



Ispitivanje uticaja vodenog ekstrakta *Satureja montana* L. na rast korisnih mikroorganizama

Jovana Šučur*, Simonida Đurić, Dejan Prvulović, Đorđe Malenčić

Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad, Srbija

*Autor za kontakt: jovana.sucur@polj.edu.rs

SAŽETAK

Da bi alelohemikalija mogla da se upotrebljava kao prirodni herbicid, mora da poseduje fitotoksičnu aktivnost u niskim koncentracijama, da je identifikovana hemijska struktura, da je poznat način delovanja u biljkama i vreme zadržavanja u zemljištu, kao i da je poznat uticaj na mikroorganizme prisutne u zemljištu. Cilj ovog istraživanja je ispitivanje uticaja tri koncentracije (0,1; 0,2 i 10%) vodenog ekstrakata biljke *Satureja montana* L. (*Lamiaceae*), kao potencijalnog prirodnog herbicida, na korisne mikroorganizme prisutne u zemljištu. Analizom rezultata disk-difuzionog testa primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta na korisne bakterije i gljivice pokazano je da vodeni ekstrakt ne pokazuje mikrobicidno dejstvo na ispitivane korisne mikroorganizme, te ne bi trebalo da nepovoljno utiče na njihov rast ukoliko se primeni kao prirodni herbicid.

KLJUČNE REČI

Alelopatija, Mikroorganizmi, *Satureja montana* L.

Uvod

Sekundarni biomolekuli biljaka su osnovni agensi biohemijske interakcije biljaka sa spoljašnjom sredinom. U tom smislu moguće je razlikovati ulogu sekundarnih biomolekula u alelopatskim odnosima (biljka-biljka), u odnosu biljka-insekt, biljka-mikroorganizam, biljka-biljojed i dr. (Zeman et al., 2011; Kostić et al., 2012). Termin *alelopatija* (izveden od dve grčke reči „*allelon*” – jedni na druge i „*pathos*” – patiti odnosno senzitivnost) prvi je upotrebio austrijski botaničar Hans Molisch (1937) za označavanje uticaja jedne biljke na rast i razvoj druge (An et al., 2003; Bhadoria, 2011). Rice je 1984. godine definisao alelopatiju kao direktan ili indirektan, pozitivan ili negativan uticaj jedne biljke na drugu putem hemijskih izlučevina (Bogatek et al., 2006; Blanco, 2007; Safari et al., 2010). Iako se termin alelopatija najčešće upotrebljava za opisivanje hemijskih interakcija između dve biljke (alelopatija u užem smislu), može da se upotrebi i za opisivanje hemijske komunikacije između biljaka i mikroorganizama, biljaka i insekata, biljaka i herbivora (alelopatija u širem smislu) (Weir et al., 2004). Biljka koja izlučuje alelohemikalije u okolinu označava se kao emiter, dok se biljka na koju deluju izlučene alelohemikalije označava kao recipijent (Soltys et al., 2013). Mikroorganizmi preuzimaju alelohemikalije iz zemljišta, transformišu ih i na taj način smanjuju ili povećavaju njihovu toksičnost (De Albuquerque et al., 2011). Osim toga, izlučene alelohemikalije mogu da stimulišu mikroorganizme da produkuju neke druge alelohemikalije koje će delovati na okolne biljke. Pored toga što alelohemikalije utiču na mikroorganizme koji se nalaze u okolini biljke koja ih izlučuje (Weißhuhn and Prati, 2009), indirektno utiču i na životinje koje se hrane biljkama, zatim na dekompoziciju organskih materija u zemljištu, kao i na kruženje azota u prirodi (Inderjit et al., 2011).

U poljoprivrednim sistemima interakcije između biljaka mogu da budu deo interferencije između različitih gajenih kultura, kao i između useva i korova. Ovakve interakcije mogu značajno da utiču na produktivnost poljoprivrednih kultura, iz čega je proizašla ideja o alelopatiji kao perspektivnoj prirodnoj strategiji za kontrolu korova (Dmitrović, 2012; Sharma and Satsangi, 2013). Tokom dve hiljade godina alelopatija je označavana kao biljna interferencija ili sukob interesa biljaka. Najranija zapažanja o alelopatskim odnosima korova i useva zabeležena su još u trećem veku pre nove ere, od strane Teofrasta koji se smatra „ocem botanike”, koji u svom delu *Peri phytion historia* primećuje da leblebija (*Cicer arietinum* L.) iscrpljuje zemljište i negativno deluje na razvoj nekih korova (Li et al., 2010; Džidić-Uzelac, 2014). U ukupnoj strategiji borbe protiv korova alelopatija može biti jedna od važnih komponenti, što bi predstavljalo značajan korak u razvoju održivih sistema zemljoradnje sa smanjenom upotrebom sintetičkih herbicida. Iskorišćavanje alelopatskih pojava sve više dobija na značaju u organskoj poljoprivredi. Primenom metoda organske proizvodnje štiti se i čuva nivo plodnosti poljoprivrednog zemljišta, kao i mikrobiološka aktivnost zemljišta. Da bi alelohemikalija mogla da se upotrebljava kao prirodni herbicid, mora da deluje efikasno i da bude bezbedna po životnu sredinu. Iz tih razloga neophodno je da poseduje fitotoksičnu aktivnost u niskim

koncentracijama, da je identifikovana hemijska struktura, da je poznat način delovanja u biljkama i vreme zadržavanja u zemljištu, kao i da je poznat uticaj na mikroorganizme prisutne u zemljištu.

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje uticaja tri koncentracije (0,1; 0,2 i 10%) vodenog ekstrakta biljke *Satureja montana* L. (Rtanjski čaj) (Lamiaceae), na korisne mikroorganizme.

Material i metod rada

Biljni materijal i priprema ekstrakta

Biljni materijal sakupljen je u fazi cvetanja na području Crne Gore. Pregledan je i kolektovan u Kolekciji primeraka jemstva (Voucher collection) Herbariuma BUNS na Departmanu za biologiju i ekologiju Prirodno-matematičkog fakulteta u Novom Sadu. Pripremljen biljni materijal (herba) je osušen na vazduhu. U Tabeli 1. prikazani su osnovni podaci o broju vaučera, lokalitetu i datumu sakupljanja ispitivane vrste.

Tabela 1

Geografska lokacija područja na kojima je sakupljen uzorak

Table 1

Geographical location of the sample areas

Broj vaučera	Vrsta	Lokalitet	Zemljište	Datum
2-1544	<i>Satureja montana</i> L. 1753 subsp. <i>Montana</i>	Crna Gora Podgorica, Bioče, Potoci N 42.32.23,21; E 19.20.02,17; 123 m	krečnjački kamenjar, pseudomakija	Jun 2012.

Odmereno je 0,15 g osušenog i prethodno usitnjenog biljnog materijala, i potom ekstrahovano vodom (15 mL). Nakon 24 h macerat je proceđen kroz Büchner-ov levak. Napravljen je osnovni 10% vodeni ekstrakt od kojeg su pravljena razblaženja korišćena u daljem radu (0,1 i 0,2%). Ekstrakt je čuvan u frižideru na temperaturi od +4 °C.

Ispitivanje uticaja vodenog ekstrakta *S. montana* na rast korisnih mikroorganizama

Za ispitivanje uticaja vodenog ekstrakta odabrane biljne vrste na rast i razmnožavanje bakterija i gljivica primenjena je disk-difuziona metoda (Prabuseenivasan et al., 2006). U radu su korišćeni bakterijski sojevi i gljivice prikazani u Tabeli 2., poreklom iz mikrobiološke laboratorije Departmana za ratarstvo i povrtarstvo Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu. Bakterije su čuvane na kosom agar-u, na +4 °C.

Agar-difuziona metoda se izvodi na čistoj, sterilnoj, hranljivoj podlozi u Petri posudi. Diskovi sa definisanim koncentracijama ispitivanih vodenih ekstrakata se stavljaju na površinu podloge koja je prethodno zasejana čistom bakterijskom kulturom. Sposobnost rasta i razmnožavanja soja zasejanog na podlozi zavisi od njihove osetljivosti na ispitivani ekstrakt, tako da se oko diska gradi bistra providna zona kružnog oblika u kojoj mikroorganizmi ne rastu ili gusta zona ukoliko ekstrakt stimuliše njihov rast.

Pripremane su kulture mikroorganizama u odgovarajućim hranljivim podlogama (Fjodorova podloga za *Azotobacter*, mesopeptonski agar za *Pseudomonas* i *Bacillus*, podloga po Vincentu za *Rhizobium*, sintetička podloga po Krasiljnikovu za aktinomicete i Chapek-Dox agar za gljivice) i inkubirane na 28 °C. Kulture su zasejane na odgovarajuće sterilne podloge u Petri posudama (prečnik 90 mm, zapremina podloge 25 mL, debljina sloja podloge 4 mm) kako bi se postigao uniformni rast mikroorganizama. Pod sterilnim uslovima, sterilni diskovi (prečnik 2 cm) sa prethodno nanetim različitim koncentracijama ispitivanih vodenih ekstrakata (0,1%, 0,2% i 10%), su postavljeni u Petri posude sa pripremljenom podlogom i mikrobnom suspenzijom, odnosno gljivicama. Inkubacija je vršena na 28 °C. Svaki test je urađen u triplikatu. Nakon 48 h, 72 h i 120 h mereni su prečnici (mm) zona inhibicije/stimulacije rasta.

Tabela 2

Bakterijski sojevi i gljivice korišćeni u radu.

Table 2

Bacterial strains and fungi used in the research.

Azotobacter	Ritska crnica 2
	Pseudoglej 1
	Černozem
Pseudomonas	Violeta
	Dragana
	Marker
Bacillus	Bacillus subtilis marker 44
	Bacillus subtilis Violeta
	Bacillus megaterium 2
Rhizobium	Bradyrhizobium japonicum S511 (soja)
	Rhizobium D1 (grašak)
	Rhizobium trifolii 1 (detelina)
Gljivice	Penicillium sp
	Alternaria sp
	Trichoderma asperellum

Rezultati i diskusija

Rezultati disk-difuzionog testa uticaja različitih koncentracija vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1%, 0,2% i 10%), na tretirane bakterijske sojeve i gljivice, prikazani su u Tabeli 3. Analizom rezultata uočava se da vodeni ekstrakt odabrane biljke porodice Lamiaceae ne pokazuje baktericidno dejstvo na korisne mikroorganizme zemljišta. Vodeni ekstrakt nije uticao ni na rast ispitivanih gljivica.

Naime, bakterijski sojevi Černozem (*Azotobacter*), Violeta, Dragana, Marker (*Pseudomonas*) *Rhizobium trifolii* (*Rhizobium*), kao i gljivice *Penicillium sp*, *Alternaria sp* i *Trichoderma asperellum* pokazali su se potpuno rezistentnim na dejstvo vodenog ekstrakta i pri najvećoj koncentraciji (10%). Na bakterijske sojeve Ritska crnica 2, Pseudoglej 1, *Bacillus subtilis* marker 44, *Bacillus subtilis* Violeta, *Bacillus megaterium*, *Bradyrhizobium japonicum* S511 i *Rhizobium D₁* vodeni ekstrakti su ispoljili stimulatívno dejstvo na rast tj. bakterijski tepih je bio gušći oko diskova. Najveći stimulatívni efekat postignut je pri najvećoj koncentraciji, što ukazuje da vodeni ima pozitivan uticaj na korisne mikroorganizme i da je ta zavisnost dozno-zavisna.

Rezultati ispitivanja antimikrobne aktivnosti vodenih ekstrakata *S. montana* su u saglasnosti sa podacima koji se mogu naći u referentnoj literaturi (Serrano et al., 2011). Pomenuti autori su utvrdili da vodeni ekstrakt *S. montana* ne pokazuje antibakterijsku aktivnost na testiranim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Na istim bakterijskim sojevima etarsko ulje *S. montana* pokazuje snažno antimikrobno dejstvo (Serrano et al., 2011). Većina etarskih ulja različitih biljnih vrsta poseduju antimikrobnu aktivnost zbog njihovog liposolubilnog karaktera, što im omogućava lak prolaz kroz fosfolipidni dvosloj ćelijske membrane mikroorganizma. Odsustvo fungicidne aktivnosti polarnih ekstrakata samoniklih biljaka utvrđeno je i za druge biljke porodice Lamiaceae (Malenčić, 2001).

Iako je poznato da flavonoidi potencijalno poseduju antimikrobnu aktivnost, primenjene koncentracije vodenog ekstrakta nisu pokazale antimikrobnu sposobnost. Ovi rezultati se mogu objasniti time da ispitani vodeni ekstrakt ima nizak sadržaj bioaktivnih jedinjenja odgovornih za antimikrobnu aktivnost na ispitivane sojeve korisnih mikroorganizama, što omogućava njegovu primenu bez negativnog efekta po korisne mikroorganizme zemljišta.

Tabela 3 Uticaj vodenog ekstrakta *S. montana* (0,1 %, 0,2 % i 10 %) na rast korisnih mikroorganizama
Table 3 The influence of *S. montana* aqueous extract (0.1%, 0.2% and 10%) on the growth of useful microorganisms

Vreme		72 h			120 h		
%		0.1	0.2	10	0.1	0.2	10
<i>Azotobacter</i>	Ritska crnica 2	+	++	+++	+++	+++	+++
	Pseudoglej 1	+	++	++	+	++	+++
	Černozem	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Pseudomonas</i>	Violeta	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	Dragana	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	Marker	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Bacillus</i>	Bacillus subtilis marker 44	nu	nu	++	+	++	+++
	Bacillus subtilis Violeta	nu	nu	++	nu	nu	++
	Bacillus megatherium 2	nu	nu	++	nu	nu	++
<i>Rhizobijum</i>	Bradyrhizobium japonicum S511 (soja)	nu	nu	+	+	+	+
	Rhizobium D ₁ (grašak)	nu	nu	+	++	++	++
	Rhizobium trifolii 1(detelina)	nu	nu	nu	nu	nu	nu
<i>Gljivice</i>	Penicilium sp	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	Alternaria sp	nu	nu	nu	nu	nu	nu
	Trichoderma asperellum	-	nu	nu	nu	nu	nu

Znak „+” označava da je u toj zoni gušći bakterijski tepih, odnosno stimulisan rast bakterija; „nu” znači da nema uticaja na bakterijski rast

Zaključci

Analizom rezultata disk-difuzionog testa primenjenih koncentracija vodenog ekstrakta *S. montana* na korisne bakterije i gljivice zemljišta primećuje se da vodeni ekstrakt ne pokazuje baktericidno i fungicidno dejstvo, te ne bi trebalo da nepovoljno utiče na njihov rast ukoliko se primeni kao prirodni herbicid.

Literatura

- An, M., Liu, D.L., Johnson, I.R., Lovett, J.V. 2003. Mathematical modelling of allelopathy: II. The dynamics of allelochemicals from living plants in the environment. *Ecol. Model.* 161: 53–66.
- Bhadoria, P.B.S. 2011. Allelopathy: A Natural Way towards Weed Management. *Am. J Exp. Agric.* 1(1): 7–20.
- Blanco, J.A. 2007. The representation of allelopathy in ecosystem-level forest models. *Ecol. Model.* 209: 65–77.
- Bogatek, R., Gniazdowska, A., Zakrzewska, W., Oracz, K., Gawroski, S.W. 2006. Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth. *Biol. Plantarum.* 50(1): 156–158.
- De Albuquerque, M.B., Dos Santos, R.C., Lima, L.M., Melo Filho, P.A., Nogueira, R.J.M.C., Da Camara, C.A.G., Ramos, A.R. 2011. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 31: 379–395.
- Dmitrović, S. 2012. Alelopatski efekti transformisanih korenova. Doktorska disertacija, Biološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.
- Džidić-Uzelac, L. 2014. Alelopatija. Seminarski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu.
- Inderjit, I., Wardle, D.A., Karban, R., Callaway, R.M. 2011. The ecosystem and evolutionary contexts of allelopathy. *Trends Ecol. Evolut.* 26: 655–662.
- Kostić, I., Marković, T., Krnjajić, S. 2012. Sekretorne strukture aromatičnih biljaka sa posebnim osvrtom na strukture sa etarskim uljima, mesta sinteze ulja i njihove važnije funkcije. *Lekovite Sirovine.* 32: 3–25.
- Li, Z.H., Wang, Q., Ruan, X., Pan, C., Jiang, D.A. 2010. Phenolics and Plant allelopathy. *Molecules.* 15: 8933–8952.
- Malenčić, Đ. 2001. Biohemijska istraživanja odabranih samoniklih vrsta roda *Salvia* iz Vojvodine. Doktorska disertacija, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, S. 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complement. Altern. Med.* 6: 39–47.
- Safari, H., Tavili, A., Saberi, M. 2010. Allelopathic effects of *Thymus kotschyanus* on seed germination and initial growth of *Bromus tomentellus* and *Trifolium repens*. *Front. Agric. China* 4(4): 475–480.
- Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M.L., Marques, A. 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L. extracts. *J. Sci. Food Agric.* 91: 1554–1560.
- Sharma, M., Satsangi, P.G. 2013. Potential Allelopathic Influence of Sunflower (*Helianthus Annuus* L.) on Germination and Growth behavior of Two Weeds *in-vitro* Condition. *Int. J. Biotech. Bioeng. Res.* 4(5): 421–426.
- Soltys, D., Krasuska, U., Bogatek, R., Gniazdowska, A. 2013. Allelochemicals as Bioherbicides-Present and Perspectives, *Herbicides – Current Research and Case Studies in Use*, doi: 10.5772/56185.
- Weir, T.L., Park, S.W., Vivanco, J.M. 2004. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7: 472–479.
- Weißhuhn, K., Prati, D. 2009. Activated carbon may have undesired side effects for testing allelopathy in invasive plants. *Basic Appl. Ecol.* 10: 500–507.
- Zeman, S., Fruk, G., Jeremić, T. 2011. Alelopatski odnosi biljaka: pregled djelujućih čimbenika i mogućnost primjene. *Glasnik zaštite bilja*, 34(4): 52–59.

The influence of *Satureja montana* L. aqueous extract on the growth of useful microorganisms

Jovana Šućur*, Simonida Đurić, Dejan Prvulović, Đorđe Malenčić

University of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of Field and Vegetable Crops, Novi sad, Serbia

*Corresponding author: jovana.sucur@polj.edu.rs

ABSTRACT

Some allelochemical could be used as natural herbicide, only if it expresses phytotoxic activity at low concentrations, its chemical structure is identified, the mode of action in plants is known, the time of retention in the soil is known, and the effects on the microorganisms present in the soil is known. The aim of this study was to examine the effect of three concentrations (0,1; 0,2 and 10%) of *Satureja montana* L. (Lamiaceae) aqueous extract, as a potential natural herbicide, on the growth of useful microorganisms. By analyzing the results of the disc-diffusion test of the applied concentrations of the aqueous extract on useful bacteria and fungi, it has been shown that the aqueous extract did not show microbicidal effect.

KEY WORDS

Allelopathy, Microorganisms, *Satureja montana* L.

Primljen: 17.11.2017.

Prihvaćen: 25.12.2017.