde to aktive stammer af *T. viride* praktisk talt ingen virkning på monochloracetat i renkultur efter 4 uger ved 7° C.

At den udeblivende monochloracetatsønderdeling skyldtes den lave temperatur vist ved efter forsøgets afslutning (70 dage) at overføre jorderne til 25° C, hvor ca. 30–40 pct. chlor ioniseredes efter en uge og 85–90 pct. efter 10–14 dage.

De fundne monochloracetatspaltende bakterier og svampe er obligat aerobe og må forudsættes kun at være virksomme i vel gennembluftet jord. Der anstilledes et forsøg i jord uden luftadgang for at undersøge den mulige forekomst af anaerobe orga-

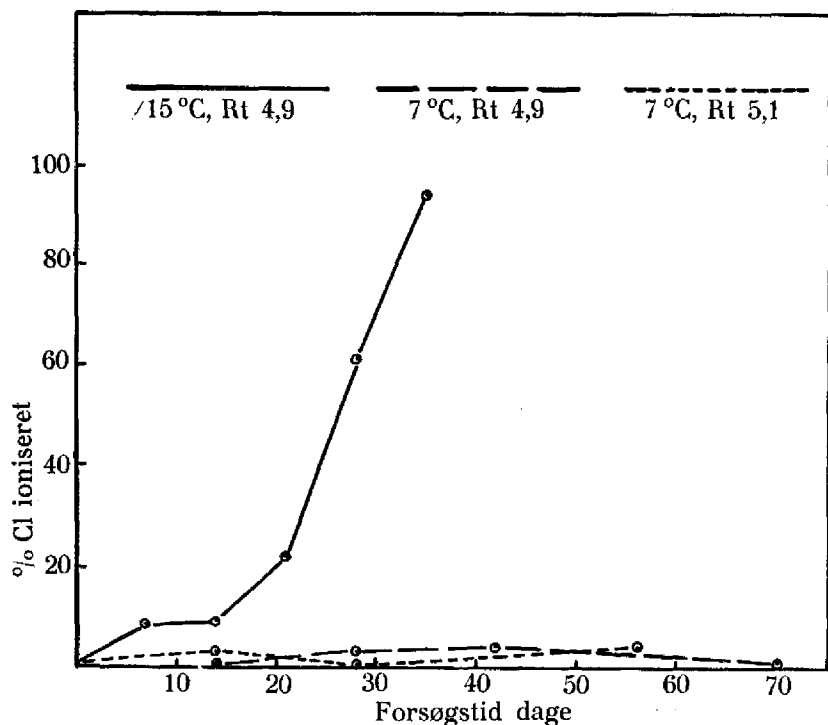


Fig. 3. Sønderdeling af monochloracetat (0,10 pct. fri syre) i sur lerjord, ved lav temperatur.

nismer med tilsvarende egenskaber. Hertil anvendtes den ovennævnte neutrale havejord, der tilsattes 0,10 pct. monochloreddikesyre (Na-salt) og fugtedes til ca. 3/4 vandkapacitet. Reagensglas på 155 × 16 mm fyldtes helt med jord, der lejredes så tæt som muligt ved gentagen stødning mod et fast underlag, hvorpå glassene lukkedes med tætsluttende, paraffinerede propper og henstilledes ved 25° C; med mellemrum udtoges duplikatglas til chloridbestemmelse. Som det fremgår af fig. 4, sker der under disse betingelser kun en svag chloridfraspaltning svarende til ca. 11 pct. efter 8 uger (i vatlukkede kontrolglas ioniseredes ca. 85 pct. chlor efter een uge). Stigningen i chloridindholdet er meget nær retlinet, hvilket tyder mere på en rent kemisk proces end på biologisk virkning af en bakterieflora under formering; muligvis

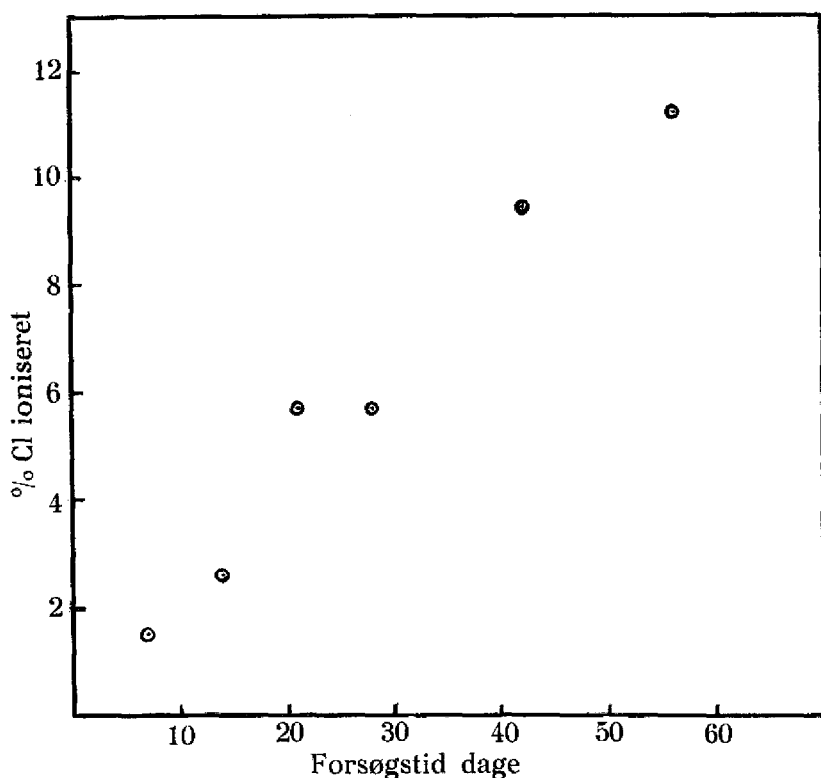


Fig. 4. Sønderdeling af monochloracetat (0,10 pct. fri syre) i neutral lerjord under anaerobe betingelser (lukkede glas).

sønderdeles noget monochloracetat ved reaktion med SH-forbindelser dannede i jorden under de anaerobe forhold.

SØNDERDELING AF TRICHLORACETAT

Over trichloracetatets holdbarhed i jorden foreligger der nogle iagttagelser, der tyder på en i almindelighed langsom inaktivering (målt ved virkningen på indikatorplanter). Iflg. Rai og Hammer (1953) forsvandt virkningen af 17 til 67 kg trichloracetat pr. ha efter 42 til 64 dage i sandjord, noget langsommere (64–108 dage) i lerjord og endnu langsommere (mere end 108 dage) i humusjord. Ogle og Warren (1954) udførte lignende forsøg med mindre

stofmængder (9 kg/ha) og fandt ved 18 til 35° C tværtimod hurtigst sønderdeling i humusjord af Rt 5,3 og i lerjord af Rt 6,4, men meget langsom i sandjord af Rt 5,7. Ved 8° C fandtes der stedse kun en ringe eller ingen sønderdeling indenfor 12 uger. Blandt forskellige andre herbicider udviste kun CMU større bestandighed end trichloracetat.

Et indledende forsøg anstilledes i svagt alkalisk lerjord (havejord, Rt 7,4) med tilsætning af trichloracetat svarende til 0,05 og 0,10 pct. fri syre; desuden podedes der med en cellesuspension af monochloracetatsønderdelende bakterier for at undersøge, hvorvidt disse bakterier er inaktive overfor trichloracetat i jord ligesom i renkultur. I forsøgets første afsnit (25 dage) målt kuldioxydproduktionen, hvorefter jorden henstod yderligere 7 uger. Resultaterne ses i tabel 5. Kuldioxydproduktionen er praktisk talt upåvirket af både trichloracetattilsætningen og podningen, derimod ses efter 25 dage en svag men umiskendelig og efter 3 måneder en meget stærk og ved den lavere trichloracetatkoncentration fuldstændig chloridfraspaltning; podningen med monochloracetatsønderdelende bakterier synes virkningsløs. Fra denne jord isoleredes første gang den andetsteds (Jensen 1957a) beskrevne type af trichloracetatspaltende bakterier.

Tabel 5. Sønderdeling af trichloracetat (0,05 og 0,10 pct. fri syre) i lerjord af Rt 7,4, med og uden podning med *Pseudomonas* Cl-A

Trichloreddikesyre %	0		0.05		0.10	
Podning	—	+	—	+	—	+
CO ₂ mg/50 g jord efter						
25 dage.....	40	38	40	44	37	40
Cl ⁻ mg/kg efter						
25 dage.....	14	21	44	42	38	45
89 »	14	15	384	370	546	560
Overskud over						
kontrol 89 dage.....	—	—	370	356	532	546
% Cl ioniseret	—	—	(100)	(100)	82	84

Disse organismers aktivitet i jorden undersøgtes i et andet forsøg med den samme havejord + 0,05 trichloreddikesyre (Na-salt); som »podemateriale« tilsattes dels lidt suspension af udvasket,

aktiveret jord fra det foregående forsøg, dels cellesuspension af bakterier dyrkede på jordextrakt-trichloracetat-agar. Resultaterne ses i tabel 6 og viser det ejendommelige forhold, at hverken trichloracetattilsætningen eller podningen har nogen kendelig virkning på kuldioxydproduktionen i de første 4 uger (til fuldstændig iltning af det tilsatte trichloracetatkulstof ville svare en produktion af 13,5 mg CO₂ pr. 50 g jord; det er muligt, at denne ret ringe mængde er tilbageholdt som bicarbonat i den temmelige kalkrige jord).

Efter kuldioxydproduktionsforsøget henstod jorden yderligere 10 dage. Chloridbestemmelserne viser, at i den upodete jord begynder trichloracetatsønderdelingen efter 4 uger og når omtrent halvdelen efter 38 dage. Processen fremskyndes betydeligt ved tilsætning af aktiveret jord og endnu mere ved podning med renkultur af de trichloracetatspaltende bakterier, der må antages at være virksomme i jorden under disse betingelser, da deres tilførsel (i analogi med monochloracetatspaltningen) eliminerer den i dette tilfælde ret langvarige latensperiode.

Tabel 6. Sønderdeling af trichloracetat (0,05 pct. fri syre) i lerjord af Rt 7,2 med og uden podning med a) aktiveret jord (tabel 5) og b) renkultur af Bact. 3-Cl

Trichloreddikesyre %		0		0.05	
Podning		Upodet	Upodet	Akt. jord	Bact. 3-Cl
CO ₂ mg/50 g jord, 14 dage		44	40	39	43
» » 28 »		63	59	67	69
Cl ⁻ mg/kg efter 14 dage		31	31	43	129
28 »		33	50	314	317
38 »		28	186	319	322
% Cl ioniseret, 14 dage		—	0	(4)	30
28 »		—	(5)	85	86
38 »		—	47	88	89

Efter forsøgets afslutning anstilledes et spiringsforsøg med den tiloversblevne jord samt en kontrolprøve af jord tilsat trichloracetat umiddelbart før såningen. Jordportioner på 70 g anbragtes i dybe petriskåle, gennemfugtedes med destilleret vand og tilsåedes med hver 25 bygkerner. Fig. 5 viser kimplanternes ud-

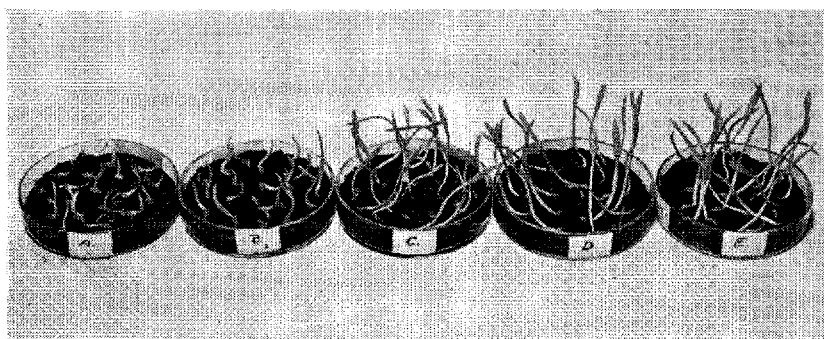


Fig. 5. Spiring af byg (4 dage) i jord efter tilsætning af trichloracetat (0,05 pct. fri syre, sml. tabel 6). A: + 3-Cl-acetat tilsat ved såning (kontrol). – B: + 3-Cl-acetat, efter forsøg, upodet. – C: do., podet med aktiveret jord. – D: do., podet med aktive bakterier. – E: jord uden 3-Cl-acetat (kontrol). – Fot. A. Munch, Landbrugets Informationskontor.

seende efter 4 døgn's spiring ved 25° C. Der ses en meget stærk hemningsvirkning af frisk tilsat trichloracetat, tydelig hemning i den upodede jord, hvor ca. halvdelen af trichloracetatet var sønderdelt, og normal vækst i de to podede jorder hvor ca. 90 pct. chlor var ioniseret ved spiringsforsøgets begyndelse.

Ved spredning på jordextrakt-agar+trichloracetat og calciumcarbonat fra jord, hvori trichloracetatsønderdeling havde fundet sted, kunne der som nævnt andetsteds (Jensen 1957a) ses fremkomst af bakteriekolonier omgivet af klare zoner, idet de aktive organismer sønderdeler trichloracetat under frigørelse af saltsyre og opløsning af calciumcarbonat. Herigennem var det muligt at isolere de pågældende bakterier samt at få et tilnærmet udtryk for deres antal i jorden ved tælling af kolonierne.

I et forsøg med den samme havejord+0,05 pct. trichloracetat uden podning udførtes periodiske chloridbestemmelser og spredninger på jordextrakt-agar med 0,02 M trichloracetat og overskud af calciumcarbonat i fortyndinger fra 1/10 000 til 1/100 000. Pladekulturterne indkuberedes ved 18–20° C, og efter ca. en måned foretoges tælling af kolonier med opklaringszoner, hvis udseende fremgår af fig. 6. Tællingerne gav det i tabel 7 viste resultat.

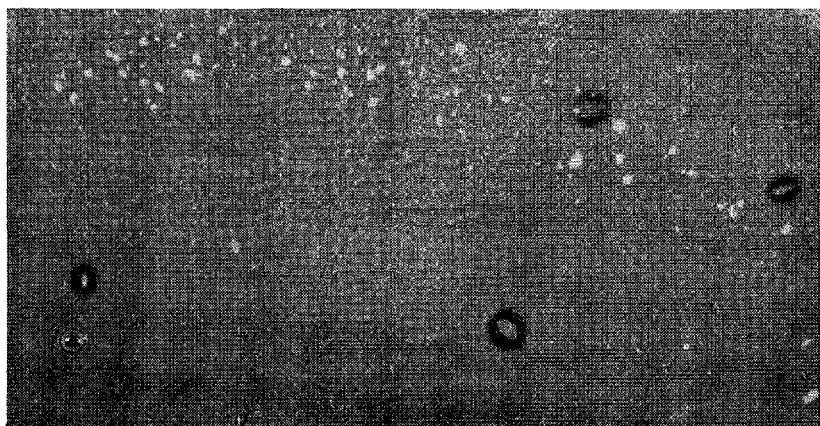


Fig. 6. Kolonier af trichloracetatsønderdelende bakterier på jordextrakt-agar + 0,02 m 3-Cl-acetat + calciumcarbonat. – Forst. ca. 4×. (Fot. Frank Hejndorf, Statens plantepatologiske Forsøg).

Omend tallene er ret variable og overensstemmelsen mellem duplikatprøverne dårlig, er det tydeligt, at trichloracetatnedbrydningen ledsages af en umiskendelig formering af de aktive bakterier. Denne formering såvel som renkulturernes evne til at afkorte trichloracetatsønderdelings latensperiode ved tilførsel til jorden viser klart, at de faktisk er de virksomme agenser i denne proces også i jorden.

Jordreaktionens indflydelse på trichloracetatsønderdelingen undersøgtes i et indledende forsøg med to stærkt sure jorder: lerjord fra kalkforsøg ved Virumgaard og sandjord fra Lund-

Tabel 7. Formering af trichloracetatsønderdelende bakterier i neutral lerjord med 0,05 pct. trichloreddikesyre. – Cl⁻ ved forsøgets begyndelse: 6 mg/kg

Forsøgstid, dage	Cl ⁻ mg/kg		Kolonier m. klare zoner 1000 pr. g jord	
	kontrol	+ 3-Cl-acetat	kontrol	+ 3-Cl-acetat
6	(0)	5	< 4	< 4
14	(0)	53	< 2	< 40
28	6	64	< 2	a) 5000 b) 350
50	—	326	< 2	a) 550 b) 470

gaard. Til den sidste sattes som »podemateriale« en ringe mængde udvasket havejord, hvori trichloracetatsønderdeling havde fundet sted. Jord med og uden 0,05 pct. trichloracetat opbevarede henholdsvis 180 og 140 dage ved 25° C, og med mellemrum (6–7 gange) udførtes chloridbestemmelser, der i intet tilfælde gav tydelige tegn på sønderdeling, som vist i følgende oversigt:

	Cl ⁻ mg/kg efter dage		
	0	140	180
Lerjord, Rt 4.9, kontrol	54	—	59
» » + 3-Cl-acetat	54	—	59
Sandjord, Rt 4.6, kontrol	7	10	—
» » + 3-Cl-acetat	7	14	—
» » do. + »podejord«....	7	16	—

I jord af Rt under 5 synes trichloracetat således meget bestandigt. Dette bekræftedes ved et spiringsforsøg med byg i lerjorden efter forsøgets afslutning: vægt af 20 bygspirer i kontrol-jord 1,48–1,69 g, i jord+trichloracetat 0,34–0,40 g.

Et lignende forsøg udførtes med andre prøver fra kalkforsøget ved Virumgaard: forsøgsled *c* (Rt 6,0), forsøgsled *d* (Rt 5,1) samt en blanding af *c* og *d* (Rt 5,4), med og uden tilsætning af 0,05 pct. trichloracetat samt i sidste tilfælde podning med en cellesuspension af trichloracetatspaltende bakterier. Resultaterne ses i fig. 7. I upodet jord af Rt 6,0 tager trichloracetatnedbrydningen fart efter 8 uger og bliver fuldstændig efter 3 måneder, medens den ved tilsætning af aktive bakterier er afsluttet allerede efter 2 uger. Ved Rt 5,4 er processen efter 17–20 uger endnu ganske svag, og tilførte bakterier er meget lidt aktive ved denne reaktion. Ved Rt 5,1 fandtes i upodet jord overhovedet ingen sikker chloridfraspaltning (sml. overfor anførte oversigt) og kun en meget svag og næppe signifikant virkning af de tilførte bakterier. Et reaktionsniveau omkring Rt 5,5 synes således at være kritisk for trichloracetatets biologiske nedbrydning i jordbunden.

De trichloracetatspaltende bakterier går imidlertid ikke til grunde selv ved stærkere sur reaktion, hvilket fremgår af et kontrolforsøg med jord *d* (Rt 5,1). Efter hovedforsøgets afslutning tilsattes der 0,2 pct. calciumcarbonat, hvorved reaktionen ændredes til Rt 6,3–6,6 efter yderligere 4 ugers henstand; der var samtidig

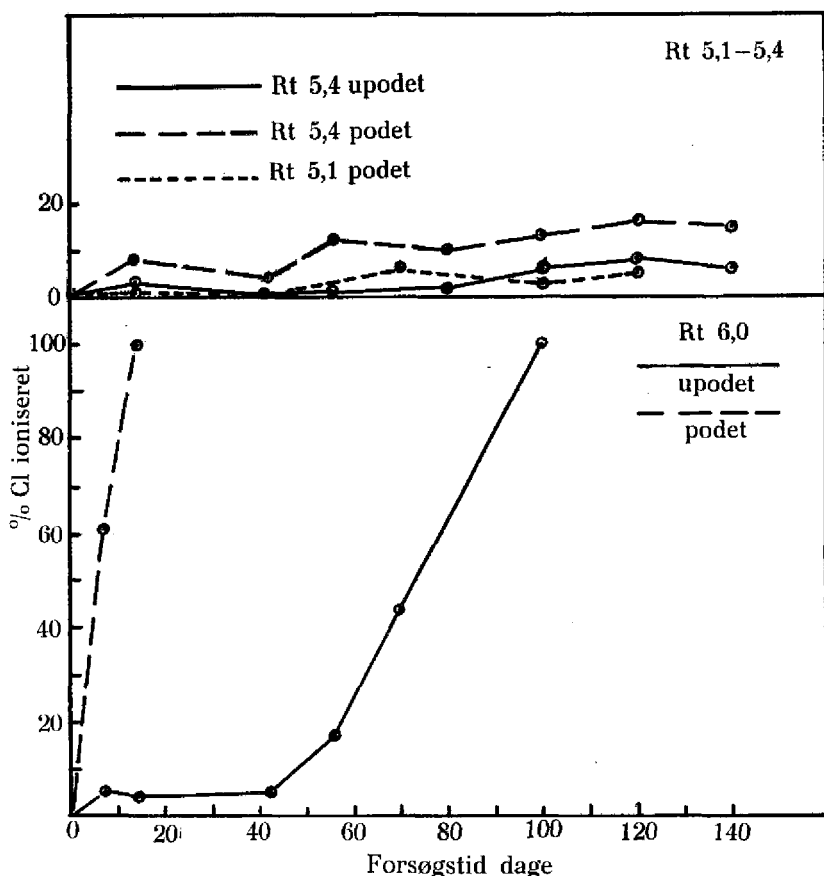


Fig. 7. Sønderdeling af trichloracetat (0,05 pct. fri syre) i sur lerjord.

i den upodede ioniseret ca. 40 pct. og i den podede ca. 80 pct. chlor (dog dårlig overensstemmelse mellem duplikatportionerne).

Temperaturens betydning undersøgtes i forsøg ved 15° C og 7° C i neutral havejord tilsat 0,05 pct. trichloreddikesyre med og uden bakteriepodning. Som det fremgår af fig. 8 induceres nedbrydningen ved 15° C først mellem 4. og 6. uge i upodet jord, men efter podning er den omtrent afsluttet allerede efter 14 dage. Ved 7° C forhales nedbrydningen derimod stærkt; i upodet jord er processen kun ved at begynde efter 3 måneder, og selv efter podning er den først til ende efter 8 uger.

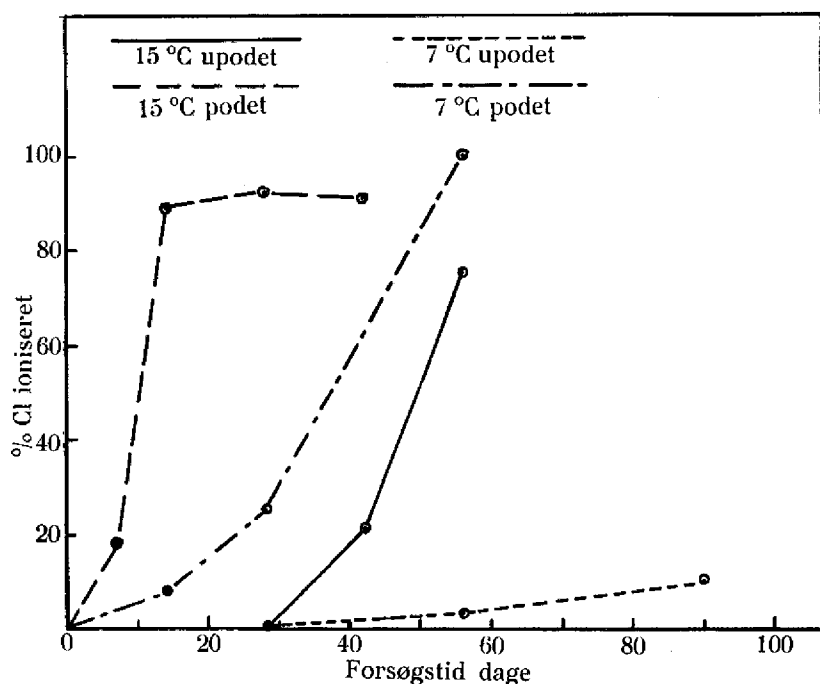


Fig. 8. Sønderdeling af trichloracetat (0,05 pct. fri syre) ved 15°C og 7°C.

Endelig udførtes nogle forsøg under anaerobe betingelser: lukkede glas som i forsøg med monochloracetat (sml. fig. 4). Resultaterne ses i fig. 9 og viser det ret overraskende forhold, at i neutral, upodet havejord kommer sønderdelingen ret hurtigt i gang og fremmes kun i mindre grad ved podning med aktive bakterier. Lignende resultater fandtes i gentagne forsøg med den samme jord, men i svagt sur jord (Rt 6,0) sker der kun en ganske svag nedbrydning efter 6 uger. Forsøg med renkulturer af de trichloracetatsønderdelende bakterier under tilsvarende vækstbetingelser (flydende substrat dækket med paraffinolie) viste nogen chloriddannelse, dog mindre stærkt end under aerobe forhold.

I jorden kunne der ikke med sikkerhed påvises nogen formering af de trichloracetatspaltende bakterier. Spørgsmålet om nedbrydningsmekanismen under anaerobe forhold står foreløbig altså åbent: dog tyder resultaterne foreløbig på, at hemmet luft-

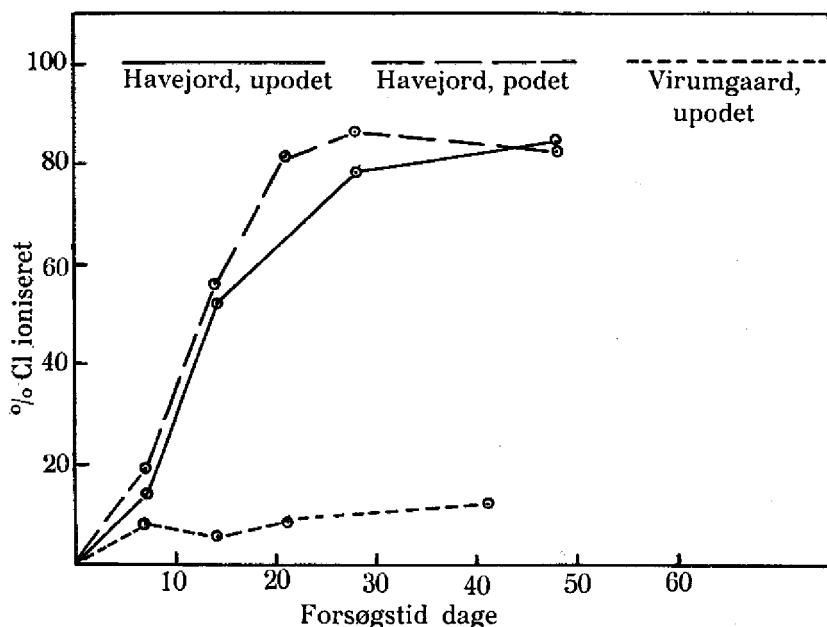


Fig. 9. Sønderdeling af trichloracetat (0,05 pct. fri syre) under anaerobe forhold (lukkede glas).

adgang vil være af mindre betydning end f.ex. ugunstig reaktion eller lav temperatur.

SØNDERDELING AF DICHLORPROPIONAT

Om dette ukrudtsmiddels sønderdelelighed i jordbunden vides forholdsvis lidt. Holstun og Loomis (1956) udførte forsøg, hvor inaktiveringen af dichlorpropionat svarende til 120 mg fri syre pr. kg jord målt ved virkningen på hirsekimplanter; fuldstændig inaktivering krævede i forskellige jorder ved 20–30° C henved 2 til 8 uger, foregik langsomt i sur lerjord af Rt 5,1, men betydelig hurtigere ved kalkning til Rt 6,9; ved 15–17° C var processen særdeles langsom. Dichlorpropionatets nedbrydning mentes at skyldes »en ukendt fraktion af jordens mikroflora«. Worsham og Giddens (1957) fandt lidt forøgelse af antallet af bakterier og actinomyceter i jord med 19–38–76 kg/ha dichlorpropionat (i

form af handelspræparatet »Dalapon« med 85 pct. aktivt stof), hvis hemningsvirkning forsvandt efter 3 uger i drivhus; specifikt virksomme organismer studeredes ikke.

Et indledende forsøg udførtes i neutral havejord med to doser af dichlorpropionat: 0,05 og 0,10 pct. fri syre. Kuldioxydproduktionen målt i 30 dage, hvorefter jorden henstod yderligere 20 dage. Resultaterne ses i tabel 8 og viser kun ved den lavere dosis lidt forøgelse af kuldioxydproduktionen, ledsaget af en efter 30 dage begyndende og efter 50 dage fuldstændig chloridfraspaltning. Ved den højere dosis begynder en utvivlsom chloriddannelse først mellem 30 og 50 dage.

Tabel 8. Sønderdeling af dichlorpropionat (0,05 og 0,10 pct. fri syre) i lerjord (havejord) af Rt 7,0

Dichlorpropionsyre %	0	0.05	0.10
CO ₂ mg/50 g, 20 dage	45	50	43
» » 30 »	54	64	51
Cl ⁻ mg/kg, v. fors. beg.	52	56	52
» » 20 dage	42	54	59
» » 30 »	37	80	58
» » 50 »	37	314	140
% Cl ioniseret, 50 dage	--	(100)	20

Et andet indledende forsøg udførtes i den samme jord, podet med cellesuspension af en af de monochloracetatsønderdelende bakterier, der i renkultur viste en svag virksomhed også overfor dichlorpropionat (tabel 1, gruppe I.A). Podningen påvirkede ikke i kendelig grad kuldioxydproduktionen (der her overhovedet hemmedes af dichlorpropionatet) og havde kun en ubetydelig og måske ikke signifikant virkning på chloridfraspaltningen:

Dichlorpropionsyre %	0		0.05	
	upodet	podet	upodet	podet
CO ₂ mg/50 g jord, 28 dage ...	64	65	52	58
Cl ⁻ mg/kg » » ...	39	49	60	74

Fra jorden i det foregående forsøg lykkedes derimod at isolere kraftigt dichlorpropionatsønderdelende bakterier (Jensen 1957a).

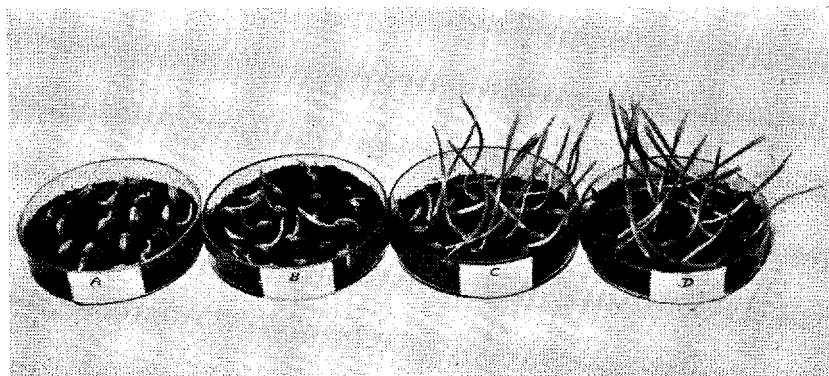


Fig. 10. Spiring af byg (4 dage) i jord efter tilsætning af dichlorpropionsyre (sml. tabel 9). – A: 2-Cl-propionat tilsat ved såning (kontrol). – B: 2-Cl-propionat, efter forsøg, upodet. – C: do., podet med aktive bakterier. – D: jord uden 2-Cl-propionat (kontrol). – Fot. A. Munch, Landbrugets Informationskontor.

Med en stamme af disse anstilledes et sønderdelingsforsøg i analogi med monochloracetat (tabel 3 og 4). Resultaterne ses i tabel 9. I »upodet« jord har dichlorpropionat ingen som helst indflydelse på kuldioxydproduktionen, men chloridfraspaltningen er indledt efter 14 dage og når mere end halvdelen efter 24 dage. Ved podning med aktive bakterier elimineres latensperioden: kuldioxydproduktionen fremmes omtrent fra forsøgets begyndelse, omend kun svagt (overskuddet over kontroljorden efter 24 dage

Tabel 9. Sønderdeling af dichlorpropionat (0,05 pct. fri syre) i neutral lerjord med og uden podning med *Agrobacterium* 2CP-O.

Periodisk bestemmelse af CO_2 og Cl^- ;
ved forsøgets begyndelse: 27 mg Cl^- pr. kg

Forsøgstid, dage	CO_2 mg/50 g			Cl^- mg/kg		pct. Cl ioniseret	
	kontrol ¹	+ 2-Cl-P upodet	+ 2-Cl-P podet	+ 2-Cl-P upodet	+ 2-Cl-P podet	+ 2-Cl-P upodet	+ 2-Cl-P podet
1.....	10	9	11	—	—	—	—
4.....	23	21	36	26	236	0	83
8.....	32	31	48	29	251	(0)	88
14.....	43	41	57	79	275	21	98
18.....	50	49	64	—	—	—	—
24.....	60	62	71	166	258	55	91

1. Gennemsnit af upodet og podet jord.

svarer kun til ca. 14 pct. af kulstoffet i dichlorpropionat), og en meget stærk chloridfraspaltning sker allerede i løbet af 4 dage. Dette svarer fuldkomment til, hvad der sker med mono- og trichloracetat.

Efter forsøgets afslutning anstilledes ligesom med trichloracetat et spiringsforsøg med byg i resten af jorden. Planternes udseende efter 4 døgns spiring (fig. 10) viser, at den meget stærke hemningsvirkning af frisk tilsat dichlorpropionat er fuldstændig ophævet, hvor fraspaltning af chlor har fundet sted.

Som omtalt andetsteds (Jensen 1957a) kunne de dichlorpropionatsønderdelende bakterier (ligesom de tilsvarende overfor trichloracetat) isoleres direkte fra jorden ved spredning på jordextraktagar med dichlorpropionat og calciumcarbonat, idet de aktive organismers kolonier frigør saltsyre fra dichlorpropionatet og omgives med klare opløsningszoner (sml. fig. 6). Et forsøg til belysning af sammenhængen mellem dichlorpropionatsønderdelingen og bakteriernes formering udførtes i neutral havejord med 0,05 pct. dichlorpropionsyre. Med mellemrum foretoges chloridbestemmelse og spredning på jordextrakt-agar med 0,02 M dichlorpropionat og overskud af calciumcarbonat; der anvendtes fortyndinger fra 1/4 000 til 1/100 000 og 3 parallelplader, og de fremkomne kolonier med klare zoner taltes efter ca. en måneds inkubation ved 18–20° C. Resultaterne ses i tabel 10. Selv om de fundne tal ikke kan gøre krav på nogen større nøjagtighed, er der ingen tvivl om, at chloriddannelsen ledsages af en meget livlig formering af dichlorpropionatsønderdelende bakterier.

En lignende tælling foretoges i upodet lerjord af Rt 5,4 efter 147 dage i et nedenfor omtalt forsøg (se fig. 11). Antallet af

Tabel 10. Formering af dichlorpropionatsønderdelende bakterier i neutral lerjord med dichlorpropionat (0,05 pct. fri syre).

Cl⁻ ved forsøgets begyndelse: 6 mg/kg

Forsøgstid, dage	Cl ⁻ mg/kg		Kolonier m. klare zoner mill. pr. g jord	
	kontrol	+ 2-Cl-P	kontrol	+ 2-Cl-P
6.....	(0)	4	< 0.004	< 0.004
14.....	(0)	185	< 0.004	a) 22 b) 8.4
18.....	6	306	< 0.002	a) 15 b) 8.8

aktive bakterier var her ca. 10 000 pr. g i kontroljorden, men 0,12 og 6,8 millioner pr. g i duplikatportionerne med dichlorpropionat, hvor der efter 150 dage var ioniseret henholdsvis 37 og 84 pct. chlor. Herfra isoleredes de to stammer af bakterier, der foruden at sønderdele dichlorpropionat tillige var stærkt virksomme overfor monochloracetat og under visse betingelser (i gærextrakt-substrat) tillige havde nogen virkning på trichloracetat (gruppe I. B, tabel 1).

At de fundne bakterier faktisk er virksomme i jorden fremgår tydeligt af deres formering under dichlorpropionatsønderdelingen såvel som deres evne til at afkorte processens latensperiode ved tilførsel som »podemateriale«. Det er forøvrigt påfaldende, at de i jorden synes, ligesom de trichloracetatsønderdelende bakterier, at bevirke en adskilligt hurtigere chloridfraspaltning end i renkultur (sml. tabel 1).

De dichlorpropionatsønderdelende bakterier viste sig i renkultur at kunne fortsætte processen indtil pH 4,7–4,8 (Jensen 1957a). Til oplysning om reaktionens indflydelse på deres virksomhed i jorden anstilledes et forsøg i en moderat og i en stærkt sur lerjord fra et kalkforsøg ved Virumgaard: forsøgsled c. Rt 5,4 og d, Rt 4,5, med tilsætning af 0,05 pct. dichlorpropionsyre med og uden podning med aktive bakterier. Periodiske chloridbestemmelser gennem ca. 5 måneder viser (fig. 11), at i upodet jord af Rt 5,4 begynder en svag sønderdeling efter 42 dage, og mellem 136 og 150 dage fremskyndes processen stærkt (resultaterne ved forsøgets afslutning var dog ret usikre, idet der i den ene duplikatportion var ioniseret 84 men i den anden kun 37 pct. chlor). I den podede jord er de tilførte bakterier virksomme fra forsøgets begyndelse og fører processen til ende i løbet af 4–6 uger. Derimod har podningen kun ringe virkning i den stærkt sure jord af Rt 4,5, hvor der ialtfald uden podning først fraspaltes lidt chlorid henimod forsøgets afslutning. At processen overhovedet kommer i gang på dette tidspunkt skyldes muligvis den omstændighed, at jorden bliver noget mindre sur i løbet af forsøget.

	Jord c		Jord d	
	upodet	podet	upodet	podet
Rt ved forsøgets begyndelse. . .	5.4	—	4.5	—
» efter 150 dage.	5.8	5.0	5.1	5.1

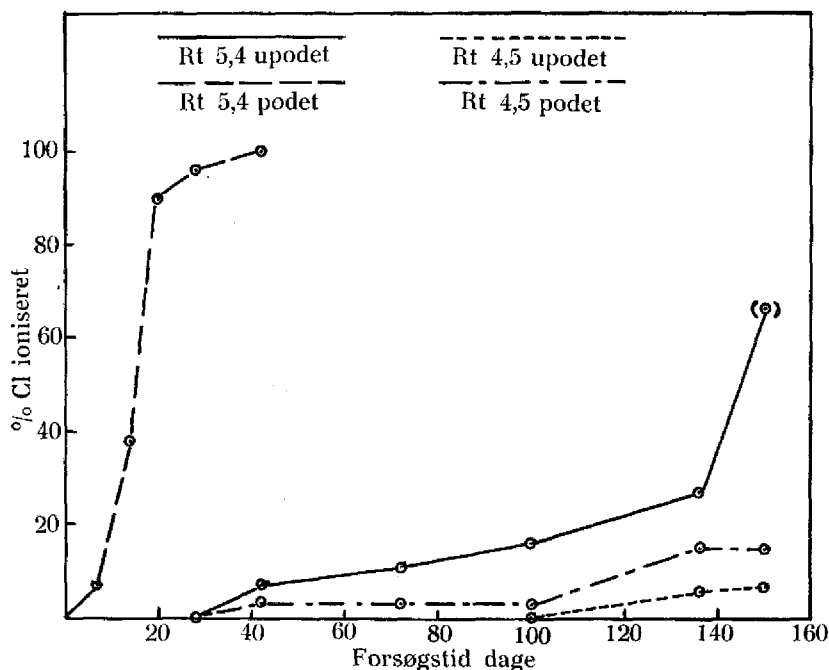


Fig. 11. Sønderdeling af dichlorpropionat (0,05 pct. fri syre) i sur lerjord.

I jord *d* kunne der kvalitativt påvises en ret stærk ammoniakophobning, men kun en ubetydelig nitratdannelse, hvilket formodentlig er årsagen til reaktionsændringen. I den upodede jord *c*, hvor reaktionen holdt sig omtrent uforandret, skete en livlig nitrifikation, men kun moderat ammoniakophobning; nedgangen i Rt i den podede jord skyldes åbenbart saltsyredannelsen under dichlorpropionatets nedbrydning.

Et spiringsforsøg med byg (20 kerner) efter 136 dage viste en tydelig sammenhæng mellem kimplanternes reaktion og chloridfraspaltningen:

	Kontrol (jord <i>c</i>)	Jord <i>c</i> +2-Cl-P		Jord <i>d</i> +2-Cl-P	
		upodet	podet	upodet	podet
pct. Cl ioniseret.....	—	27	(100)	(6)	(15)
Spiring, pct.....	80	50	92	30	42
Vægt af spirerne, g.....	1.67	0.20	1.49	0.06	0.08

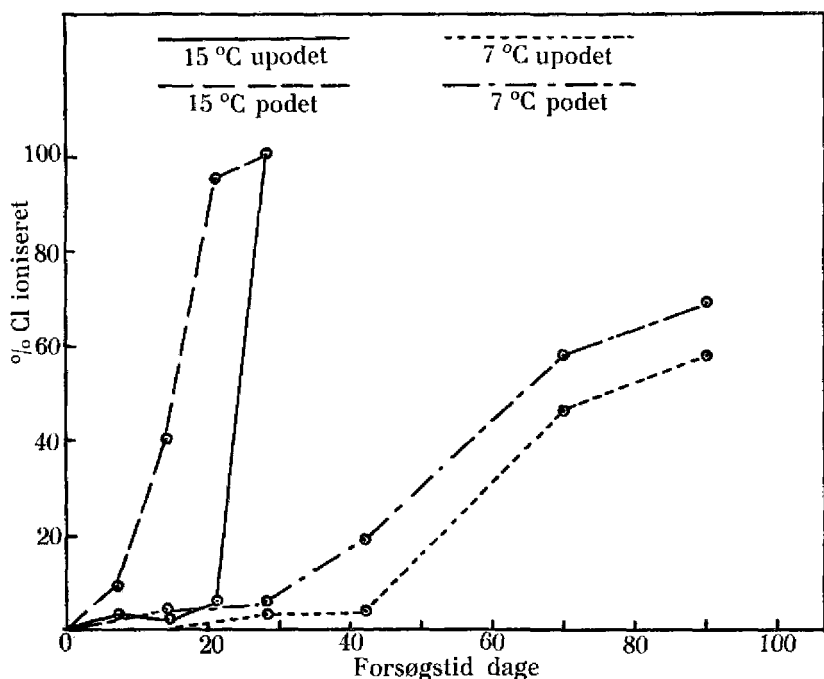


Fig. 12. Sænderdeling af dichlorpropionat (0,05 pct. fri syre) i neutral lerjord ved lav temperatur.

Ved jordreaktionen under Rt 5 synes dichlorpropionat således ligesom trichloracetat at være særdeles bestandigt mod biologisk nedbrydning. Ved Rt 5,3–5,5 er bakterierne derimod virksomme, omend processen induceres betydelig langsommere end i neutral jord.

Temperaturens indflydelse undersøgtes i neutral lerjord (havejord af Rt 7,2), igen med og uden podning med aktive bakterier. Som vist i fig. 12 går nedbrydningen ret hurtigt ved 15° C, hvor aktiviteten i upodet jord forøges meget brat efter 3 uger. Ved 7° C kommer processen i den upodede jord først tydeligt i gang efter 6 uger; selv ved podning med aktive bakterier forløber omsætningen ret langsomt, men når dog ca. 70 pct. af det tilsatte chlor efter 3 måneder.

Sluttelig anstilledes et forsøg under anaerobe betingelser:

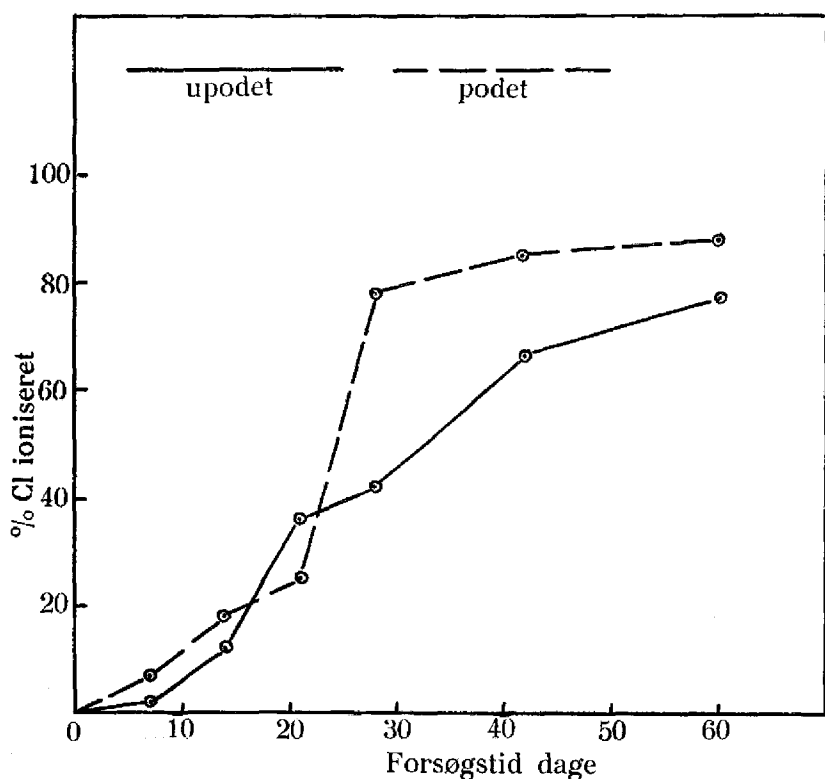


Fig. 13. Sønderdeling af dichlorpropionat (0,05 pct. fri syre) under anaerobe forhold (lukkede glas).

neutral havejord i helt fyldte, tæt tilproppede og paraffinerede reagensglas. Resultaterne ses i fig. 13 og viser en i begyndelsen langsom chloridfraspaltning, der forøges betydeligt efter 2-3 uger, hurtigst i den podede jord. Kurvernes forløb tyder på virkning af en bakteriepopulation i formering, men processen synes at standse, inden alt chlor er ioniseret. Kontrolkulturer i vat-lukkede glas viste en hurtig omend noget uregelmæssig nedbrydning (der resulterede i fuldstændig ionisation efter 1 og 3 uger i henholdsvis podet og upodet jord. Dichlorpropionat må således ventes også at inaktiveres i vandmættet jord, omend langsommere end ved rigelig luftadgang.

OVERSIGT

Det fremgår af de foreliggende forsøg, at de tre chlorholdige organiske syrer sønderdeles af specielle grupper af jordbunds-mikroorganismer, hvis virksomhed først induceres, når de pågældende stoffer tilføres jorden. Der optræder følgerig en vis latensperiode, der kan afkortes eller helt elimineres ved tillige at tilføre aktive bakterier ved forsøgets begyndelse. Når en aktiv population af mikroorganismer er opstået, spontant eller ved kunstig tilførsel (»podning«), skrider sønderdelingen hurtigt fremad under forudsætning af gunstige temperatur- og reaktionsbetingelser.

Monochloracetat er en ret let omsættelig forbindelse, hvis sønderdeling under gunstige betingelser indledes i løbet af få dage. Temperaturer fra 15 til 25° C har kun en mindre indflydelse på processens hastighed, og i neutral jord foregår den endnu relativt hurtigt ved 7° C, omend den først begynder efter en lang latensperiode. Også reaktionen synes at være af underordnet betydning, idet såvel bakterier (*Pseudomonas* sp.) som svampe (især *Trichoderma viride*) er i stand til at sønderdele monochloracetat. Kun ved kombineret sur reaktion ($R_t < 6$) og lav temperatur, samt ved hæmmet iltadgang, synes dette stof at være ret modstandsdygtigt mod biologisk nedbrydning.

Trichloracetat og dichlorpropionat er begge mere stabile. Trichloracetat synes kun at kunne nedbrydes kraftigt af en speciel gruppe af bakterier, der er meget lidt virksomme ved R_t ca. 5,5–5,3; ved stærkere sur reaktion ($R_t < 5$) synes stoffet ikke at nedbrydes biologisk. Sønderdelingen er endnu ret energisk ved 15° C, men ved 7° C er latensperioden i neutral jord meget lang, og selv i moderat sur jord må stoffet ved denne temperatur ventes at være meget bestandigt. Derimod synes manglende luftadgang under iøvrigt gunstige betingelser ikke at hemme trichloracetatets nedbrydning.

Dichlorpropionat synes ligesom trichloracetat kun at kunne sønderdeles af visse bakterier, hvis reaktionskrav ikke tillader nogen kendelig virkning ved $R_t < 5$, medens de endnu er ret aktive ved R_t ca. 5,5, hvor processen dog kun langsomt kommer i gang. Ved lav temperatur (7° C) synes stoffet at nedbrydes noget lettere

end trichloracetat, og processen foregår endnu ret energisk ved manglende luftadgang.

Monochloracetat vil næppe i de praktisk anvendte mængder kunne medføre skadevirkninger. Derimod er det en kendt sag, at de to andre forbindelsers uheldige egenskab netop er den langvarige eftervirkning, der særlig kommer til udtryk ved forårsudbringning. Eftervirkningen bliver fuldtud forståelig i belysning af de nærværende forsøg, idet den øjensynlig er identisk med latensperioden, der må forventes at blive særdeles langvarig under de lave jordbundstemperaturer, der er fremherskende i det sene efterår og tidlige forår; specielt gælder dette for jorder af mere eller mindre sur reaktion ($R_t < 6$). På den anden side giver forsøgene den oplysning, at når en jord først er aktiveret overfor de pågældende stoffer, vil en fornyet tilførsel følges af en relativt hurtig uskadeliggørelse. Det må overlades til fremtidige forsøg at afgøre, hvor længe den aktiverede tilstand bevares, eller om nedbrydningshastigheden i praksis kan forøges, f.ex. ved gentagen tilførsel til samme jord både efterår og forår.

SUMMARY

Biological decomposition of herbicides in the soil

I. Monochloroacetate, trichloroacetate and dichloropropionate

The decomposition of three chloro-organic acids (as sodium salts) was studied in soil under varying conditions, with determination of carbon dioxide production and/or ionization of organically bound chlorine as indexes of the rate of breakdown. All three compounds were decomposed after a latency period that varied greatly but could be eliminated when cell suspensions of active bacteria were added together with the compounds.

Monochloroacetate were most easily decomposed. Bacteria (*Pseudomonas* sp.) as well as certain fungi, particularly *Trichoderma viride*, were responsible for this process which was hardly influenced by soil reaction varying from pH 4.5 to 7. Only in acid soil at low temperature (7°C) or under anaerobic conditions did monochloroacetate appear comparatively resistant.

Trichloroacetate was only decomposed by a special group of bacteria (*Arthrobacter* ?) after a latency period of considerable duration. The activity of the bacteria was feeble at pH 5.4 and practically nil at pH around or below 5, even when active cells were supplied as inoculum.

The process was fairly rapid at 15° C but was only induced very slowly at 7° C. The decomposition of trichloroacetate was not inhibited when oxygen was excluded, but the mechanism of decomposition under these conditions does not seem quite clear.

Dichloro (- α -propionate behaved generally like trichloroacetate, being only decomposed by special groups of bacteria (*Agrobacterium* sp. and a few strains of monochloroacetate-decomposing pseudomonads). The decomposition was only partly inhibited under anaerobic conditions but was slow at pH approx. 5.5 and almost nil at pH below 5. Induction of the process at 15° C and 7° C took place somewhat more rapidly than in the case of trichloroacetate.

Decomposition of both trichloroacetate and dichloropropionate was accompanied by multiplication of the respective groups of active bacteria. The inhibitory effect of both compounds on indicator plants (barley seedlings) disappeared as their chlorine atoms were released in ionic form.

The long latency periods at low temperature explain why the use of trichloroacetate and dichloropropionate as herbicides in late autumn or early spring at prevailing low soil temperature is followed by an undesirably long residual effect; this would presumably be further accentuated at unfavourable soil reaction. On the other hand it may be expected that activation of the soil by repeated application of the compounds will tend to eliminate the latency period and thus abbreviate the residual effect.

LITTERATUR

- Audus, L. J. (1949). — Biological detoxication of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in soil. — *Plant and Soil* 2: 31-36.
- Audus, L. J. (1951). — The biological detoxication of hormone herbicides in soil. — *Plant and Soil* 3: 170-192.
- Bell, G. R. (1957). — Some morphological and biochemical characteristics of a soil bacterium which decomposes 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. — *Canadian Journal of Microbiology* 3: 821-840.
- Benjaminsen, J. og Jensen, J. (1955). — En elektrometrisk metode til bestemmelse af klorindholdet i jord. — *Tidsskrift f. Planteavl* 59: 280-290.
- Bray, H. G., Thorpe, W. V. og Vallance, D. K. (1952). — The liberation of chloride ions from organic chloro compounds by tissue extracts. — *Biochemical Journal* 51: 193-201.
- Dickens, F. (1933). — Interaction of halogenacetates and SH compounds. — *Biochemical Journal* 27: 1141-1151.
- den Dooren de Jong, L. E. (1926). — Bijdrage tot de kennis van het dissimilatieproces. (Thesis, Delft).

- Erikson, Dagny* (1941). - Studies on some lake mud strains of *Micromonospora*. - *Journal of Bacteriology* 41: 277-300.
- Holstun, J. T. og Loomis, W. E.* (1956). - Leaching and decomposition of 2,2: dichloropropionic acid in several Iowa soils. - *Weeds* 4: 205-217.
- Jensen, H. L. og Petersen, H. I.* (1952). - Decomposition of hormone herbicides by soil bacteria. - *Canadian Journal of Microbiology* 3: 151-164.
- Jensen, H. L.* (1957a). - Decomposition of chloro-substituted aliphatic acids by bacteria. - *Acta Agr. Scandinavica* 2: 215-231.
- Jensen, H. L.* (1957b). - Decomposition of chloro-organic acids by fungi. - *Nature* 180: 1416.
- Ogle, R. E., og Warren, G. F.* (1954). - Fate and activity of herbicides in soil. - *Weeds* 3: 257-273.
- Petersen, E. J.* (1926). - Undersøgelser over Forholdet mellem Jordens Kulsyreproduktion, kemiske Tilstandsform og mikrobiologiske Aktivitet. - *Tidsskrift f. Planteavl* 32: 625-674.
- Rai, G. S., og Hammer, C. L.* (1953). - Persistence of sodium trichloroacetate in different soil types. - *Weeds* 2: 271-279.
- Rogoff, M. H., og Reid, J. J.* (1956). - Bacterial decomposition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. - *Journal of Bacteriology* 71: 303-307.
- Stapp, G. og Spicher, G.* (1954). - Untersuchungen über die Wirkung von 2,4-D im Boden. - *Centralbl. f. Bakteriologie (II)* 108: 113-126.
- Stenson, T. og Walker, N.* (1956). - Observations on the bacterial oxidation of chlorophenoxyacetic acids. - *Plant and Soil* 8: 17-32.
- Walker, R. L., og Newman, A. S.* (1957). - Microbiological decomposition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. - *Applied Microbiology* 4: 201-206.
- Worsham, A. D. og Giddens, J.* (1957). - Some affects of 2,2-dichloropropionic acid on soil microorganisms. - *Weeds* 5: 316-320.