

Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla na ponašanje herbicida glifosata, s-metolaklora i 2,4-D

Pavlović, Matea

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:128356>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla na ponašanje herbicida glifosata, s-metolaklora i 2,4-D

DIPLOMSKI RAD

Matea Pavlović

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



Diplomski studij:

Agroekologija - Agroekologija

**Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla
na ponašanje herbicida
glifosata, s-metolaklora i 2,4-D**

DIPLOMSKI RAD

Matea Pavlović

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Mario Sraka

Zagreb, rujan, 2021.



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZJAVA STUDENTA O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Matea Pavlović**, JMBAG 0125158849, rođen/a 12.10.1996. u Gradu Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

**Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla na ponašanje herbicida
glifosata, s-metolaklora i 2,4-D**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta / studentice



Sveučilište u Zagrebu
Agronomski fakultet

University of Zagreb
Faculty of Agriculture



IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Matea Pavlović**, JMBAG 0125158849, naslova

**Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla na ponašanje herbicida
glifosata, s-metolaklora i 2,4-D**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Izv. prof. dr. sc. Mario Sraka mentor

2. Izv. prof. dr. sc. Klara Barić član

3. Doc. dr. sc. Vilim Filipović član

Sadržaj

1.	Uvod	1
1.1.	Cilj rada	2
2.	Značajke herbicida glifosata, s-metolaklor i 2,4-D	3
2.1.	Glifosat	5
2.2.	S-metolaklor	7
2.3.	2,4-D	9
3.	Utjecaj tla na ponašanje herbicida	12
3.1.	Adsorpcija/desorpcija, apsorpcija herbicida u tlu	12
3.2.	Ispiranje i površinsko otjecanje	14
3.3.	Isparavanje ili volatizacija	15
3.4.	Mikrobiološka, kemijska i fotokemijska razgradnja herbicida	15
4.	Utjecaj fizikalnih značajki tla na ponašanje herbicida	18
4.1.	Tekstura tla	19
4.1.1.	Utjecaj teksture na glifosat	20
4.1.2.	Utjecaj teksture na s - metolaklor	21
4.1.3.	Utjecaj teksture na 2,4-D	22
4.2.	Struktura tla i poroznost	23
4.2.1.	Utjecaj strukture na glifosat	24
4.2.2.	Utjecaj strukture na s-metolaklor	25
4.2.3.	Utjecaj strukture na 2,4-D	25
4.3.	Vlaga i temperatura tla	25
4.3.1.	Utjecaj vlage i temperature na glifosat	26
4.3.2.	Utjecaj vlage i temperature na s-metolaklor	27
4.3.3.	Utjecaj vlage i temperature na 2,4-D	28
4.4.	Usporedba utjecaja fizikalnih značajki tla na analizirane herbicide	28
5.	Utjecaj kemijskih značajki tla na ponašanje herbicida	30
5.1.	Organska tvar	30
5.1.1.	Utjecaj organske tvari na glifosat	31
5.1.2.	Utjecaj organske tvari na s-metolaklor	32
5.1.3.	Utjecaj organske tvari na 2,4-D	33
5.2.	pH	33
5.2.1.	Utjecaj pH na glifosat	34
5.2.2.	Utjecaj pH na s-metolaklor	35
5.2.3.	Utjecaj pH na 2,4 - D	35
5.3.	Oksidi i hidroksidi aluminija, željeza i silicija	35
5.3.1.	Utjecaj oksida i hidroksida aluminija, željeza i silicija na glifosat	36
5.3.2.	Utjecaj oksida i hidroksida aluminija, željeza i silicija na s-metolaklor	37
5.3.3.	Utjecaj oksida i hidroksida aluminija, željeza i silicija na 2,4-D	37
5.4.	Fosfor	37
5.4.1.	Utjecaj fosfora na glifosat	38
5.5.	Usporedba utjecaja kemijskih značajki tla na analizirane herbicide	39
6.	Utjecaj bioloških značajki tla na ponašanje herbicida	41
6.1.	Mikroorganizmi	41
6.1.1.	Utjecaj mikroorganizama na glifosat	42

6.1.2.	Utjecaj mikroorganizama na S-metolaklor	43
6.1.3.	Utjecaj mikroorganizama na 2,4-D	44
6.2.	Makroorganizmi	45
6.2.1.	Gliste	45
6.2.1.1.	Utjecaj glista na glifosat	46
6.2.1.2.	Utjecaj glista na s-metolaklor	47
6.2.1.3.	Utjecaj glista na 2,4-D	47
6.2.2.	Biljke	48
6.2.2.1.	Utjecaj biljaka na glifosat	49
6.2.2.2.	Utjecaj biljaka na s-metolaklor	50
6.2.2.3.	Utjecaj biljaka na 2,4-D	51
6.3.	Usporedba utjecaja bioloških značajki tla na analizirane herbicide	51
7.	Zaključak	53
8.	Literatura	54
9.	Životopis	65

Sažetak

Diplomskog rada studenta/ice **Matea Pavlović**, naslova

Utjecaj fizikalnih, kemijskih i bioloških značajki tla na ponašanje herbicida glifosata, s-metolaklora i 2,4-D

Herbicidi u tlu nakon primjene podliježu procesima gubitaka (adsorpcija, apsorpcija, površinsko otjecanje i ispiranje, volatizacija) i procesima razgradnje (mikrobiološka, fotokemijska, kemijska). Koji proces će prevladati u okolišu ovisi o fizikalno-kemijskim značajkama herbicida i okolišnim uvjetima, od kojih su fizikalno-kemijsko-biološke značajke tla vrlo važan čimbenik. Značajke herbicida i tla nalaze se u kompleksnoj interakciji. Cilj rada je prikazati utjecaj fizikalnih (tekstura, struktura, poroznost, vlaga i temperatura), kemijskih (organska tvar, pH, oksidi i hidroksidi željeza, aluminijska i silicijeva) i bioloških (utjecaj mikro i makro organizama) značajki tla na ponašanje herbicida koji su među najzastupljenijim u Hrvatskoj: glifosata, s-metolaklora i 2,4-D. Temeljem pregleda i analize brojnih znanstvenih radova može se zaključiti da svi navedeni čimbenici utječu na ponašanje ovih herbicida. Za postizanje zadovoljavajućeg herbicidnog učinka u agroekosustavu potrebno je poznavanje svih navedenih značajki, ali i njihovu kompleksnu interakciju.

Ključne riječi: herbicidi, tlo, glifosat, s-metolaklor, 2,4-D

Summary

Of the master's thesis - student **Matea Pavlović**, entitled

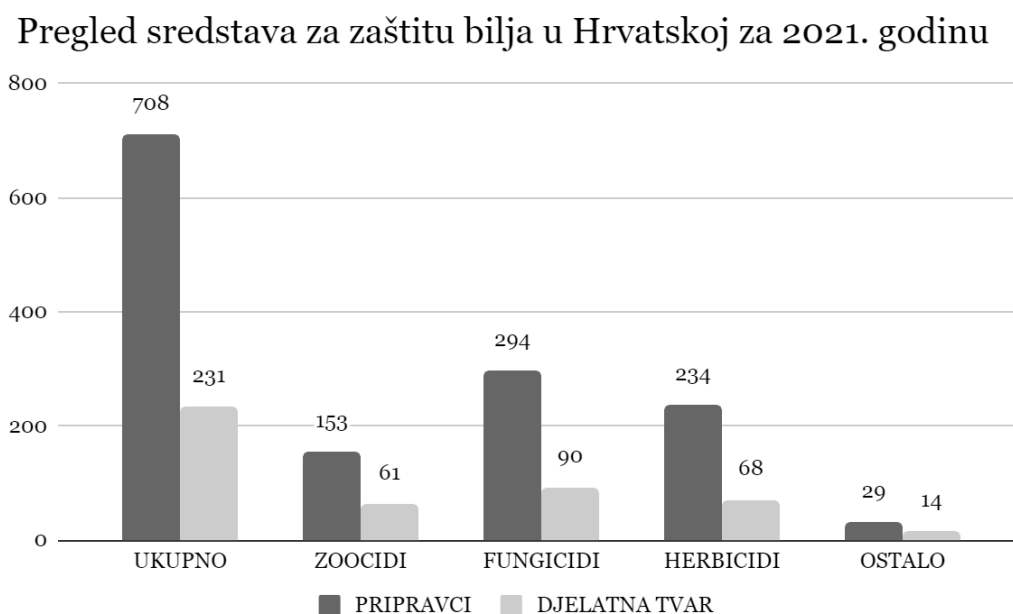
The influence of physical, chemical and biological characteristics of soil on the behavior of herbicides glyphosate, s-metolachlor and 2,4-D

Herbicides in the soil after application are subject to various processes (adsorption, absorption, surface runoff and leaching, volatilization) and degradation processes (microbiological, photochemical, chemical). Which process will prevail in the environment depends on the physico-chemical characteristics of the herbicide and environmental conditions, of which the physico-chemical-biological characteristics of the soil are a very important factor. Herbicide and soil characteristics are in a complex interaction. The aim of this paper is to elaborate the influence of physical (texture, structure, porosity, moisture and temperature), chemical (organic matter, pH, oxides and hydroxides of iron, aluminum and silicon) and biological (influence of micro and macro organisms) soil characteristics on herbicide behavior which are among the most common in Croatia: glyphosate, s-metolachlor and 2,4-D. Based on the review and analysis of numerous scientific studies, it can be concluded that all these factors affect the behavior of these herbicides. To achieve a satisfactory herbicidal effect in the agroecosystem, it is necessary to know all the above characteristics, but also their complex interaction.

Keywords: herbicides, soil, glyphosate, s-metolachlor, 2,4-D

1. Uvod

Herbicidi spadaju u veliku skupinu pesticida na čijoj se osnovi formuliraju (pripravljaju) sredstva za zaštitu bilja (pripravci) koja se koriste za suzbijanje korova i koja je široko zastupljena u današnjoj poljoprivrednoj proizvodnji (slika 1.1.). Procjenjuje se da bi se bez primjene pesticida, od kojih najveći dio otpada na herbicide, globalna proizvodnja hrane smanjila za čak 35-40 %, što bi povećalo cijenu hrane i ugrozilo prehrambenu sigurnost za čovječanstvo (Lewis i sur., 2016.).



Slika 1.1. Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2021. godinu

Izvor: Bažok i sur. (2021.)

U Hrvatskoj se herbicidi klasificiraju temeljem učinka na biljke i prema kemijskom sastavu u 33 grupa (Bažok i sur., 2021.). Do danas je proizveden ogromni broj pripravaka herbicida s različitim djelovanjima. Povećanjem ekološke osviještenosti današnjeg stanovništva potiče se primjena selektivnih, biorazgradivih i niskotoksičnih spojeva. Sve informacije o dopuštenim aktivnim tvarima koje se smiju koristiti na teritoriju Europske unije su navedene u javno dostupnoj bazi podataka, EU Pesticides Database. Na temelju dostupne baze podataka herbicidi glifosat, s-metolaklor i 2,4-D se smiju koristiti u poljoprivrednoj proizvodnji (Europska komisija, 2021.).

Herbicidi se općenito smatraju najekonomičnijom i najučinkovitijom metodom za suzbijanje štetnih korova kako u poljoprivrednom, tako i u nepoljoprivrednom okruženju (Wu i sur., 2011.). Uz pozitivne učinke primjene herbicida u koju spadaju uništavanje korova i osiguravanje dovoljnih količina zdravstveno ispravne hrane, smanjenje rada, te uporabe goriva i strojeva potrebnih za zaštitu usjeva, postoje i negativni učinci koji se prvenstveno

očituju u onečišćenju okoliša. Stoga je njihova uporaba strogo zakonski regulirana. Zakonom o održivoj uporabi pesticida (NN 14/14, 115/18, 32/20) donosi se Nacionalni akcijski plan radi postizanja održive uporabe pesticida, koji propisuje edukaciju stručnih osoba za rukovanje s pesticidima, pravilno rukovanje, proizvodnju, skladištenje i distribuciju različitih pripravaka pesticida, smanjivanje rizika od uporabe pesticida, provođenje mjera zaštite okoliša, smanjenje uporabe pesticida i provođenja brojnih drugih odredba. Uz ovaj zakon postoji i Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 71/2019), koji propisuje tvari i spojeve koji se smatraju onečišćujućim za poljoprivredno zemljište, a tu se nalaze i pesticidi.

Bez obzira primjenjuj li se herbicidi za tretiranje tla ili za tretiranje lista nakon aplikacije većina primijenjene količine će dospjeti u tlo. Dolaskom u tlo herbicidi podliježu različitim procesima gubitaka ili prijenosa i razgradnje, pri čemu su gotovo svi procesi reverzibilni i u interakciji s okolišem. Koji će proces u okolišu prevladati ovisi o fizikalno-kemijskim značajkama herbicida, kao i okolišnim uvjetima, prvenstveno fizikalnim, kemijskim i biološkim značajkama tla, vremenskim prilikama i primijenjenim agrotehničkim i hidrotehničkim mjerama. Budući su navedeni čimbenici u neprestanoj interakciji, uključujući i uzgajanu kulturu, nije moguće jednoznačno opisati kako će se primijenjeni herbicidi ponašati u tlu.

Razumijevanje ponašanja herbicida u tlu ključno je za preciznu procjenu njegovog ponašanja u okolišu, odnosno za sigurnu uporabu novih i postojećih pripravaka herbicida (Kah i Brown, 2007.). Kako bi se moglo ustanoviti kako će se pojedini herbicid ponašati u okolišu potrebno je poznavati značajke primijenjenog herbicida, ali i fizikalne (tekstura, struktura, vlaga, temperatura), kemijske (sadržaj organske tvar, pH, oksidi i hidroksidi aluminijske, željezne i silicijne) i biološke (mikroorganizmi i makroorganizmi) značajke tla. Sve navedeno ima izraziti utjecaj na ponašanje herbicida, samostalno, ali i u međusobnoj interakciji.

1.1. Cilj rada

Cilj ovoga preglednog rada je temeljem literaturnih podataka prikazati utjecaj fizikalnih (tekstura, struktura, poroznost, vlaga i temperatura), kemijskih (pH, organska tvar, adsorpcijski kompleks) i bioloških (utjecaj mikro i makro organizama) značajki tla na ponašanje herbicida glifosat, s-metolaklor i 2,4-D, koji su među najzastupljenijim u upotrebi, kako u Hrvatskoj, tako i u svijetu.

2. Značajke herbicida glifosata, s-metolaklora i 2,4-D

Prilikom primjene herbicida potrebno je poznavati njihova svojstva uz same značajke zemljišta na kojemu će se primjenjivati. Za potrebu ovoga rada potrebne informacije o pesticidima pronađeni su u bazi podataka The Pesticide Properties Database (PPDB). PPDB ili Baza podataka o svojstvima pesticida je sveobuhvatna, relacijska baza podataka u kojoj su navedeni podaci o fizikalno - kemijskim, toksikološkim, ekotoksikološkim svojstvima, te utjecaj pesticida na ljudsko zdravlje, kao i neka druga svojstva. Uz ovu bazu podataka postoje još i The BioPesticides Database (BPDB) - slična PPDB, ali sadrži podatke za biološke pesticide i The Veterinary Substance Database (VSDB) - sadrži podatke koji se odnose na tvari koje se koriste prilikom uzgoja životinja, uglavnom stoke (PPDB, University of Hertfordshire, 2016.).

Temeljne značajke herbicida proizlaze iz njihove kemijske građe. Među najvažnijim svojstvima herbicida, o kojima ovisi njihovo ponašanje u interakciji s tlom su: topljivost u vodi, konstanta disocijacije (pK_a), tlak pare, poluvijek raspada u tlu (DT_{50}), GUS indeks, koeficijent sorpcije na organski ugljik, Freundlich-ov koeficijent i faktor biokoncentracije (PPDB, University of Hertfordshire, 2016.). Navedena svojstva su opisana u tablici 2.1.

Tablica 2.1. Opće fizikalno-kemijske značajke herbicida

Svojstvo	Opis
Topljivost u vodi (S_w), mg/l	Predstavlja masu herbicida otopljenog u određenom volumenu vode, pri čemu je voda u kemijskoj ravnoteži s herbicidom. Funkcija je temperature i pH vrijednosti vodene otopine.
Konstanta disocijacije, (pK_a)	Definira se kao negativni logaritam konstante kiselosti. Jačina kiselina i baza može se odrediti pri 25°C. Što je niža pK_a vrijednost jača je kiselina. Pesticidi su ili trajno u ionskom obliku ili će promijeniti stanje na temelju pH vrijednosti. Poznavanje ionskog stanja pesticida predstavlja važnu informaciju o potencijalnoj mobilnosti i perzistentnosti spoja u okolišu.
Tlak pare, mPa	Tlak pri kojem je tekućina u ravnoteži s parom pri 20°C. Mjera je tendencije spoja da isparava. Što je veći tlak pare veći je potencijal isparavanja.
Poluvijek raspada (DT_{50}) u tlu, dani	Vrijeme potrebno da se primijenjena doza nekog herbicida razgradi za 50%. Označava vrijednost DT_{50} u polju ili laboratoriju. Tipični podaci su dobiveni u laboratorijskim istraživanjima, ali ako je tvar perzistentna u laboratorijskim uvjetima, mogu se provesti poljske studije.

GUS indeks	GUS indeks empirijski i semikvantitativno opisuje potencijal ispiranja herbicida. Temelji se na svojstvima herbicida i ne uzima u obzir uvjete okoliša. Indeks se računa temeljem poluvijeka raspada (DT_{50}) i koeficijenta sorpcije na organski ugljik (Koc). Ako je: GUS > 2.8 herbicid je sklon ispiranju, GUS 1.8 - 2.8 herbicid je umjereno sklon ispiranju, GUS < 1.8 herbicid je neznatno sklon ispiranju.
Koeficijent sorpcije na organski ugljik, Koc/Kfoc, mg/l	Izražava sposobnost adsorpcije herbicida na organski ugljik. Što je vrijednost veća, adsorpcija herbicida je izraženija. Koc/Kfoc vrijednosti veće od 1000 ukazuju na snažnu adsorpciju u tlu. Herbicidi s Koc/Kfoc vrijednostima nižim od 500 zbog slabije adsorpcije podložniji su kretanju u otopini tla. Kod pojedinih herbicida Koc/Kfoc vrijednosti uvelike ovise o pH vrijednosti.
Freundlich-ov koeficijent, K_f i $1/n$	Freundlich-ov koeficijent (K_f i $1/n$) služi za predviđanje mobilnosti pojedinog herbicida u okolišu. Može se prikazati jednadžbom koja se zove Freundlichova izoterma, koja se koristi za opis adsorpcije. Jednadžba glasi: $Q = kC^{1/n}$, gdje je Q količina adsorbiranog herbicida u ravnoteži, C je koncentracija herbicida u otopini, k i n su empirijske konstante.
Faktor biokoncentracije	Opisuje nakupljanje herbicida kemijskim razdvajanjem iz vodene faze u organsku fazu, kao npr. u škrge ribe. Označava koncentraciju herbicida u tkivu po koncentraciji herbicida u vodi.

Izvor: Pesticide Properties Database University of Hertfordshire, 2016.

Topljivost u vodi (S_w) je jedno od najvažnijih svojstava herbicida u pogledu njegove adsorpcije na čvrste čestice tla (stoje u obrnuto proporcionalnom odnosu) i direktno utječe i na sklonost herbicida površinskom otjecanju ili ispiranju (Braschi i sur., 2011.).

Hidrofobnost (K_{ow}) se iskazuje koeficijentom raspodjele između organske faze (oktanola) i vode. Koristi se u ekološkim studijama i često se prikazuje kao logaritamska vrijednost. Logaritamska vrijednost koeficijenta upućuje na tendenciju bioakumulacije herbicida. Polarnost molekule je usko povezana s koeficijentom. Za polarne molekule je K_{ow} niži od 1,5, dok je za nepolarne iznad 4 (Barceló i Hennion, 1997.). Ovo svojstvo herbicida pozitivno korelira s adsorpcijom, a negativno s topljivošću spoja (Singh i sur., 2003.).

Perzistentnost herbicida iskazuje se poluvijekom raspada. Ostojić (1989.) je definirao perzistentnost kao značajku nekog spoja da u prirodnim uvjetima tla dugo postoji u aktivnom obliku. Na temelju poluvijeka raspada herbicidi se mogu klasificirati na perzistentne (u tlu postojani > 100 dana), umjereno perzistentne (30 - 100 dana) i neperzistentne (> 30 dana) (Gavrilescu, 2005.). Temeljem poluvijeka raspada i koeficijenta adsorpcije (K_{oc}) može se

pratiti pokretljivost herbicida u tlu (Pintar, 2020.), pri čemu vrijedi pravilo da što je veći poluvijek raspada i manji koeficijent adsorpcije pokretljivost herbicida je veća. Jedan od pokazatelja potencijala ispiranja herbicida je GUS indeks opisan u tablici 2.1. (PPDB, University of Hertfordshire, 2016.).

Koeficijent adsorpcije (K_d) je vrijednost kojom se iskazuje intenzitet adsorpcije pojedinog herbicida na čestice tla. Prikazuje omjer količine vezanog spoja i količine spoja u otopini tla nakon adsorpcije (Weber i sur., 2000). Koeficijent adsorpcije ukazuje na pokretljivost i bioraspoloživost herbicida u tlu. Ako je K_d nekog herbicida iznad 100 tada je taj herbicid čvrsto vezan na adsorpcijski kompleks tla (Wauchope i sur., 2002.). Koeficijent adsorpcije K_d je promjenjiva vrijednost za pojedina tla, odnosno ovisi o fizikalno-kemijskim značajkama tla (tekstura, struktura, sadržaj organske tvari, pH) (Đurović-Pejčev, 2011).

Kod korištenja herbicida potrebno je voditi računa i o utjecaju na neciljane vrste, te je stoga važno poznavati toksičnosti za pojedine skupine organizama, način ulaska tih tvari u organizam, te LD_{50} koji u toksikologiji predstavlja dozu koja je potrebna da se ubije polovica populacije. Na temelju toksičnosti, kancerogenosti, mutagenosti i drugih svojstava koja nepovoljno utječu na ljudsko zdravlje Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) i Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC) donose klasifikacije za svaki pojedini spoj, a općenita klasifikacija je prikazana u tablici 2.2 (University of Hertfordshire, 2016.).

Tablica 2.2. Klasifikacija pesticida prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO) i Međunarodnoj agenciji za istraživanje raka (IARC)

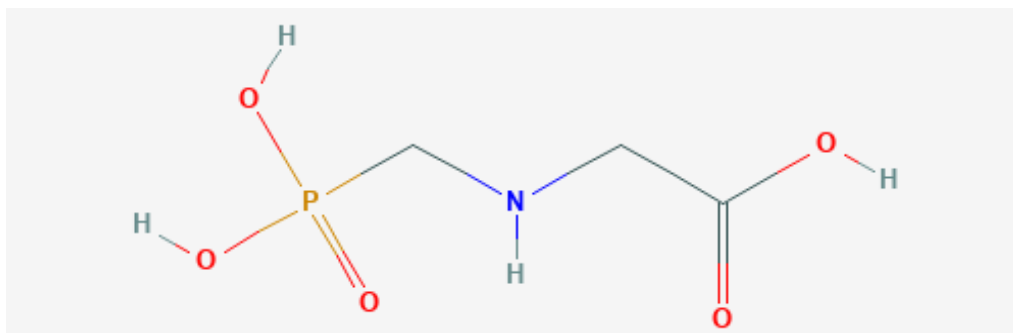
WHO - klasifikacija toksičnosti		IARC - klasifikacija kancerogenosti	
klasa Ia	izuzetno opasno	grupa 1	dokazano kancerogeno
klasa Ib	vrlo opasno	grupa 2A	vjerojatno kancerogeno
klasa II	umjereno opasno	grupa 2B	moguće kancerogeno
klasa III	slabo opasno	grupa 3	nije kancerogeno za ljude
		grupa 4	nije kancerogeno

Izvor: University of Hertfordshire, 2016.

2.1. Glifosat

Glifosat (slika 2.1.1) je sistemski (translokacijski), neselektivni herbicid širokog spektra koji se koristi za suzbijanje jednogodišnjih i višegodišnjih biljaka, što uključuje različite vrste trava, trajnica, vinove loze, grmlja i drveća (Costa i Ashner, 2014.). Glifosat je učinkovit za više od 100 jednogodišnjih širokolisnih korova i travnih vrsta te više od 60 višegodišnjih vrsta korova (Baldi i sur., 2017.). Glifosat je jedan od najčešće korištenih herbicida u svijetu, a razvojem transgenih usjeva, koji podnose tretiranje s glifosatom, proširena je njegova primjena (Costa i Ashner, 2014.). Glifosat se koristi u poljoprivredi, u

uzgoju žitarica, soje te tolerantnih usjeva na glifosat, u hortikulturi, u šumarstvu, u domaćim vrtovima i travnjacima (Lewis i sur., 2016.).



Slika 2.1.1. Kemijska struktura glifosata

izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3496#section=2D-Structure>, (pristupljeno: 5.6.2021.)

Od ranih sedamdesetih godina poznato je da glifosat djeluje tako da inhibira biosintezu aromatskih aminokiselina u biljkama, a detaljna istraživanja otkrila su da odgovorni mehanizam blokira ključni korak u šikimatskom putu, odgovoran za sintezu aromatičnih aminokiselina i kritičnih biljnih metabolita. Glifosat taj učinak ostvaruje inhibiranjem aktivnosti enzima 5-enolpiruvilšikimat 3-fosfat sintaze (EPSPS) katalizirajući transformaciju fosfoenol piruvata (PEP) u šikimat-3 fosfat (S3P). Ovaj metabolički put postoji kod biljaka, gljivica i bakterija, ali ne i kod životinja. Bez obzira što životinjama nedostaje ovaj metabolički put, zabilježene su posljedice široke upotrebe glifosata na okoliš (Székács i Darvas, 2012.). Herbicid ulazi u biljku kroz lišće, a brzina ulaska ovisi o biljnim vrstama. Kada je u biljci, glifosat se kreće u floemu sa šećerom i transportira do mjesta rasta u roku od 4 sata, a zatim usporava i zaustavlja se za 48 sati. Na unos utječu biljni stres, prašina i ekstremne vremenske prilike (Valavanidis, 2018.).

Glifosat ima izvrsne okolišne značajke poput brze apsorpcije u tlu, biorazgradivosti i izuzetno niske toksičnosti za sisavce, ptice i ribe. Glifosat je nisko hlapljiv, stabilan je na sunčevoj svjetlosti, potpuno je topiv u vodi i jednostavan za primjenu na usjevima (Valavanidis, 2018.). Glavni metabolit glifosata, koji nastaje biotransformacijom u tlu, je aminometilfosfonska kiselina (AMPA) (Rose i sur., 2016.). Općenite značajke glifosata prikazuje tablica 2.1.1.

Tablica 2.1.1. Opće fizikalno - kemijske značajke glifosata

Svojstvo	Vrijednost
Topljivost u vodi (S_w), mg / l	10500, visoka
Konstanta disocijacije (pKa)	2.34
Hidrofobnost (K_{ow}), logP	-3,2, niska
Vrijeme poluraspada (DT_{50}), pri aerobnim uvjetima	

DT ₅₀ - tipični	15, nije perzistentan
DT ₅₀ u laboratoriju pri 20 °C	15, nije perzistentan
DT ₅₀ u polju	23.79, nije perzistentan
Koeficijent adsorpcije (K _d)	209,4, slabo pokretan
Koeficijent sorpcije organskog ugljika (K _{oc} / K _{foc}), mg / l	1424, kreće se u rasponu od 884 do 50660
GUS indeks potencijala ispiranja	-0.29, niska ispirljivost
Freundlich - ov koeficijent (K _f i 1/n)	226.3, nije mobilan
Tlak pare, mPa	0.0131, niska hlapljivost
Faktor biokoncentracije, l / kg	0.5, niski potencijal
LD ₅₀ , akutna 14 dana, glista <i>Eisenia foetida</i>	> 5600, niska

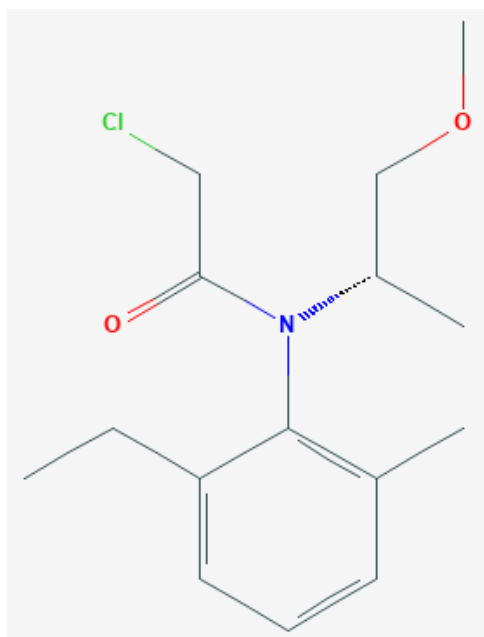
Izvor: Lewis i sur., 2016.

Na temelju IARC-ove klasifikacije kancerogenosti, glifosat pripada u grupu 2A - vjerojatno kancerogeno, što znači da postoje određeni dokazi da je glifosat kancerogen za čovjeka. Potencijalno može toksično djelovati na mjehur i jetru kod čovjeka. Na temelju WHO-ove klasifikacije, glifosat se ubraja u klasu III - slabo opasne tvari (University of Hertfordshire, 2016.).

2.2. S-metolaklor

Metolaklor je selektivni herbicid kojeg biljka usvaja korijenom i listom, stoga se primjenjuje prije i nakon nicanja korova. Primarno se koristi za suzbijanje jednogodišnjih travnih (koštan, muhari, prosa, svračica) i nekih jednogodišnjih širokolisnih korova. U Hrvatskoj ima dopuštenje za primjenu (registraciju) u kukuruzu, soji, suncokretu, šećernoj i stočnoj repi, uljanoj repici, duhanu, vinovoj lozi, voćnjacima i u brojnim povrćarskim kulturama (Barić i Ostojić, 2021.).

S-metolaklor (slika 2.2.1) je fizički i kemijski ekvivalentan metolakloru, ali obogaćen je s-izomerom koji povećava njegovu djelotvornost u osjetljivim biljkama, ali i smanjuje rizik za ljude koji ga primjenjuju i okoliš (Zemolin i sur., 2014.). Na tržištu se s-metolaklor nalazi od 1998. godine (Lewis i sur., 2016.).



Slika 2.2.1. Kemijska struktura s-metolaklora

izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/S-Metolachlor#section=2D-Structure>, (pristupljeno: 5.6.2021.)

Način djelovanja s-metolaklora u biljkama je putem inhibicije stanične diobe i sinteze masnih kiselina vrlo dugog lanca zbog ometanja brojnih enzima. U jednogodišnjim travama tkivo izbojaka apsorbira s-metolaklor dok raste. U širokolisnih korova apsorpcija korijenom važan je put unosa herbicida. Tolerancija usjeva pripisuje se sposobnosti biljaka da brzo metaboliziraju i detoksiciraju s-metolaklor. To se događa cijepanjem metilne eterske skupine nakon čega slijedi konjugacija s glukozom ili konjugacija kloroacetilne skupine s glutationom (GSH) ili homoglutationom u određenim mahunarkama (Zemolin i sur., 2014.).

Opće značajke s-metolaklora prikazuje tablica 2.2.1.

Tablica 2.2.1. Opće fizikalno-kemijske značajke s-metolaklora

Svojstvo	Vrijednost
Topljivost u vodi (S_w), mg / l	480, umjerena
Konstanta disocijacije (pKa)	Nije primjenjivo
Hidrofobnost (K_{ow}), logP	3,05, visoka
Vrijeme poluraspada (DT_{50}), pri aerobnim uvjetima	
DT_{50} - tipični	51.8, umjereno perzistentan
DT_{50} u laboratoriju pri 20 °C	51.8, umjereno perzistentan
DT_{50} u polju	23.17, nije perzistentan

Koeficijent adsorpcije (K_d)	-
Koeficijent sorpcije organskog ugljika (K_{oc} / K_{foc}), mg / l	-
GUS indeks potencijala ispiranja	2.32, prijelazno stanje
Freundlich - ov koeficijent (K_f i $1/n$)	3.36, umjereno mobilan
Tlak pare, mPa	3.7, niska hlapljivost
Faktor biokoncentracije, l / kg	68.8, niski potencijal
LD ₅₀ , akutna 14 dana, glista <i>Eisenia foetida</i>	570, umjerena

Izvor: Lewis i sur., 2016.

Na temelju IARC-ove klasifikacije kancerogenosti s-metolaklor se smatra potencijalnim ljudskim kancerogenom i potencijalno toksično djeluje na jetru i štitnjaču. Na temelju WHO-ove klasifikacije, s-metolaklor se ubraja u klasu III - slabo opasne tvari (University of Hertfordshire, 2016.).

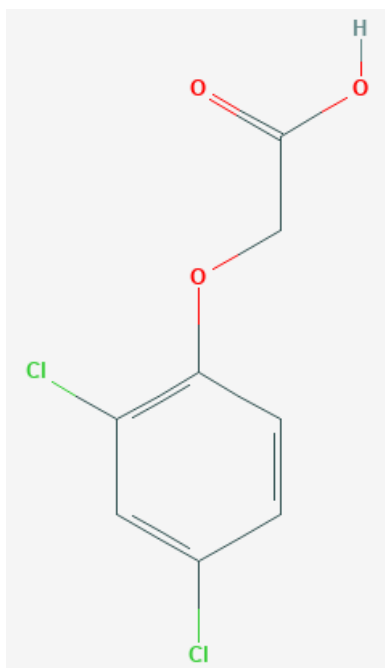
2.3. 2,4-D

2,4-D (slika 2.3.1) jedan je od najčešće korištenih herbicida u cijelom svijetu, a prvenstveno se koristi u poljoprivredi za suzbijanje korova u uzgoju kukuruza i žitarica, šumarstvu i održavanju travnjaka (Costa i Ashner, 2014.). 2,4-D je selektivni sistemski herbicid odobren za uporabu u EU i koristi se za suzbijanje širokolisnih korova. U tlu nije postojan, ali pod određenim uvjetima može se zadržati u vodenim sustavima. Umjereno je toksičan za sisavce, ali se ipak ne smije bioakumulirati, jer može imati negativne učinke na reprodukciju i smatra se neurotoksinom i nadražujućim sredstvom. Umjereno je toksičan za ptice i većinu vodenih vrsta, kao i za medonosne pčele i gliste (Lewis i sur., 2016.).

Prvi je put razvijen tijekom Drugog svjetskog rata, a proslavio se kao komponenta kontroverznog Agent Orange-a koji se koristio tijekom rata u Vijetnamu. Danas je 2,4-D i dalje jedan od najčešće korištenih herbicida na tržištu. 2,4-D se prodaje u obliku kiselina, soli (uglavnom amina) ili estera pod mnogo različitih trgovačkih naziva (Tu i sur., 2001.).

2,4-D djeluje na dikotiledone oponašajući hormon rasta auksin, koji uzrokuje nekontrolirani rast i na kraju smrt kod osjetljivih biljaka. Poluvrijeme 2,4-D u okolišu je relativno kratko, u prosjeku 10 dana u tlima i manje od deset dana u vodi, ali može perzistirati znatno duže na hladnim, suhim tlima ili tamo gdje nije prisutna odgovarajuća mikrobiološka populacija. U okolišu se većina formulacija razgrađuje u anionski oblik koji je topiv u vodi i ima potencijal da bude vrlo mobilan.

Esterske formulacije su toksične za ribe i vodene beskralješnjake, ali formulacije soli registrirane su za uporabu protiv vodenih korova. Određene kulture, poput vinove loze, vrlo su osjetljive na 2,4-D i primjenu ovog herbicida treba izbjegavati u blizini vinograda.



Slika 2.3.1. Kemijska struktura 2,4-D

izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1486#section=2D-Structure>, (pristupljeno: 5.6.2021.)

Niske koncentracije 2,4-D mogu također potaknuti sintezu RNA, DNA i proteina što dovodi do nekontrolirane diobe i rasta stanica, te u konačnici do uništenja vaskularnog tkiva. S druge strane, visoke koncentracije 2,4-D mogu inhibirati diobu i rast stanica. Biljna smrt obično se dogodi u roku od tri do pet tjedana nakon primjene (Tu i sur., 2001.).

Opće značajke 2,4-D herbicida prikazuje tablica 2.3.1.

Tablica 2.3.1. Opće fizikalno - kemijske značajke 2,4-D

Svojstvo	Vrijednost
Topljivost u vodi (S_w), mg / l	24300, visoka
Konstanta disocijacije (pKa)	3.4
Hidrofobnost (K_{ow}), logP	-0,82, niska
Vrijeme poluraspada (DT_{50}), pri aerobnim uvjetima	
DT_{50} - tipični	4.4, nije perzistentan
DT_{50} u laboratoriju pri 20 °C	4.4, nije perzistentan
DT_{50} u polju	28.8, nije perzistentan
Koeficijent adsorpcije (K_d)	0,7, pokretan
Koeficijent sorpcije organskog ugljika (K_{oc} / K_{foc}), mg / l	39.3

GUS indeks potencijala ispiranja	3.82, visoka isparljivost
Freundlich - ov koeficijent (K_f i $1/n$)	0.45, mobilan
Tlak pare, mPa	0.009, niska hlapivost
Faktor biokoncentracije, l / kg	10, niski potencijal
LD ₅₀ , akutna 14 dana, glista <i>Eisenia foetida</i>	350, umjerena

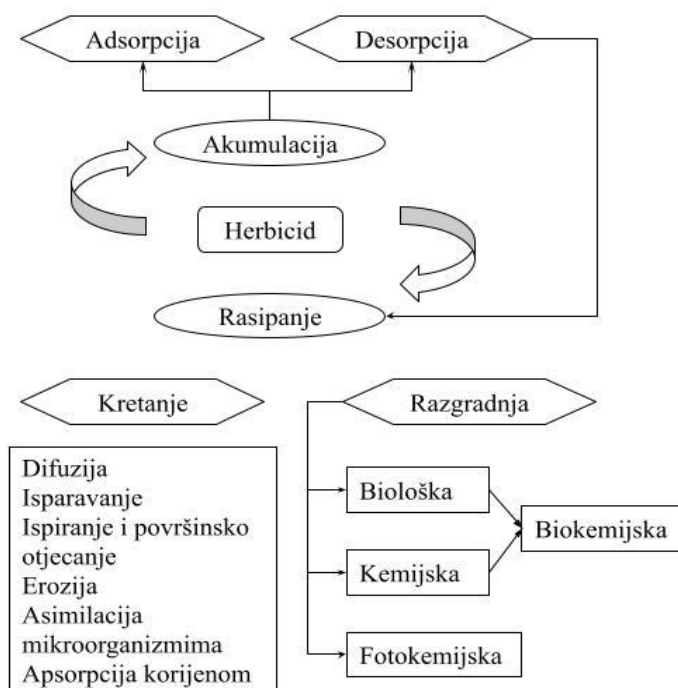
Izvor: Lewis i sur., 2016.

Visoke koncentracije 2,4-D mogu štetno utjecati na probavni sustav i potencijalno toksično djelovati na jetru i bubrege. 2,-D može uzrokovati i endokrine probleme zbog sinergijskog androgenog učinka u kombinaciji s testosteronom. Na temelju WHO-ove klasifikacije, 2,4-D se ubraja u klasu II - umjereno opasne tvari (University of Hertfordshire, 2016.).

3. Utjecaj tla na ponašanje herbicida

Ostojić (1989.) navodi da herbicidi u tlu podliježu procesima gubitaka ili prijenosa (adsorpcija, apsorpcija, ispiranje, površinsko otjecanje i isparavanje) i procesima razgradnje (mikrobiološka, kemijska i fotokemijska). Procesima prijenosa ne mijenja se molekula herbicida, ali ono postaje biljci nedostupno, dok procesi razgradnje dovode do razlaganja molekule herbicida na produkte koji često više nisu herbicidno aktivni.

Na shematskom prikazu na slici 1 prikazani su svi procesi kojima podliježu herbicidi u tlu. Svi ti procesi su u međusobnoj interakciji i ovisnosti s fizikalnim, kemijskim i biološkim čimbenicima tla, ali i fizikalno - kemijskim značajkama primijenjenog herbicida.



Slika 3.1. Proces koji utječu na ponašanje herbicida u tlu (Izvor: Navarro i sur., 2017.)

3.1. Adsorpcija/desorpcija, apsorpcija herbicida u tlu

Adsorpcija, kao proces vezanja herbicida iz plinovite ili tekuće faze za površinu čestica čvrste faze tla, jedan je od najvažnijih procesa koji reguliraju pokretljivost i dostupnost herbicida u tlu (Helling, 2005.; Yu i sur., 2006.).

Skup svih mineralnih i organskih koloidnih čestica koji imaju sposobnost vezanja ionskih spojeva na svoju površinu naziva se adsorpcijski kompleks tla. Međutim organski koloidi, kao i mineralni glineni koloidi tla, posjeduju prvenstveno negativni naboj, te će najbolje moći vezati herbicide u kationskom obliku. Mali dio funkcionalnih skupina koloida tla je pozitivno nabijeno te će u određenoj mjeri moći adsorbirati i herbicide u anionskom obliku. Na taj način je omogućeno vezanje ioniziranih herbicida mehanizmom izmjene iona. Od mineralnih koloida ističu se minerali gline, te oksidi i hidroksidi aluminijska, željezna i

silicija, a organska tvar tla predstavlja organski dio. Organska tvar, iako ima izrazito veliku aktivnu površinu pa time i veliki kapacitet adsorpcije herbicida, često se nalazi u tlu u izrazito niskim količinama, čime se smanjuje adsorpcijska sposobnost tla (Pintar i Barić, 2018.).

Adsorpcija se općenito dijeli na fizikalnu i kemijsku. Fizikalna adsorpcija naziva se i van der Waals-ova adsorpcija, a predstavlja vezanje adsorbata na površinu adsorbensa međumolekularnim djelovanjem, poput dipol-dipol interakcija, induciranih dipol interakcija, disperzijskih interakcija i ion-dipol interakcija. Važno je da ovako adsorbirane tvari zadržavaju svoju kemijsku strukturu i nakon desorpcije se mogu vratiti u prvotno stanje. Kemijska adsorpcija nastaje zahvaljujući Coulombovim silama između adsorbensa i adsorbata i dolazi do stvaranja čvrste kovalentne veze, čime je desorpcija vezanoga herbicida vrlo otežana. Općenito govoreći, fizikalna adsorpcija rezultira niskom čvrstoćom vezanja, dok kemijska adsorpcija omogućuje veliku čvrstoću vezivanja (Bailey i White, 1964.).

Adsorpcija je vjerojatno najvažniji način interakcije tla i herbicida i kontrolira koncentraciju herbicida u otopini tla. Nekoliko čimbenika određuje snagu adsorpcije herbicida u tlu. Tu se ubrajaju fizikalno-kemijske značajke herbicida (topljivost u vodi, hidrofobnost i konstanta disocijacije), vrsta prisutnih koloida u tlu, pH tla, vrsta adsorbiranih kationa, sadržaj vlage u tlu i vrijeme doticaja herbicida s tlom (Adams, 1973.).

Herbicidi, ako su topljivi u vodi ili ako se nalaze u obliku para se mogu kretati kroz pore tla ili se vezati na mineralne čestice kada dođu u interakciju s njima.

Reakcija tla utječe na adsorpcijski koeficijent i stupanj topljivosti herbicida, budući da o njoj ovisi nalaze li se herbicidi u molekularnim ili ionskim oblicima. O obliku pojavljivanja herbicida u tlu ovisi hoće li se moći adsorbirati na čvrste čestice, odnosno koloide tla.

Mehanizam kojim se herbicidi adsorbiraju za čestice tla je izrazito složen. Adsorpcija herbicida za čestice tla se može odrediti adsorpcijskim koeficijentom, koji predstavlja odnos koncentracije adsorbiranog herbicida za čestice tla i koncentracije herbicida koja je ostala u otopini tla. Vrijednost adsorpcijskog koeficijenta ovisi o fizikalno - kemijskim značajkama tla (Đurović-Pejčev, 2011.).

Desorpcija je fizikalno-kemijski proces koji dovodi do oslobađanja reverzibilno vezanih tvari, npr. herbicida s površine adsorbenta. Do desorpcije može doći ako su molekule vezane slabim fizikalnim interakcijama za adsorbent i ako dođe do promjena u fizikalno-kemijskim značajkama tla (Bailey i White, 1964.).

Nužno je razlikovati procese adsorpcije od apsorpcije. Apsorpcija predstavlja proces kojime se tvar, npr. herbicid unosi u drugu tvar difuzijom i u toj tvari se veže ili transformira. Herbicidi se iz otopine tla mogu apsorbirati od strane korijenovog sustava biljke, bilo ciljane ili neciljane vrste (Crafts i Yamaguchi, 1960.). Apsorbirani herbicid se u biljci transportira provodnim snopovima kroz biljku do ciljanog mjesta djelovanja. Herbicid koji biljka usvoji putem lišća se transportira floemom (asimilatima), dok se herbicid apsorbiran iz tla transportira putem ksilema (transpiracijskim putem, odnosno putem vode i minerala) (Ostojić 1989.). Procesom apsorpcije, herbicide iz otopine tla, mogu apsorbirati i makroorganizmi koji žive u tom tlu (Crafts i Yamaguchi, 1960.).

3.2. Ispiranje i površinsko otjecanje

Otopina tla i pripadajući topljivi ili desorbirani herbicid mogu se kretati unutar profila tla (Carter, 2000.). Herbicidi koji se ispiru vertikalno kroz profil tla (što se naziva ispiranje) potencijalno mogu dospjeti do podzemne vode. Herbicidi koji se ispiru po površini tla (što se naziva površinsko otjecanje) mogu su potencijalno akumulirati u površinskim vodama (rijeke, mora, jezera).

Smatra se da herbicidi koji se lako ispiru izvan rizosfere tla, odnosno koji imaju najveću topljivost u vodi, imaju najveći potencijal onečišćenja podzemnih voda. Voda kao prijenosno sredstvo može potjecati od oborina ili uslijed primjene veće količine vode prilikom navodnjavanja. Do ispiranja dolazi kada se primjenjuju količine vode koje su veće od kapaciteta tla za vodu. Vrlo često se provode laboratorijska istraživanja kvantifikacije ispiranja herbicida na kolonama tla na koje se primjenjuje herbicid koji se proučava ili korištenjem tankoslojne kromatografije, ovisno o prirodi upotrijebljenog herbicida kao i o koloidnom sastavu tla i njegovom potencijalu adsorpcije (Navarro i sur., 2007.).

Vertikalno kretanje otopine tla i herbicida ovisi o značajkama tla (prvenstveno teksturi, strukturi i adsorpciji) i topografiji zemljišta (na ravnim terenima je veća infiltracija nego na nagnutim, pa time je veće i ispiranje). Rezidui herbicida se mogu isprati izravno u podzemnu vodu. Količinu herbicida koja može dospjeti u podzemne vode kontrolira nekoliko čimbenika, kao što su: adsorpcija, razgradnja, kemijska i fizikalna svojstva herbicida, značajke tla, uvjeti okoliša, oborine i navodnjavanje (Müller i sur., 2007.). Gubici primijenjene aktivne tvari mogu biti i do 5 %, obično su manji od 1 %, ali uslijed prisutnosti pukotina (u glinastim tlima) i veće količine makropora (u pjeskovitim tlima) oni mogu biti i znatno veći (Carter, 2000.).

Površinsko kretanje vode i herbicida se događa kada količina oborina premaši infiltracijsku sposobnost tla, pri čemu dolazi do površinskog kretanja vodotopivih ostataka herbicida, kao i onih adsorbiranih na organskim i/ili mineralnim koloidnim česticama tla. Taj proces interveniraju razni čimbenici, među kojima su najvažniji: nagib tla, formulacija herbicida i vrijeme od njegove primjene, stabilnost strukturnih agregata tla, biljni pokrov, intenzitet oborina, fizikalno-kemijske značajke herbicida i stupanj adsorpcije. Općenito, gubici herbicida površinskim otjecanjem su najveći kada se nedugo nakon nanošenja herbicida na površinu tla javljaju obilne kiše ili prekomjerno navodnjavanje (Navarro i sur., 2007.). Procjenjuje se da su ovi gubici s poljoprivrednih površina obično smanji od 0,05 % primijenjene aktivne tvari, ali na lokalnim razinama mogu biti i ekološki značajni što ovisi o specifičnim agroklimatskim uvjetima (Carter, 2000.).

Fizikalno-kemijske značajke herbicida o kojima najviše ovisi njihovo površinsko otjecanje i ispiranje su topljivost u vodi, koeficijent adsorpcije tla (K_d) i vrijeme polurazgradnje (DT_{50}) u tlu. Oni herbicidi koji su topljiviji, s nižim koeficijentom adsorpcije i koji imaju duže vrijeme polurazgradnje više su skloni ispiranju i veća je vjerojatnost da će se isprati (Carter, 2000.).

Na kraju navodimo specifično površinsko premještanje herbicida s jednog mjesta na drugo djelovanjem vjetra, pri čemu se herbicid adsorbira na čvrstu fazu tla (prvenstveno

čestice gline i praha) i ovisno o snazi i brzini vjetra, kao i disperznosti čestica tla prenosi na veću ili manju udaljenost, što također može uzrokovati onečišćenje površinskih voda (rijeka, mora, jezera).

3.3. Isparavanje ili volatizacija

Herbicidi primijenjeni na tlu razdijelit će se između čvrste faze tla, otopine tla (tekuće faze) i atmosfere tla (plinovite faze). Volatizacija je proces kojim spoj isparava u atmosferu, pri čemu je volatizacija herbicida iz tla i njegovo daljnje raspršivanje u atmosferi česta pojava. Volatizirani herbicid predstavlja gubitak, a zračnim strujanjem se može prenijeti i na velike udaljenosti od primarne tretirane površine (Navarro i sur., 2007.).

Volatizacija herbicida se može dogoditi na dva načina: 1. evapotranspiracija iz tla i biljaka; 2. disperzija u atmosferu difuzijom i turbulentnim miješanjem. Iz termodinamičke perspektive, tok volatizacije predstavlja faznu promjenu iz tekuće i/ili krute faze u fazu pare i može se dobro opisati kao difuzni proces. Razvijeno je i dosta metoda za procjenu isparavanja herbicida u poljskim uvjetima čiji se proračuni temelje na gradijentima brzine vjetra, temperature i značajkama samih pesticida (Gish i sur., 2011.).

Isparavanje herbicida ovisi o tlaku pare herbicida, temperaturi i vlažnosti tla, koloidnom sastavu, poroznosti, strukturi, pH vrijednosti, o prirodi i koncentraciji herbicida u tlu, te o stupnju adsorpcije (Navarro i sur., 2007.). Isparavanje je u pravilu izraženija s porastom vlage i temperature tla. Müller i sur. (2007.) navode da konačna brzina volatizacije ovisi o kinetici desorpcije, prijenosu, odnosno raspodjeli herbicida između vode i zraka, te čvrste faze i zraka, kao i o evaporaciji.

Reguliranjem načina primjene herbicida (unošenje herbicida u tlo u odnosu na primjenu na čitavu površinu, te primjenom u obliku granula ili mikrokapsula) može se značajno smanjiti stupanj volatizacije (Müller i sur., 2007.).

Gubici volatizacijom najznačajniji su za ostatke herbicida koji ostaju na površini golog, vlažnog tla i mogu u ekstremnim slučajevima doseći čak do 90 % (Carter, 2000.). Ostojić (1989) navodi da vrlo hlapivi herbicidi pod određenim uvjetima mogu ishlapiti i do 20 % kroz pola sata. Međutim može se generalno reći da su gubici volatizacijom kod herbicida općenito niski (Carter, 2000.).

3.4. Mikrobiološka, kemijska i fotokemijska razgradnja herbicida

Mikrobiološka razgradnja je potpuna ili djelomična razgradnja unesenih herbicida pod djelovanjem mikroorganizama i/ili njihovih metaboličkih produkata. Mikroorganizmi u tlu (bakterije, gljive, aktinomicete i alge) koriste organske molekule herbicida kao izvor ugljika i energije te ih postepeno (cijepanjem intramolekulskih veza) prevode u anorganske molekule. Razlikuje se tri vrste biološke razgradnje herbicida: 1. biorazgradnja u kojoj se mala ili neznatna razgradnja događa pri neposrednoj izloženosti mikroorganizama herbicidu te ga oni koriste kao izvor ugljika i energije; 2. kometabolizam gdje razgradnja započinje čim herbicid dođe do tla, uglavnom zbog katalize izvanstaničnim enzimima, ovo je ujedno

najrasprostranjeniji oblik razgradnje i u ovom procesu herbicidi ne služe kao izravni izvor energije, već se transformiraju metaboličkim reakcijama; 3. bioakumulacija gdje se herbicidi ugrađuju i akumuliraju u organizmima tla (većinom makroorganizmima) aktivnim ili pasivnim procesima usvajanja (Müller i sur., 2007.). Brzina mikrobiološke razgradnje u tlu ovisi o: 1. dostupnosti herbicida ili metabolita mikroorganizmima; 2. fiziološkom statusu mikroorganizama; 3. preživljavanju i/ili proliferaciji mikroorganizama koji razgrađuju herbicide; 4. održivoj populaciji mikroorganizama. Temperatura, vlaga, pH, humus, hranjive tvari i količina herbicida ili metabolita u tlu također mogu djelovati kao ograničavajući čimbenik za mikroorganizme koji razgrađuju herbicide. Općenito se smatra da je mikrobiološka aktivnost najizraženija u toplim, vlažnim, blago kiselim do neutralnim, eutrofnim i humoznim tlima, kod primjene manjih doza herbicida (Sing, 2008.).

Tri su moguća područja u kojima se herbicidi mogu nalaziti u kopnenom dijelu ekosustava: 1. površinskom dijelu tla; 2. unutar profila odnosno u podpovršinskim slojevima; 3. u podzemnoj vodi ili saturiranoj zoni tla. Biorazgradnja herbicida na površini je prvenstveno aerobna i vrlo brza jer površinska tla imaju velik broj aerobnih mikroorganizama čiji se broj obično smanjuje s dubinom, dok je biorazgradnja u profilu tla i podzemnoj vodi sporija (Sing, 2008.).

Potpuna biološka razgradnja herbicida uključuje oksidaciju matičnog spoja do ugljik(IV)oksida i vode. Svaki korak razgradnje kataliziraju specifični enzimi koje proizvode mikroorganizmi unutar stanice (kao unutarstanični enzimi koji se otpuštaju uginućem stanice), ili koje otpuštaju u tlo (kao izvanstanični enzimi). Razgradnja herbicida bilo vanjskim ili unutarnjim enzimima zaustavit će se ako odgovarajući enzimi nisu prisutni, što je jedan od čestih razloga postojanosti bilo kojeg herbicida u okolišu. Ako u tlu nema odgovarajućih mikroorganizama ili je mikrobna populacija koja obavlja biorazgradnju smanjena zbog toksičnosti herbicida, u tom se slučaju mogu dodati specifični mikroorganizmi u tlo kako bi se pojačala aktivnost postojeće populacije (Sing, 2008.).

Brojni kemijski procesi (hidroliza, oksidacija i redukcija, supstitucija, eliminacija, dehalogenizacija, fotoliza) koji su odgovorni za kemijsku razgradnju herbicida u tlu mogu se svesti na tri osnovna: 1. hidroliza; 2. redoks procesi; 3. kompleksiranje i tvorba u vodi netopljivih soli.

Hidroliza je važan proces razgradnje mnogih herbicida u reakciji s vodom, pri čemu se produkti cijepanja kovalentnih veza u herbicidu vežu s H^+ i OH^- ionima iz vode. Čimbenici koji utječu na hidrolizu uključuju sadržaj organske tvari i sadržaj gline, pH tla (npr. neki se spojevi hidroliziraju pri kiselom pH, a drugi pri alkalnom), temperaturu i mikrobne enzime (Müller i sur., 2007.). Za neke herbicide hidroliza se odvija brže u tlu nego u vodenim sustavima zbog katalitičkog djelovanja adsorpcijskog kompleksa (Armstrong i Konrad, 1974.).

Redoks procesi uključuju prijenos elektrona s jednog reaktanta na drugi tvoreći pri tom električki nabijene produkte, a mogu se odvijati istodobno s hidrolizom ili zasebno, na što utječe pH, temperatura i vlažnost tla, sadržaju kisika i drugih oksidansa. (Müller i sur., 2007.).

U tlima bogatim Ca^{2+} ionima herbicidi mogu tvoriti netopive kalcijeve soli, dok neki ioni metala (npr bakar, željezo, magnezij, kobalt, nikel) mogu s herbicidima tvoriti netopive komplekse (Ostojić, 1989.).

Kemijske reakcije inducirane elektromagnetskim zračenjem predstavljaju potencijalno važan put za izmjenu i/ili razgradnju herbicida. Da bi došlo do fotorazgradnje, herbicid prvo mora apsorbirati svjetlosnu energiju, što se događa izravno ili posredstvom neke druge pobuđene molekule. Većinu UV zračenja koje emitira sunce u području valnih duljina ispod 285 nm apsorbira ozon u zemljinoj atmosferi, te se očekuje da se samo oni herbicidi koji apsorbiraju svjetlost iznad 285 nm podvrgnu fotokemijskoj razgradnji na sunčevoj svjetlosti (Armstrong i Konrad, 1974.). Slijedom toga, djelovanje fotolize na herbicide ovisi o vremenu izlaganja herbicida svjetlu, intenzitetu i valnoj duljini zračenja, značajkama herbicida, pH i prisutnosti fotosenzibilizatora.

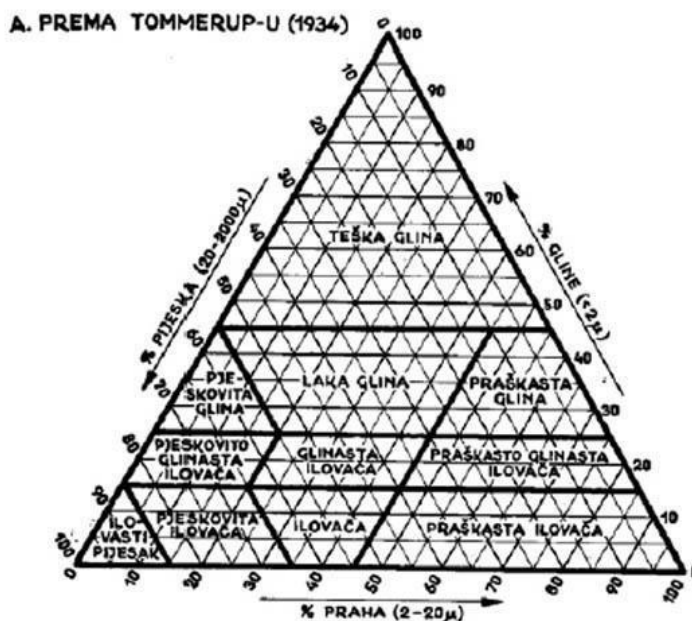
U tlima, s velikom količinom organskog ugljika ili gline, može doći do povećane fotolitičke razgradnje herbicida kada je površina tla osunčana. Istraživanja ukazuju da huminske tvari proizvode reaktivne kisikove vrste - atome kisika i hidroksilne radikale, kada su izloženi sunčevoj svjetlosti i doprinose pojačanoj fotokemijskoj razgradnji (Müller i sur., 2007.). Iako je fotoliza dosta proučavana kao proces razgradnje herbicida, glavna zamjerka je što su istraživanja uglavnom provedena u laboratorijskim uvjetima koji se znatno razlikuju od poljskih (Pintar, 2020.).

4. Utjecaj fizikalnih značajki tla na ponašanje herbicida

Tlo, kao prirodno-povijesni medij, je trofazni sustav koji čine kruta, tekuća i plinovita faza. Faze tla su međusobno povezane fizikalnim interakcijama, koje imaju i značajni utjecaj na ponašanje herbicida u tlu. Među najznačajnijim fizikalnim značajkama tla koje utječu na ponašanje herbicida mogu se izdvojiti tekstura, naročito udio gline te vrsta sekundarnih minerala gline, struktura, poroznost posebice diferencijalna poroznost, vlaga tla i temperatura tla.

4.1. Tekstura tla

Tekstura ili mehanički sastav tla predstavlja prostorni udio čestica tla, koje prema Međunarodnom pedološkom društvu čine sitnica (čestice manje od 2 mm promjera) i skelet (čestice veće od 2 mm promjera). Sitnicu čine čestice pijeska (veličine 2 do 0,02 mm), praša (veličine 0,02 do 0,002 mm promjera), te čestice gline koje su manje od 0,002 mm. Skelet čine čestice šljunka (veličine 2 do 20 mm) i kamena koji je veći od 20 mm. Nakon što se u laboratoriju odredi postotni udio pojedinih frakcija čvrste faze tla kombinacijom metoda prosijavanja i sedimentacije, teksturna oznaka tla se određuje pomoću tabela ili grafikona kao što je onaj prikazan na slici 4.1.1.



Slika 4.1.1. Tommerup-ov trokut za klasifikaciju teksture

Skelet predstavlja krupnu frakciju tla koja nastaje fizikalnim trošenjem matične stijene, a čine ju dijelovi stijena koje ne zadržavaju vodu. Tla s velikim udjelom skeleta su jako vodopropusna, slabe vododrživosti, topla i prozračna i kemijski i biološki praktički neaktivna. Sitnica predstavlja sitnu frakciju tla i sastoji se od pijeska, praša i gline. Pijesak

nastaje fizikalnim trošenjem stijene, a po svojim karakteristikama je nevezan i rastresit, ne drži vodu i vodopropusan je, nije plastičan niti ljepljiv te u njemu izostaje ili je vrlo slabo kapilarno dizanje vode, te nema mogućnost adsorpcije herbicida. Sitni pijesak ima bolja fizikalna svojstva od krupnog pijeska. Bolje drži vodu, manja je poroznost i ima bolji kapilarni uspon od krupnog pijeska. Prah je frakcija koja se po svojim svojstvima nalazi između pijeska i gline. Nastaje fizikalnim trošenjem matičnog supstrata, od pijeska je manje rastresit, dobro zadržava vodu, no slabije ju i propušta. Prah ima najbolji kapacitet za vodu od ostalih frakcija. Slabo je ljepljiv i plastičan, slabo bubri i tla bogata prahom imaju nestabilnu strukturu te su sklona zbijanju i stvaranju pokorice, te imaju mali kapacitet adsorpcije herbicida, pogotovo na donjoj granici veličine. Glina je najsitnija frakcija tla i najznačajnija je i najaktivnija sastavnica krute faze tla. Nepropusna je za vodu, ljepljiva je, plastična je i ovisno o tipu minerala može različito bubriti. Ima veliku sposobnost vezanja vode, no većina vode vezane na gline je nedostupna biljkama. Tla bogata glinom imaju jako loše fizikalne značajke, ali zato imaju vrlo dobre kemijske značajke zbog velike aktivne površine i visokog kapaciteta adsorpcije.

Osim udjela gline u tlu na adsorpciju herbicida ima utjecaj i vrsta sekundarnih minerala gline. Minerali gline, ovisno o građi, mogu adsorbirati u različitoj količini herbicide na vanjsku ili, kada su u pitanju smektit, vanjsku i unutarnju ili međulaminarnu površinu. Osnovne građevne jedinice minerala gline jesu Si-tetraedri i Al-oktaedri koji se slažu i čine slojeve. Temeljem broja slojeva ili građe minerali gline se dijele na dvoslojne koji imaju jedan sloj Si-tetraedara i jedan sloj Al-oktaedara (1:1 građe) i troslojne koji imaju dva sloja Si-tetraedara i jedan sloj Al-oktaedara (2:1 građe). U dvoslojne sekundarne minerale gline pripada kaolinit i haloizit, dok 2:1 građu imaju ilit, vermikulit i smektitna skupina, u kojoj je najznačajniji montmorilonit (Škorić, 1991.).

Velika specifična površina (površina po jednom gramu) kao i kemijska reaktivnost koju posjeduju sekundarni minerali gline mijenjaju značajke tla. Konkretno, u vertisolu koji sadrži više od 35% čestica gline koja bubri prilikom vlaženja (montmorilonitna glina) dolazi do porasta specifične površine (unutarnje i vanjske), a izomorfim zamjenama iona u kristalnoj rešetki i do pojave negativnih naboja. Radi navedenoga, montmoriloniti su posebno zanimljivi za proučavanje procesa adsorpcije herbicida (Flores i sur., 2018.).

Negativni naboj prirodnih smektit koji nastaje izomorfim supstitucijama u mineralnoj strukturi (npr. četverovalentni silicij se zamjenjuje trovalentnim aluminijem ili trovalentni aluminij dvovalentnim magnezijem) kompenzira se izmjenjivim kationima smještenim na aktivnoj površini. Sposobnost sekundarnih minerala gline i organske tvari tla da na svoju aktivnu površinu vežu katione iz svoje okoline uz oslobađanje jednake količine vlastitih kationa se naziva kapacitet kationske izmjene (CEC). Takvi izmjenjivi kationi uglavnom su K^+ , Na^+ , Mg^{2+} i/ili Ca^{2+} . Molekule vode prisutne u hidratacijskoj opni ovih solvativanih kationa daju površini minerala hidrofilni karakter. Takav hidrofilni karakter može se učiniti hidrofobnim ili organofilnim izmjenom metalnih iona za organske katione (Sanchez - Camazano i Sanchez - Martin, 1996.).

Sekundarni minerali gline u tlu mogu formirati s organskom tvari organo-mineralne komplekse, koji također radi svoje velike aktivne površine mogu adsorbirati zasićene i

nezasićene ugljikovodike, fenole, aromatične spojeve, različite organske spojeve, pa tako i herbicide (Hermosin i Cornejo, 1993.).

Glina potencijalno može djelovati i kao fizička barijera za procjedne vode (u slučaju pojave nepropusnih glinastih slojeva u profilu tla), što ima pozitivan utjecaj na smanjenje ispiranja herbicida i zaštitu podzemne vode od zagađenja (Bermar i sur., 2011.).

4.1.1. Utjecaj teksture na glifosat

Glifosat, kao i brojni drugi herbicidi, ima mogućnost vezanja za čestice tla, naročito u glinenim tlima. Brzo se ispire u pjeskovitim tlima, dok u tlima s većim udjelom gline može biti postojan dugi niz godina. Glifosat se može otopiti čak kada je vezan za čestice tla u podzemnoj vodi, uz prisutnost fosfata (Aikpo i sur., 2017.).

Okada i suradnici (2017.) proveli su istraživanje adsorpcije i desorpcije glifosata u regijama Paraná (PAR), Pergamino (PER) i Manfredi (MAN) na različitim tlima i pri različitim načinima obrade tla. U Paraná regiji pokus je proveden na praškasto glinastoj ilovači, a u regijama Pergamino i Manfredi na praškastoj ilovači. Rezultati eksperimenta pokazuju da se 98 % početne koncentracije glifosata, koja je iznosila 4000 µg/kg, adsorbirala u svim tlima. Nije pronađena razlika u adsorpciji glifosata niti u odnosu na različite načine obrade tla (konvencionalna obrade i no-till). Desorpcija glifosata je praćena tijekom četiri uzastopna dana, pri čemu je utvrđen generalno vrlo nizak postotak desorbiranog glifosata i nije utvrđena razlika u postotku desorpcije u odnosu na različite obrade tla. Praćenjem adsorpcijskog koeficijenta i kapaciteta kationske izmjene ustanovili su da na adsorpciju glifosata utječe vrsta i količina sekundarnih minerala gline u ispitivanim tlima te isto tako i količina fosfata u tlu, koji se veže na ista mjesta adsorpcije kao i glifosat, što smanjuje kapacitet adsorpcije.

Flores i suradnici (2018.) proučavali su adsorpciju glifosata, sarkozina, aminometilfosfonske kiseline i metilfosfonske kiseline (razgradne produkte) na montmorilonitnu glinu. Svi spojevi vezani na montmorilonitu glinu pokazali su višu temperaturu razgradnje od slobodnih molekula. Adsorbirani glifosat povećava negativni površinski naboj, adsorpcija metilfosfonske kiseline održava negativni površinski naboj konstantnim, dok adsorpcija sarkozina i aminometilfosfonske kiseline smanjuje negativni površinski naboj na montmorilonitu.

Sprankel i sur. (1975.^a) ispitivali su utjecaj glifosata na rast pšenice (*Triticum aestivum*) i stupanj adsorpcije na kaolinit, ilit i bentonit. Minerali gline su bili zasićeni s Na⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺, Fe³⁺ ili Al³⁺ ionima te se pratio i utjecaj zasićenosti s pojedinim kationom na stupanj adsorpcije glifosata. Kontrolna varijanta, minerali gline zasićeni s Na⁺, Ca²⁺ i Mg²⁺ rezultirali su slabim rastom pšenice što ukazuje na nisku adsorpciju glifosata u takvim uvjetima. Varijanta gdje su minerali gline zasićeni s Mn²⁺ i Al³⁺ nije se znatno razlikovala od kontrole, dok je na varijanti gdje su minerali gline zasićeni s Zn²⁺ utvrđen bolji rast pšenice od kontrole. Najveća adsorpcija glifosata zamijećena je kod bentonita, zatim kod ilita, dok je ona bila najmanja kod kaolinita. Kontrola i Na⁺ zasićeni bentonit nisu adsorbirali glifosat. Adsorpcija glifosata na raznim bentonitnim glinama zasićenim kationima povećala se

kako slijedi: $\text{Na}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Mn}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Fe}^{3+} < \text{Al}^{3+}$. Autori zaključuju da na adsorpciju glifosata značajno utječu adsorbirani kationi na mineralima gline.

Slično istraživanje proveli su i Borggaard i Gimsing (2008) te utvrdili da najveća adsorpcija glifosata utvrđena na montmorilonitu, zatim ilitu, a najslabija na kaolinitu i također raste slijedećim redoslijedom: $\text{Na}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Mn}^{2+} < \text{Zn}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Cu}^{2+} < \text{Fe}^{3+} < \text{Al}^{3+}$. Povećana adsorpcija pri zasićenju dvovalentnim i, posebno, trovalentnim kationima autori objašnjavaju kompleksnim međuslojnim vezama između ovih kationa i glifosata. Međutim, ovo se objašnjenje odnosi samo na montmorilonit koji ima najveće međulamelarne razmake pa time i najveći kapacitet adsorpcije, ilit ima male međulamelarne razmake i manju adsorpciju, dok kaolinit uopće nema unutarnju površinu, pa stoga ima i najmanji kapacitet adsorpcije. Međutim, Morillo i sur. (1997.) u svojem istraživanju zamijetili su da se glifosat vezao samo na vanjsku površinu montmorilonita, na Al-OH skupine na rubovima minerala. Borggaard i Gimsing (2008) utvrđuju da Cu^{2+} smanjuje adsorpciju glifosata na montmorilonit zbog stvaranja bakrovih kompleksa s glifosatom čime se smanjuje afinitet za adsorpciju.

4.1.2. Utjecaj teksture na s - metolaklor

Shaner i sur. (2006.) analizirali su utjecaj teksture tla na adsorpciju metolaklora i s – metolaklora i ustanovili su da je koncentracija metolaklora i s-metolaklora u otopini tla bila znatno veća u pjeskovito ilovastim tlima nego u glinastim tlima. Koncentracije oba herbicida u otopini tla smanjivale su se s protokom vremena nakon tretmana. Adsorpcija metolaklora i s-metolaklora varirala je ovisno o teksturi tla, ali nisu utvrđene razlike između metolaklora i s-metolaklora.

Metolaklor se može adsorbirati na vanjsku i međulamelarnu aktivnu površinu montmorilonita, što ovisi o zasićenosti kationima i prirodi vezanih kationa. Stupanj međuslojne ekspanzije silikata ovisi o zasićenju kationima, kao i o strukturi i veličini molekula herbicida (Sanchez - Camazano i Sanchez - Martin, 1996.).

Liu i sur. (2002.) proveli su istraživanje u kojemu su ispitivali stupanj adsorpcije metolaklora na montmorilonit, te . utvrđuju da stupanj adsorpcije ovisi o valenciji kationa koji su vezani na montmorilonit. Najveći stupanj adsorpcije metolaklora je zamijećen kod montmorilonita zasićenog s Al^{3+} ili Fe^{2+} , a zatim s Ca^{2+} ili Mg^{2+} . Adsorpcija na montmorilonitu zasićenom s Fe^{3+} je bila 57 % veća u usporedbi s montmorilonitom zasićenim s Mg^{2+} .

Zbog mogućnosti vezanja herbicida i smanjenja potencijala ispiranja sekundarni minerali gline su se počeli koristiti kao nosači herbicida. Sekundarni minerali gline, naročito oni s troslojnom građom, omogućuju sporo otpuštanje herbicida u koncentracijama koje omogućuju herbicidno djelovanje uz smanjeni rizik za onečišćenje okoliša. Glina, kao nosač, koristi se za formuliranje brojnih herbicidnih pripravaka, među kojim su i oni na osnovi metolaklora. Efikasnost glinenih minerala ovisi o građi, ali i o svojstvima herbicida koji se formuliraju. Nekoliko vrsta bentonita može adsorbirati metolaklor skoro u istoj količini kao i organski derivati. U istraživanju je ustanovljeno da je natrijev bentonit adsorbirao najviše

metolaklora, oko 50 % dodane koncentracije, dok je kalcijem zasićeni bentonit adsorbirao svega oko 16 % dodane koncentracije metolaklora. (Nennemann i sur., 2001.).

4.1.3. Utjecaj teksture na 2,4-D

Barnes i Seefeldt (2009.) u svojem radu opisuju različita istraživanja adsorpcije 2,4-D u tlu. Tako navode da Frissel i Bolt (1967) utvrđuju da se 2,4-D vrlo malo ili nimalo ne adsorbira na montmorilonit i ilit pri pH tla većem od 4, odnosno 7. Također navode da Aly i Faust (1964.) utvrđuju vrlo niske adsorpcijske kapacitete kaolinita, bentonita i illita za 2,4-D. Navode i istraživanja Hermosina i Cornejoa (1991.) koji su ustanovili da visoka razina organske tvari i slobodno željezo u tlima pogoduju adsorpciji 2,4-D. Barnes i Seefeldt (2009.) temeljem terenskih istraživanja utvrđuju da perzistentnost 2,4-D u tlu varira od 14 dana do preko 2 godine, što ovisi o klimi, teksturi, vlazi tla i količini organske tvari.

Aldrich i Willard (1952.) uspoređivali su dostupnost i kretanje dva oblika herbicida 2,4-D, butil estera i trietanolamina, u smjesi pijeska i montmorilonita. Otkrili su da se esterski oblik lakše vezao za mineralne komponente tla u odnosu na trietanolamin, te da je zbog toga manje mobilan. Slična istraživanja provode i Wiese i Davis (1964.) u glineno ilovastom tlu, te utvrđuju značajne razlike između amin i ester formulacija, pri čemu je amin formulacija utvrđena na znatno većoj dubini, radi veće topljivosti (cit. Barnes i Seefeldt, 2009.).

U većini studija o adsorpciji organskih spojeva na organo-mineralnim kompleks tla proučavani su nepolarni ili neionski spojevi. Međutim, postoji puno organskih spojeva koji imaju ionski karakter. Posebnu pažnju treba obratiti anionskim oblicima koji se vrlo slabo zadržavaju u tlu, pa postaju prijetnja onečišćenja podzemne vode. Takav je i herbicid 2,4-D koji se u tlu javlja u anionskom (Hermosin i Cornejo, 1993.).

Hermosin i Cornejo (1993.) utvrđuju da se adsorpcija kiselog herbicida 2,4-D na organo - mineralni kompleks odvija različitom brzinom, što ovisi o tipu minerala gline. Stupanj adsorpcije bio je znatno veći na vermikulitu nego na montmorilonitu. Veći adsorpcijski kapacitet vermikulita povezan je s debelim organskim slojem. Zbog niskog naboja montmorilonit ima tanki organski sloj (lipofilni) koji omogućuje adsorpciju 2,4 - D većinom na vanjskoj površini, dok kod vermikulita je zamijećena veća adsorpcija i u međulaminarnom prostoru, čime je smanjena njegova desorpcija i otpuštanje u okoliš.

Kao što je već spomenuto za s-metolaklor, tako se i za 2,4-D stvaraju nove formulacije koje koriste različite nosače, kako bi se spriječilo ispiranje ovog anionskog herbicida. Za formuliranje 2,4-D herbicida sekundarni minerali gline se ne mogu primjenjivati zbog njihovog negativnog naboja. Kako bi se povećala sorpcijska sposobnost sekundarnih minerala gline za hidrofobne i anionske herbicide, mineralne površine se mogu prethodno obogatiti organskim kationima koji su pozitivno nabijeni, čime se mijenja karakter mineralne površine iz hidrofilnog u hidrofobni, a naboj s negativnog na pozitivan (Shirvani i sur., 2014.).

4.2. Struktura tla i poroznost

Struktura tla predstavlja način povezivanja čestica tla u veće nakupine koje se nazivaju strukturni agregati. Formiranje strukturnih agregata se odvija u dvije faze, faza koagulacije kojom nastaju mikroagregati i faza granulacije kojom se formiraju makroagregati (Škorić, 1991.). Važnost strukture je u tome što se prilikom povezivanja čestica pijeska, praha i gline stvaraju šupljike ili pore u kojima se nalazi voda ili zrak. Između mikroagregata se stvaraju mikropore, a između makroagregata makropore. Mikropore i makropore su važne u tlu pošto one reguliraju kretanje vode i zraka u tlu, što uključuje i u vodi otopljene herbicide.

Prema veličini, moguće je pore podijeliti na sitne, srednje i krupne, što predstavlja diferencijalnu poroznost tla, tablica 4.2.1. U krupnim makroporama koje se još nazivaju i nekapilarne pore (veće od 10 μm promjera) nalazi se zrak i njihova osnovna funkcija je dreniranje suvišne vode iz tla. Sitnije pore od 10 μm promjera nazivaju se i mikropore ili kapilarne pore i u njima se zadržava voda. U onim najsitnijim porama (manjim od 0,2 μm promjera) ta voda je biljkama nepristupačna jer je vezana na čestice tla silom većom nego što je sposobnost usvajanja vode od strane biljaka, dok se u srednjim porama nalazi pokretna biljkama pristupačna ili fiziološki aktivna voda. Diferencijalna poroznost utječe na količinu vode i zraka, na biološke osobine tla, te u konačnici na ponašanje herbicida u tlu.

Tablica 4.2.1. Naziv, veličina i funkcija pora u tlu; Izvor: Sraka, 2003.

Naziv i veličina pora (μm)		Funkcija pora u smislu	
		Kretanja vode	Kretanja-stanja vode
Krupne	>50	Brzo drenirajuće	Gravitacijsko otjecanje-makropore s zrakom
	50-10	Sporo drenirajuće	
Srednje	10-0,2	Pokretna-kapilarna voda (fiziološki aktivna)	Zadržavanje i vezani oblici vode-mikropore s vodom
Sitne	<0,2	Nepokretna voda	

Sadržaj pora ovisi prije svega o mehaničkom sastavu, strukturi, sadržaju humusa, glini i količina kalcijevih iona. Ukupna poroznost pjeskovitih tala iznosi oko 30% vol., ilovastih 40-45% vol., a glinastih više od 50% vol. U tlima s većim udjelom gline koja smanjuje volumen prilikom sušenja makropore se formiraju stezanjem tla. Formiranje strukturnih agregata i stabilnost strukture ovise o vodnom režimu tla, na koji snažno utječu vremenski uvjeti, biljni pokrov i način gospodarenja s tlom (Kördel i sur., 2008.).

Pjeskovita tla sadrže najveću količinu makropora, što omogućuje veliku infiltraciju i dubinsko otjecanje vode iz tla, što ukazuje na male gubitke herbicida putem površinskog otjecanja (spiranje), ali velike gubitke onih herbicida koji se ne vežu na koloide tla putem dubinskog otjecanja (ispiranje). Kod tala s nižim udjelom makropora smanjuje se infiltracija čime se povećava mogućnost površinskog otjecanja. Iako se ukupni sadržaj pora u

pjeskovitim i glinastim tlima ne mora značajno razlikovati, diferencijalna poroznost ukazuje da postoje velike razlike u veličini pora, pa time i različiti utjecaj na ponašanje herbicida u tlu. Glinasta tla sadrže puno sitnih pora, što smanjuje infiltracijsku sposobnost i povećava površinsko otjecanje na nagnutim terenima, dok je komponenta ispiranja prilično reducirana. Sukladno navedenom, kretanje vode u pjeskovitim tlima mnogo je brže nego u glinastim (Kördel i sur., 2008.).

U praškastim tlima makropore se uglavnom stvaraju biološkom aktivnošću, na primjer utjecajem korijenja (stari korijenski kanali) ili glistama. Makropore formirane od strane glista mogu se značajno razlikovati po veličini i dubini, a. gliste imaju važan utjecaj na stvaranje stabilne strukture tla (Kördel i sur., 2008.).

4.2.1. Utjecaj strukture na glifosat

Todorovic i sur. (2014.) proučavali su utjecaj različitog načina obrade tla, konvencionalne i no - till obrade, na strukturu, a time i na površinsko otjecanje glifosata u dva različita tipa tla, černoze i kambisolu, a prilikom simulacije kiše različitog intenziteta. Uklanjanjem biljnog zaštitnog pokrova i narušavanjem strukture konvencionalnom obradom povećava se površinsko otjecanje glifosata u oba analizirana tla. Kod no - till obrade zabilježene su niže stope površinskog otjecanja i veća stopa adsorpcije glifosata, radi velike zakorovljenosti površine tla. Površinsko otjecanje glifosata je bilo značajnije u kambisolu, i do 10 puta izraženije, zbog nestabilne strukture koja je izazvala stvaranje pokorice čime je onemogućena infiltracija vode u tlo, za razliku od černoze sa stabilnom mrvičastom strukturom, bez pukotina, koja je omogućila i veću infiltraciju vode u tlo. Utvrđeno je da je u površinskih 5 cm tla adsorbirano više od 50 % primijenjenog glifosata. Veliki gubitak glifosata površinskim otjecanjem utvrđen u ovoj studiji potvrdio je presudni učinak strukture tla i preferencijalnog toka na gubitak glifosata nakon jakog erozivnog djelovanja oborina. Autori navode i značajan broj drugih istraživača koji su dobili slične rezultate (Borggaard i Gimsing, 2008.; De Jonge i sur., 2000.; Gattermann i sur., 2009.; Siimes i sur., 2006., Vereecken, 2005.) (cit. Todorovic i sur., 2014.).

Kjær i sur. (2011.) istražuju ispiranje glifosata u uzorcima drenažne vode uzorkovane s dubine od 1 metar na pjeskovitim i glinastim tlima na poluotoku Jutland. U vodama glinastih tala utvrđene su niske koncentracije glifosata (0,02 – 0,11 µg/ l), dok u pjeskovitom tlu one iznose do 2,1 µg/l. Autori zaključuju da više od 90% ispranog glifosata rezultat oluja koje donose veliku količinu oborina.

Na tlima dobre strukture gdje postoji preferencijalni protok vode kroz makropore, dokazano je ispiranje glifosata, ali samo u posebnim okolnostima. Čini se da su obilne kiše nedugo nakon primjene glifosata važne za njegovo ispiranje, dok drugi faktori poput vegetacije, obrade tla i koncentracije fosfata imaju vrlo malo ili nimalo utjecaja. S druge strane, iako ispiranje u drenske cijevi ukazuje na rizik od onečišćenja podzemnih voda, pojava glifosata (i AMPA) u drenažnoj vodi ne znači nužno da će se isprati u podzemne vode, osim u tlima s vrlo plitkim vodonosnicima. Može se smatrati da je transport glifosata

preferencijalnim protokom u makroporama ograničen na gornjih 1 - 2 m, jer se makropore uglavnom i nalaze u gornjem dijelu profila tla (Borggaard i Gimsing, 2008.).

4.2.2. Utjecaj strukture na s-metolaklor

Usporedna studija između simuliranih podataka i terenskih mjerenja sugerira da su glavni čimbenici koji sudjeluju u transportu metolaklora u strukturiranim tlima makroporoznost, posebno u tlu s malom hidrauličkom vodljivosti (Novak i sur., 2003.). Autori naglašavaju da je prilikom modeliranja potrebno u obzir uzeti prostornu varijabilnost korištenih parametara, posebice oborina.

Novak et al. (2001.) proučavajući kretanje metolaklora u vertičnom kambisolu i luvisolu tijekom 2 sezone primjene (jesen/zimu i proljeće/ljeto) utvrđuju znatno veću koncentraciju metolaklora u procjedinim vodama vertičnog kambisola, što je posljedica prvenstveno preferencijalnog toka kroz vertikalne pukotine koje se javljaju prilikom sušenja ovoga tipa tla, što je posebice izraženo u proljeće i ljeto. Protok kroz makropore smanjuje interakciju metolaklora s česticama tla, smanjujući adsorpciju i razgradnju, istodobno ga premještajući u dublje slojeve gdje je i mikrobna aktivnost manja nego u aktivnom površinskom sloju tla. Budući da je luvisol ilovaste teksture nema pukotina, te su makropore sitnije i slabije kontinuirane, čime je i smanjen preferencijalni tok. Tijekom jesensko/zimskog razdoblja pukotine su se zatvorile zbog niže evapotranspiracije i većih količina oborina u tom razdoblju. Preferencijalni transport metolaklora kroz pukotine i makropore zabilježen je i u drugim terenskim pokusima Kladička i sur., (1991.); Harrisa i sur., (1994.); Johnsona i sur., (1994.); Browna i sur., (1995.); Traub-Eberharda i sur., (1995.); Larssona i Jarvis, (1999.) (prema Novak i sur., 2001).

4.2.3. Utjecaj strukture na 2,4-D

Mallawantantri i sur. (1996.) proučavali su ispiranje 2,4-D kroz makropore različitih horizonata praškasto ilovastog tla, te ustanovili da se 2,4-D najlakše kreće kroz površinski humusno-akumulativni horizont koji je bogat makroporama, dok s dubinom tla opada i sadržaj makropora, pa time je i smanjena mogućnost ispiranja ovoga herbicida. Autori zaključuju da za kretanje 2,4-D kroz tlo odlučujuću ulogu imaju raspored horizonata i struktura tla.

Mallawantantri i sur. (1995.) utvrdili su povećanu adsorpciju i mineralizaciju 2,4-D, na površini makropora. Povećanu biorazgradnju 2,4-D u makroporama utvrđuju i Pivetz i Steenhuis (1995.) u svojem istraživanju u kolonama tla u laboratorijskim uvjetima, pri čemu se stopa biorazgradnje povećavala s protokom vremena.

4.3. Vлага i temperatura tla

Utjecaj vremenskih prilika na ponašanje herbicida u tlu uglavnom se ogleda preko vlažnosti i temperature tla. Vlažnost i temperatura tla ovise i o fizikalnim značajkama tla,

prvenstveno teksturi, strukturi i porozitetu. Tako su pjeskovita tla suha i topla, a glinasta tla su vlažna i hladna.

Vlaga tla je promjenjiva vrijednost na koju utječu meteorološke prilike, prvenstveno oborine (kiša, snijeg, tuča, rosa, magla), ali i ostali događaji kao što su poplave površinskih voda, podizanje razine podzemne vode i dubina na kojoj se podzemna voda nalazi u tlu, navodnjavanje. Voda je ključna komponenta tla, koja sudjeluje u brojnim pedološkim i ekološkim procesima. Sadržaj vlage u tlu ima velik utjecaj na stupanj adsorpcije i bioaktivnost herbicida prisutnih i u čvrstoj, tekućoj i plinovitoj fazi tla (Bailey i White, 1964.). U suhim uvjetima veća količina herbicida se veže na čvrstu fazu tla (mineralne i organske koloide), dok je u vlažnim uvjetima veća količina herbicida u tekućoj fazi tla odakle je dostupan korovima. Vlažnost tla glavni je čimbenik koji određuje i difuziju i postojanost herbicida. Povećavanje vlage u tlu smanjit će pore dostupne za difuziju herbicida. Veći sadržaj vlage pogoduje većoj topljivosti herbicida u vodenoj fazi, čime se pospješuje biotska i abiotska razgradnja (Long i sur., 2014.). Isti autori (Long i sur., 2014.) navode da je utjecaj vlage u tlu na brzinu razgradnje herbicida dobro dokumentiran u brojnim istraživanjima (Shelton i Parkin, 1991.; Walker i sur., 1992.; Rice i sur., 2002.; Castillo i Torstensson, 2007.).

Toplina tla je jedna od ključnih značajki koja omogućuje odvijanje raznih fizikalnih, kemijskih i bioloških procesa u tlu. Tlo se zagrijava sunčevom neto radijacijom koja predstavlja količinu sunčevih zraka koje dopiru do Zemljine površine i koriste se za zagrijavanje tla i prizemnih slojeva atmosfere. Na temperaturu tla utječe osim klime i geografske širine, reljef (preko ekspozicije i inklinacije), stanje površine tla (obrađeno tlo se bolje zagrijava od neobrađenog), vegetacija (golo tlo se brže zagrijava od tla pod vegetacijom), količina vode, odnosno vlage u tlu, aktivnost organizama tla (mikroorganizama i makroorganizama), boja tla (utjecaj na albedo - odbijanje sunčevih zraka), te i o specifičnim toplinskim značajkama tla (specifična toplina, kapacitet tla za toplinu, provodljivost tla za toplinu). Navedene značajke jako ovise o međuodnosu krute, tekuće i plinovite faze tla. Temperatura tla jedna je od ključnih parametara o kojima ovisi kemijska i biološka razgradnja herbicida, pri čemu se razgradnja uglavnom povećava s porastom temperature (Long i sur., 2014.).

U uvjetima veće vlage i temperature tla herbicidi koji imaju slabiju sposobnost sorpcije i skloni su hlapljenju volatiliziraju i time negativno utječe na okoliš. S druge strane, oni herbicidi koji imaju izraženu topljivost u vlažnom tlu skloni su ispiranju i onečišćenju površinskih i podzemnih voda. Koliko će herbicida dospjeti u vode ovisi o njegovoj brzini razgradnje (Helling, 2005.).

4.3.1. Utjecaj vlage i temperature na glifosat

Studije koje su istraživale utjecaje temperature ili vlažnosti tla na ponašanje glifosata pokazale su da se mineralizacija glifosata povećava s porastom temperature (Heinonen-Tanski, 1989; Eberbach, 1998; Eberbach, 1999; Strange-Hansen i sur., 2004; Stenrød i sur., 2005.) i povećanjem vlažnosti tla (Schroll i sur., 2006.; Grundmann i sur., 2008.). Međutim, osnovna im je zamjerka da su vrlo često provedena laboratorijska

istraživanja na sobnoj temperaturi (20 - 25°C) i/ili na temperaturi od 10°C (Eberbach, 1998; Alexa i sur., 2009; Al-Rajab i Schiavon, 2010; Alexa i sur., 2010 ; Al-Rajab i Hakami, 2014), dok se glifosat često u nekim područjima primjenjuje prije sjetve ozimih usjeva tijekom zime, kada su često temperature puno niže (Bento i sur., 2016.).

Nadalje, nedostaju laboratorijske studije koje bi kombinirale interaktivno djelovanje temperature, vlage i svjetla na ponašanje glifosata u tlu, uključujući i njegov glavni produkt razgradnje AMPA.

Bento i sur. (2016.) proučavaju utjecaj temperature (5°C i 30°C), vlage tla (20% i 60%) i izmjene perioda svjetlosti i mraka na kinetiku disperzije glifosata i AMPA u lesiviranom tlu tijekom 30 dana. Do razgradnje glifosata i AMPA došlo je uglavnom mikrobnom aktivnošću, dok su abiotski procesi imali zanemarivu ulogu za oba spoja. Najniže vrijednosti DT_{50} i DT_{90} za oba spoja utvrđene su pri temperaturi od 30°C i pri zasićenim uvjetima vlage, dok su najviše utvrđene kod 5°C i vlage tla koja odgovara uvjetima suše. Temperatura i vlaga tla dva su najvažnija čimbenika koji reguliraju mikrobnu aktivnost u tlima, utječući tako na disperziju glifosata i stvaranje i disperziju AMPA. Autori zaključuju da se glifosat i AMPA brzo razgrađuju u toplim i kišnim klimatskim uvjetima.

Muskus i sur. (2020.). utvrđuju da je temperatura glavni čimbenik kontrole kinetike mineralizacije glifosata u provedenom istraživanju, pri čemu je s porastom temperature rastao i stupanj mineralizacije od 13% pri najnižoj temperaturi od 10°C do 51% utvrđen kod 30 °C. Autori navode da su slični rezultati zabilježeni i u ranijim istraživanjima (Al - Rajab i Schiavon, 2010.; Gimsing i sur., 2004.) provedenim na tlima tropskoga područja.

Razgradnja glifosata proučavana je u dva arktička šumska tla pod simuliranim jesenskim i proljetnim temperaturama koje prevladavaju u regiji. Smanjenje temperature s 15°C na 2°C rezultiralo je smanjenjem brzine razgradnje na desetinu početne brzine. Rezultati ukazuju da vrijeme poluraspada glifosata u arktičkoj klimi uvelike ovisi o temperaturi tla i o vremenu nakon njegove primjene. Kao takvi, rezultati dobiveni laboratorijskim pokusima na konstantnoj temperaturi ne moraju se nužno dobro odnositi na terenske uvjete u kojima se događaju značajne temperaturne varijacije (Heinonen - Tanski, 1989.).

4.3.2. Utjecaj vlage i temperature na s-metolaklor

Prueger i sur. (2005.) utvrđuju da se pri visokom udjelu vlage u tlu čak 25% površinski primjenjenog metolaklora može izgubiti isparavanjem, dok u uvjetima suhoga tla isparavanje je manje od 5%. Veće količine metolaklora i/ili produkta razgradnje metolaklora volatiliziraju s vodom zasićenih površinskih i podpovršinskih tala u usporedbi s nezasićenim tlima (Rice, 2002.).

Gish i sur. (2011.) navode nekoliko studija (Glottfelty i sur., 1989.; Taylor, 1995.; Prueger i sur., 2005.) koje su pokazale ranojutarnje gubitke metolaklora isparavanjem koji su pripisani stvaranju rose na površini tla, kao i veće isparavanje metolaklora nakon kiše. Autori zaključuju da na isparavanje metolaklora i općenito herbicida utječu značajke tla (pH, gustoća i tekstura tla), ali je dominantan utjecaj vlage tla.

Rice (2002.) u istraživanjima utjecaja vlage i dubine tla na postojanost metolaklora utvrđuje da je razgradnja metolaklora znatno brža u uvjetima zasićenim vlagom, u odnosu na nezasićene uvjete, što je rezultiralo znatno kraćim vremenom polurazgradnje DT_{50} za metolaklor u zasićenim uvjetima površinskih i podpovršinskih slojeva. Slične rezultate dobivaju Walker i Brown (1985.), te iznose da se vrijeme polurazgradnje DT_{50} metolaklora smanjilo s 80,6 dana u tlu koje je imalo 6% vlage na 20,9 dana u tlu s 15% vlage.

Westra i sur. (2014.) također proučavaju utjecaj vlage tla na vrijeme polurazgradnje DT_{50} s-metolaklora i zaključuju da postoji značajan utjecaj vlage tla na poluvijek raspada, te da je poluvijek raspada kraći kada je vlaga tla viša.

Long i sur. (2014.) istraživali su utjecaj vlage (20%-80%) i temperature (10-35°C) na biološku i kemijsku razgradnju s-metolaklora. Utvrdili su da porast temperature uzrokuje i bržu razgradnju s-metolaklora, niska vlaga limitira mikrobiološku aktivnost pa je i razgradnja sporija, dok je najkraći poluvijek raspada utvrđen kod vlažnosti od 60%. Vrijeme poluraspada s-metolaklora pri 10°C je iznosilo 64,8 dana. Porastom temperature na 25°C vrijeme poluraspada se smanjilo na 26,3 dana. Kada je temperatura inkubacije povišena na 35°C vrijeme poluraspada je sniženo na 23,7 dana. Rezultati ukazuju da se brzina razgradnje s-metolaklora može kontrolirati temperaturom tla.

4.3.3. Utjecaj vlage i temperature na 2,4-D

Grover i sur. (1985.) praćenjem dvije formulacije 2,4-D (ester i kiselina) utvrđuju da razgradnja 2,4-D u tlu u velikoj mjeri ovisna o sadržaju vlage, te da je esterne formulacija nešto stabilnija i postojanija u tlu nego je to kiselinska formulacija. Ukupna količina 2,4-D (kiselina i ester) je pala ispod granica detekcije nakon 34 dana od primjene. Slične rezultate dobivaju i neki drugi autori (Barnes i Seefeldt, 2009.). Oni navode značajan utjecaj vlage, temperature i sadržaja organske tvari na mikrobiološku razgradnju 2,4-D herbicida.

Han i New (1994.) u laboratorijskim istraživanjima također ukazuju na važnost vlage tla za razgradnju 2,4-D, navodeći da je za mikrobiološku aktivnost optimalna vlažnost koja odgovara poljskom kapacitetu tla za vodu. Utvrđena je jača senzibilnost mikroorganizama koji razgrađuju 2,4-D na sadržaj vlage u tlu u odnosu na ostalu prisutnu mikrobiološku populaciju. Slične rezultate o utjecaju vlage na brzinu razgradnje 2,4-D utvrdili su i Johnson i sur. (1995) u svojim istraživanjima, ali autori naglašavaju pri tome i važnost temperature tla. Brzina razgradnje 2,4-D bila je viša pri 30°C u odnosu na 15°C (u Barnes i Seefeldt, 2009.).

4.4. Usporedba utjecaja fizikalnih značajki tla na analizirane herbicide

Tekstura kao vodeća fizikalna značajka tla uvelike utječe na procese adsorpcije i ispiranja herbicida iz tla. Čestice gline imaju ključnu ulogu u adsorpciji herbicida i sprječavanje njihove mobilnosti u površinske i podzemne vode prvenstveno radi negativnog naboja koji posjeduju, dok čestice pijeska imaju vodeću ulogu prilikom ispiranja herbicida. Pregledom literature utvrđeno je da na adsorpcijsku sposobnost tla utječe ne samo količina glinenih čestica, već i vrsta sekundarnih minerala gline, kao i vrsta adsorbiranih iona.

Zadržavanje herbicida na koloidima ovisi o tome javljaju li se u tlu kao neutralne molekule ili u ionskom obliku. Glifosat se kao molekula pozitivnog naboja čvrsto veže na adsorpcijski kompleks tla, te ne dospijeva u tekuću fazu tla. S-metolaklor također u tlu dolazi kao kation te se kao takav veže na minerale gline, mada je potencijal ispiranja umjeren pa je i umjerena opasnost od ispiranja ovoga herbicida u okoliš. 2,4-D herbicid se javlja kao negativno nabijena molekula, pa stoga nema afinitet vezanja na adsorpcijski kompleks tla te postoji velika opasnost od njegovog ispiranja u okoliš. Najjače adsorpcije za glifosat i s-metolaklor utvrđene na smektitnim sekundarnim mineralima, naročito na montmorilonitu. Vrsta adsorbiranih kationa na adsorpcijskom kompleksu, odnosno njihova valencija, također utječe na jačinu vezanja herbicida, tako da trovalentni kationi aluminija i željeza imaju najveći utjecaj na adsorpciju glifosata i s-metolaklor. Dakle može se zaključiti da se sposobnost adsorpcije analiziranih herbicida smanjuje prema sljedećem redoslijedu: glifosat > s-metolaklor > 2,4-D.

Struktura tla, odnosno formiranje makro i mikropora prilikom stvaranja agregata, ima značajnu ulogu u kretanju, odnosno površinskom otjecanju i ispiranju herbicida. Ključnu ulogu u navedenom procesu imaju drenirajuće pore ili makropore. Povećana količina makropora u tlu dovodi i do pojačane aeracije, čime se stimuliraju oksidacijski abiotički i biotički procesi razgradnje herbicida.

Utvrđen je i nedvojbena utjecaj temperature i vlage tla na kretanje, razgradnju ali i volatilizaciju glifosata, s-metolaklora i 2,4-D. Temperatura tla je važna za kemijsku i biološku razgradnju ovih herbicida, dok je vlaga važna i za kretanje analiziranih herbicida. Osim o vanjskim faktorima, vlaga i temperatura tla ovise o međusobnom odnosu krute, tekuće i plinovite faze tla.

Dakle, ponašanje glifosata, s-metolaklora i 2,4-D u tlu ovisi o fizikalnim značajkama tla, ne samo pojedinačnih značajki, nego posebice o njihovoj interakciji.

5. Utjecaj kemijskih značajki tla na ponašanje herbicida

Mnogi autori navode da među najvažnijim kemijskim značajkama tla koji utječu na ponašanje glifosata, s-metolaklor i 2,4-D jesu organska tvar, pH, prisutnost sekundarnih nesilikatnih minerala i prisutnost nekih hraniva, kao što je fosfor.

5.1. Organska tvar

Količina i sastav organske tvari u tlu ima ključnu ulogu u ponašanju herbicida. Glavne komponente organske tvari su humusne tvari koji su najrasprostranjeniji neživi oblici organskog materijala koji se javlja u vodenom i kopnenom okolišu (Senesi, 1992.).

Organska tvar se klasificira u dvije osnovne grupe spojeva: nespecifične humusne tvari i specifične humusne tvari. Nespecifične humusne tvari se nazivaju i hranidbeni humus jer se brzo razgrađuje i služi mikroorganizmima kao izvor hrane i energije. Specifične humusne tvari predstavljaju aktivne frakcije organske tvari čija razgradnja je vrlo dugotrajna pa se nazivju trajni humus. Ove se tvari dijele na humusne kiseline (huminske i fulvo kiseline - alkalno topljive frakcije) i humin (alkalno netopljiva frakcija) i razlikuju se prema načinu na koji se mogu ekstrahirati iz tla (Kozak, 1983.). Huminske i fulvo kiseline imaju polidisperznu prirodu i polielektrični karakter, odnosno posjeduju veliki broj hidrofobnih aktivnih mjesta i veliku specifičnu površinu ($500-800 \text{ m}^2/\text{g}$) odakle potječe velika adsorptivna sposobnost organske tvari. U strukturi huminskih i fulvo kiselina nalaze se brojne funkcionalne skupine, odnosno postoji mnogo mjesta na koja se mogu vezati herbicidi, uz ostale organske i anorganske molekule i ione (Senesi, 1992.). Iz odnosa adsorpcijskog koeficijenta K_d i sadržaja organskog ugljika dobiva se normalizirani adsorpcijski koeficijent K_{OC} , koji služi za procjenu rizika od ispiranja herbicida (Đurović-Pejčev, 2011.). Herbicidi koji imaju K_{OC} manji od 50 će se lakše isprati u podzemne vode, dok herbicidi koji imaju K_{OC} veći od 2000 čvrsto će se vezati na adsorpcijski kompleks tla.

Humusne tvari stupaju na nekoliko načina u interakcije s herbicidima: putem adsorpcije, otapanja, hidrolize, dealkalizacije i fotosenzibilizacije. Svi ovi procesi imaju značajan utjecaj na sudbinu i ponašanje herbicida u sustavu tla, te utječu na njihovu razgradnju, detoksikaciju, postojanost, rezidue, mobilizaciju, transport, bioraspoloživost, fitotoksičnost i bioakumulaciju (Senesi, 1992.).

Prilikom adsorpcije, između herbicida i organske tvari, formiraju se različite veze, ponekad i više njih koje omogućuju reverzibilno i ireverzibilno vezanje. Veze koje se mogu formirati između herbicida i organske tvari uključuju ionsku, vodikovu i kovalentnu vezu, mehanizme prijenosa naboja i donora elektrona, Van der Waalsove sile, izmjenu liganda i hidrofobnu vezu ili razdvajanje (Senesi, 1992.). Adsorpcija putem ionske veze ili kationske izmjene odnosi se samo na one herbicide koji su u kationskom obliku, te uključuje ionizirane ili lako ionizirajuće karboksilne i fenolne hidroksilne skupine humusne tvari (Senesi, 1992.). Prisutnost brojnih funkcionalnih skupina humusnih tvari koje sadrže kisik i hidroksilne skupine dovodi do stvaranja vodikove veze s herbicidima (Senesi, 1992.). Stvaranja

kovalentnih veza posredovano je kemijskim, fotokemijskim i enzimatskim reakcijama, što dovodi do stabilne, uglavnom ireverzibilne inkorporacije herbicida (Senesi, 1992.). Prisutnost struktura s manjkom elektrona, kao što su kinoni, ili struktura s viškom elektrona, kao što su difenoli, na humusnoj tvari može dovesti do formiranja kompleksnih veza s herbicidima koji, alternativno, posjeduju svojstva donora ili akceptora elektrona (Senesi, 1992.). Van der Waalsove sile imaju posebnu važnost u adsorpciji neionskih i nepolarnih herbicida na prikladnim mjestima molekula huminskih kiselina (Senesi, 1992.). Adsorpcija mehanizmom izmjene liganda uključuje zamjenu hidratacijske vode ili drugih slabih liganda koji djelomično drže polivalentne katione povezane s organskom tvari tla prikladnim molekulama adsorbensa kao što su anionski herbicidi (Senesi, 1992.). Hidrofobnom adsorpcijom se nepolarni herbicidi vežu na hidrofobna aktivna mjesta humusnih tvari, pri čemu se voda natječe s herbicidom za ova vezna mjesta. (Senesi, 1992.).

5.1.1. Utjecaj organske tvari na glifosat

Brojna istraživanja ukazuju da postoje kontraverzna mišljenja o ulozi organske tvari tla u adsorpciji glifosata. U svome radu Ololade i sur. (2014.) navodi istraživanja u kojima Roy i sur. (1989.) i Piccolo i sur. (1995) izvještavaju o vrlo visokoj adsorpciji glifosata u uzorcima tla, dok s druge strane istraživanja Torstensson (1985) i Gerritse i sur. (1996) izvještavaju da organska tvar tla ima slabi učinak ili je ponekad negativno povezana s adsorpcijom glifosata.

Prema novijim istraživanjima rijetko se mogu vidjeti pozitivne korelacije između sadržaja organske tvari tla i adsorpcije glifosata. U svome radu Albers i sur. (2009.) navodi istraživanja Madhudina i sur. (1986) koji navode da se glifosat može adsorbirati pročišćenom frakcijama humusnih kiselina, kao i ona Piccoloa i sur. (1995; 1996.) koji ukazuju na veliki potencijal čistih humusnih kiselina kao i onih koji čine komplekse sa željezom za adsorpciju glifosata. Međutim, snažna indikacija o važnosti organske tvari u adsorpciji glifosata pokazana ovim istraživanjima nije lako prenosiva na sva tla. Autori navode da se organska tvar čak i natječe s glifosatom za mjesta adsorpcije na sekundarnim mineralima gline i oksidima željeza i aluminija, za koje je poznato da snažno adsorbiraju glifosat (Albers i sur., 2009.).

Albers i sur. (2009) proveli su istraživanje u kojemu su pratili koje sve kemijske značajke tla utječu na adsorpciju glifosata, te ustanovili da značajan učinak uz količinu i kvalitetu organske tvari imaju i prisutnost oksida i hidroksida željeza i aluminija, količina anorganskog fosfora, pH te udio i vrsta sekundarnih minerala gline, o čem će biti govora nešto kasnije.

Hensley i sur. (1978.) proučavali su utjecaj glifosata na inhibiciju rasta korijena u tlu bogatom organskom tvari i siromašnom organskom tvari, te zaključili da nije bilo signifikantnog smanjenja rasta korijena između istraživanih tala.

Adsorpcija glifosata organskom tvari se može pospješiti zasićenjem s kationima, ali neće svi kationi dati željenu razinu adsorpcije. Zasićena organska tvar s Na^+ i Mg^{2+} dala je značajno smanjenje svježe biljne mase, što ukazuje na malu adsorpciju glifosata. Zn^{2+}

zasićena organska tvar uzrokovala je manje smanjenje svježe biljne mase, ali sam adsorbent bio je toksičan za biljke. Svježa biljna masa pšenice uzgajene na Ca^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{3+} i Al^{3+} zasićenoj organskoj tvari tretirana glifosatom nije značajno smanjena (Sprankle i sur., 1975.^b).

5.1.2. Utjecaj organske tvari na s-metolaklor

Adsorpcija s-metolaklora u visokoj je pozitivnoj korelaciji s organskom tvari u tlu, što su ustanovili brojni istraživači (Braverman i sur. 1986.; Kozak i sur. 1983.; Shaner 2006 Fernandez i sur. (2019.) opisali su u svome radu istraživanje Odrigawitch i sur. (1981.) koji utvrđuju da je s-metolaklor mobilan u tlima s niskim udjelom organske tvari (4-5%), što ilustrira ulogu organske tvari u njegovoj adsorpciji.

Fernandez i sur. (2019.) proveli su istraživanje utjecaja organske tvari na adsorpciju s-metolaklora u histosolima na Floridi, budući su ova tla bogata organskom tvari. Utvrdili su visok stupanj adsorpcije s-metolaklor na organsku tvar, što je rezultiralo relativno duljem vremenu poluraspada, posebno u sezoni s ograničenom količinom vlage u tlu. Rezultati ukazuju da osim sadržaja organske tvari i vlaga tla igra važnu ulogu u perzistentnosti s-metolaklora. Autori zaključuju, budući ova tla imaju vrlo malo mineralnih koloida da je organska tvar primarni adsorbent s-metolaklora i njegovih metabolita.

Crisanto i sur. (1995.) ispitali su adsorpciju i pokretljivost metolaklor na 33 tla s malim udjelom organske tvari u Španjolskoj provinciji Salamanca. Utvrdili su značajne korelacije između adsorpcijskog koeficijenta K_d i sadržaja organske tvari (uz $P < 0,01$), kao i sa sadržajem praha i gline. (uz $P < 0,05$). Prema utvrđenim vrijednostima, metolaklor se može smatrati umjereno pokretnim u 78,8%, a pokretnim u 21,2% ispitivanih tala. Značajne korelacije između adsorpcijskog koeficijenta K_d i sadržaja organske tvari i gline također su utvrdili Peter i Weber (1985.) i Wood i sur. (1987.) u istraživanjima koja uključuju tla s visokim udjelom organske tvari. Dobiveni rezultati pokazuju da je organska tvar važna za adsorpciju metolaklora, bez obzira na njenu količinu.

Ding i sur. (2002.) provode dugogodišnja istraživanja utjecaja konzervacijske i konvencionalne obrade tla na sorpcijske i desorpcijske značajke metolaklora. Rezultati ukazuju da način obrade može značajno utjecati na sorpcijsko i desorpcijsko ponašanje metolaklora, što se objašnjava kvantitativnim i kvalitativnim razlikama u strukturnim karakteristikama humusnih tvari (utvrđen je veći sadržaj organske tvari pri konzervacijskoj obradi, a i eksponenti Freundlichovih izoterma huminske kiseline i humina iz konzervacijske obrade tla bili su veći od onih u konvencionalnoj obradi). Isti autori vlastita istraživanja potvrđuju i istraživanjima Seybold i Mersie (1996.) koji utvrđuju da razlike u sastavu organske tvari i/ili količinama drugih komponenata (npr. gline) igraju značajnu ulogu u procesu sorpcije i desorpcije metolaklora u tlima Virginije.

Si i sur. (2009.) utvrđuju da je adsorpcija metolaklora bila veća u površinskom horizontu s višim udjelom organske tvari nego u podpovršinskom horizontu. Niže vrijednosti koeficijenta adsorpcije s povećanjem dubine ukazuju na manju adsorpciju i veći potencijal ispiranja metolaklora nakon prolaska kroz površinski horizont. Organska tvar tla imala je najveći afinitet za adsorpciju metolaklora. Tla koja su adsorbirala više metolaklora također su

desorbirala manje metolaklora. Zaključak je da metolaklor koji nije razgrađen ili vezan za organsku tvar površinskih horizonata tla postaje podložan ispiranju u podpovršinski horizont, odnosno dalje transportiran u podzemne vode.

5.1.3. Utjecaj organske tvari na 2,4-D

Farenhorst i sur. (2010.) utvrđuju širok raspon vrijednosti koeficijenta sorpcije organskog ugljika K_{oc} (od 76 do 315 l/kg tla) za 2,4-D u površinskim horizontima tala u Kanadi, koji je varirao ovisno o kemijskim, fizikalnim i strukturalnim značajkama organske tvari tla. Utvrđene vrijednosti nedvojbeno govore o lakoj pokretljivosti 2,4-D u tlu, odnosno ukazuju na njegovo lakše ispiranje u dublje slojeve i podzemnu vodu. Utvrđene su pozitivne korelacije koeficijenta sorpcije organskog ugljika K_{oc} sa sadržajem ugljika u huminskim kiselinama ($r = 0,83$), kemijski parametar koji ukazuje na slobodni oblik C u tlu. Autori zaključuju da su vrijednosti koeficijenta sorpcije organskog ugljika K_{oc} među najosjetljivijim parametrima u modelima predikcije sudbine herbicida koji se koriste u ekološkim procjenama.

Benoit i sur. (1996.) istraživali su utjecaj organske tvari različitog stupnja humifikacije (pšenična slama, lignin, kompostirana slama i huminska kiselina tla) na sorpciju i desorpciju 2,4-D. Utvrđeno je da je desorbiran samo mali dio 2,4-D, koji ima niski afinitet prema svježim organskim tvarima. Sorpcija 2,4-D povećavala se sa stupnjem humifikacije organskih tvari prema sljedećem redoslijedu: slama < lignin < kompostirana slama < huminska kiselina. Sorpcija 2,4-D posljedica je disocijacije karboksilne skupine. Unatoč prisutnosti negativnih naboja na organskoj tvari 2,4-D se sorbirao u anionskom obliku. putem nespecifičnih interakcija s aromatičnim strukturama, London - Van der Waalsovima ili radi hidrofobnog učinka.

Picton i Farenhorst (2004.) utvrđuju slabu sorpciju 2,4-D herbicida u poljoprivrednim tlima s Freundlichovim koeficijentima raspodjele (K_f) u rasponu od 0,81 do 2,89 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ g}^{-1} \text{ ml}^{1/n}$ i s koeficijentom sorpcije organskog ugljika (K_{oc}) u rasponu od 59 do 100. Sorpcija herbicida je bila u korelaciji sa sadržajem organskog ugljika u tlu, ali opseg sorpcije 2,4-D varirao je ovisno o pH tla, udjelu gline i/ili kvaliteti organske tvari.

Postoje neki dokazi da sorpcija ograničava biorazgradnju 2,4-D jer se herbicid čvrsto veže u organsku tvar i na taj način postaje nedostupan za mikroorganizme. Međutim, ovaj učinak se ne može generalizirati, jer se u tlima s većim udjelom organske tvari povećava mikrobiološka aktivnost, a time i stupanj biorazgradnje 2,4-D. Zapravo se pokazalo da sorpcija 2,4-D na humificiranu i nehumificiranu organsku tvar povećava stupanj mineralizacije 2,4-D u odnosu na izravnu primjenu na tlo (Picton i Farenhorst, 2004.).

5.2. pH

Reakcija tla ili pH vrijednost može se opisati kao negativna logaritamska vrijednost koncentracije vodikovih iona u otopini tla. Vodikovi H^+ ioni su nositelji kisele reakcije, dok su hidroksilni OH^- ioni nositelji alkalne reakcije. Koncentracija vodikovih i hidroksidnih iona se mijenja vremenski i prostorno. Na reakciju tla utječu prirodni faktori kao što su klimatske

prilike (količini oborina, sastav kiše i dr.), značajke matičnog supstrata iz kojega je tlo nastalo, reljef, značajke tla (količina organskih i mineralnih koloida tla), aktivnost organizama tla, ali i antropogeni faktori (unošenje gnojiva, pesticida, onečišćujućih tvari) (Škorić, 1991.).

Bailey i White (1970.) navode da utjecaj reakcije tla ili pH vrijednost na intenzitet adsorpcije ovise o konstanti pK_a molekule herbicida, odnosno da ona utječe na stupanj disocijacije. pH nema utjecaj na adsorpciju herbicida koji ne disociraju.

Nicholls i Evans (1991.) ukazuju da pH tla u velikoj mjeri utječe na topivost kiselih i bazičnih herbicida. Kiseli herbicidi su pri niskoj vrijednosti pH (pH tla je manji od pK_a herbicida) manje topljivi, čvršće se vežu na organsku tvar i nisu skloni ispiranju, dok u alkalnim uvjetima (pH tla je veći od pK_a herbicida) postaju topljiviji i skloni ispiranju. Bazični herbicidi u uvjetima viših pH vrijednosti uglavnom su neutralne molekule te su herbicidno aktivniji i biljci dostupniji, dok se pri nižim pH uvjetima javljaju u kationskom obliku i čvršće se vežu za tlo. Dakle utjecaj pH uglavnom proizlazi iz različitih udjela ionskih i neutralnih oblika herbicida prisutnih na svakoj pH razini i iz razlika u njihovoj jačini sorpcije. Međutim pH vrijednost utječe i na naboj na površini koloidnih čestica tla pa tako indirektno može utjecati na adsorpciju herbicida u tlu.

Kah i Brown (2007.) navode da se velike varijacije u adsorpcijskoj sposobnosti tla za pojedine herbicide može objasniti promjenama njihovih CEC (kapacitet zamjene kationa) i pH vrijednosti.

5.2.1. Utjecaj pH na glifosat

Među glavnim kemijskim značajkama tla koje utječu na adsorpciju glifosata u tlu je pH vrijednost. pH vrijednost utječe ne samo na promjenu naboja glifosata, nego i na promjenu naboja na mineralnim i organskim koloidima tla. Adsorpcija glifosata raste s porastom kiselosti tla, odnosno najmanja je kod pH 8 a najveća kod pH 2. (Tévez i dos Santos Afonso, 2015.).

De Jonge i sur. (2001.) u svome radu navode da je smanjena sorpcija glifosata s porastom pH vrijednosti u laboratorijskim uvjetima utvrđena u mnogim istraživanjima (Kawate i Appleby, 1987.; Nicholls i Evans, 1991.; de Jonge i de Jonge, 1999.).

McConnell i Hossner (1985.) istraživali su utjecaj pH vrijednosti na adsorpciju glifosata na montmorilonit, nontronit, kaolinit, hematit i getit, te utvrdili da se adsorpcija glifosata smanjivala povećanjem pH vrijednosti, te da pH vrijednost utječe i na promjenu naboja glifosata, kao i minerala gline. Iznimke su moguće ako se aluminijski polimeri formiraju u međuslojevima smektita, koji smanjuju negativni naboj gline i pružaju dodatna mjesta za adsorpciju aniona, ili ako dođe do otapanja smektita. Utvrđena je najveća adsorpcija glifosata na nontronit radi njegove najveće aktivne površine ($908 \text{ m}^2/\text{g}$), a zatim na montmorilonit ($813 \text{ m}^2/\text{g}$), što se posebno očituje pri nižim pH vrijednostima radi taloženja kompleksa željezo-glifosat (pH 2,0). Pri višim pH vrijednostima razlika u adsorpciji glifosata između dva minerala se sužava.

Sprankle i sur. (1975.^b) utvrdili su utjecaj pH tla na inaktivaciju biološke aktivnosti glifosata. Značajna razlika u masi suhe tvari pšenice zamijećena je pri pH 5,6. Kako se pH

povećavao, masa suhe tvari se smanjivala, što ukazuje da se više glifosata adsorbiralo na tlo pri nižem pH.

5.2.2. Utjecaj pH na s-metolaklor

Provedena istraživanja ukazuju da se s-metolaklor u tlu nalazi uglavnom u molekularnom obliku, te nije ustanovljena značajna povezanost između pH tla i ponašanja s-metolaklora.

Bedmar i sur. (2011.) istražuju utjecaj pH vrijednosti na adsorpciju s-metolaklora te utvrđuju negativnu korelaciju između pH vrijednost tla i Freundlich-ovog koeficijenta K_f .

Reinhardt i Nel (1989.) proučavajući utjecaj različitih značajki tla na biološku aktivnost herbicida metolaklora utvrđuju sljedeći padajući redoslijed: ugljik > udio gline ~ kapacitet kationske izmjene > pH tla > reverzija fosfora. Dakle utjecaj pH je na pretposljednem mjestu i negativno korelira s biološkom aktivnošću metolaklora.

5.2.3. Utjecaj pH na 2,4 - D

Kao kiseli herbicid 2,4-D se pri niskoj pH vrijednosti javlja u neutralnom obliku, te se lakše adsorbira na organsku tvar, dok je pri višim pH vrijednostima (neutralnom i alkalnom) u anionskom obliku koji ima znatno niži adsorpcijski koeficijent od neutralnog oblika. Zbog negativnog naboja koloida tla, anionski oblik pesticida se slabije sorbira čime je povećana njegova bioraspoloživost i pokretljivost. Ionske veze, koje dolaze više do izražaja u tlima s malom količinom organske tvari i velikim udjelom gline, mogu pridonijeti u određenoj mjeri, adsorpciji anionskih herbicida kao što je 2,4-D. Redukcijom organske tvari iz tla sorpcija 2,4-D se drastično smanjila, čak oko 10 puta kod različitih pH vrijednosti. (Spadotto i Hornsby, 2003.).

Liu i sur. (2018.) proučavaju utjecaj pH vrijednosti na fitotoksičnost 2,4-D. Rezultati ukazuju da se povećanjem pH vrijednosti s 5,5 na 8,5 fitotoksični utjecaj 2,4-D na rižu povećava u tlu, ali se smanjio u vodenim otopinama. Koncentracije 2,4-D koje inhibiraju rast biljaka za 50% pri pH 5,0 bile su dvostruko veće od onih pri pH 8,0, pri čemu se smanjila i adsorpcija povećanjem pH vrijednosti.

Mon i sur. (2009.) za japanska vulkanska tla određuju vrijednosti adsorpcijskog koeficijenta K_d za 2,4-D obzirom na količinom organske tvari i pH vrijednost. Utvrđuju jake pozitivna korelacije adsorpcijskog koeficijenta K_d i organske tvari, a negativne s pH tla.

Nekoliko studija potvrđuje da sorpcija slabo kiselih herbicida, uključujući 2,4-D, ovisi o pH i da su veće vrijednosti adsorpcijskog koeficijenta K_d zabilježene pri nižim pH vrijednostima (Hermosin i Cornejo, 1991.; Halfon i sur., 1996.; Carrizosa i sur., 2000).

5.3. Oksidi i hidroksidi aluminijska, željeza i silicija

Oksidi i hidroksidi željeza, aluminijska i silicija pripadaju skupini sekundarnih minerala koji nastaju trošenjem na površini Zemlje uvjetovanom vanjskim čimbenicima atmosfere,

hidrosfere i biosfere ili dublje u Zemljinoj kori hidrotermičkim reakcijama. Na tvorbu oksida i hidroksida utječu uvjeti trošenja, kemijski sastav izvorne stijene i stupanj njegove promjene. Oksidi željeza i aluminijski imaju značajniji utjecaj na adsorpciju herbicida, u odnosu na okside silicija za koje je utvrđen ograničeni utjecaj koji jako ovisi o pH vrijednosti. Aluminij i željezo mogu utjecati na ponašanje herbicida u tlu putem koloidnih svojstava koji posjeduju (postojanje nezasićenog naboja) ili kao zamjenjivi ioni na adsorpcijskom kompleksu (Adams, 1973.).

Željezo je prema zastupljenosti četvrti element u Zemljinoj kori i s kisikom tvori brojne spojeve: okside, hidrokside i oksid-hidrokside. Željezni oksid-hidroksidi su česti u prirodi i mogu se naći u tlima, stijenama, jezerima, rijekama, morskim sedimentima, atmosferi i živim bićima. Željezni oksid-hidroksidi sastoje se od atoma željeza vezanog za kisik i/ili OH skupinu. Među značajnijim oksidima i hidroksidima željeza koji utječu na ponašanje herbicida mogu se istaknuti ferihidrit ($\text{Fe}_5\text{HO}_8 \times 4\text{H}_2\text{O}$), getit (FeOOH), hematit ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (Pereira i sur, 2019.).

Prema zastupljenosti u Zemljinoj kori aluminij je na trećem mjestu, odmah iza silicija i kisika. Aluminij se u prirodi pretežno nalazi u mineralima i stijenama (Bošnjak i Čulig, 2005.). Aluminij ima veliki afinitet prema kisiku te se praktički u prirodi ne pojavljuje u elementarnom obliku, već tvori spojeve s kisikom, silicijem, sumporom i drugim elementima. Među značajnijim oksidima i hidroksidima aluminijski koji utječu na ponašanje herbicida mogu se istaknuti gipsit ($\text{Al}(\text{OH})_3$), korund (Al_2O_3), boksit ($\text{Al}_2\text{O}_3 \times \text{H}_2\text{O}$) (Dolić, 2015.).

5.3.1. Utjecaj oksida i hidroksida aluminijski, željeza i silicija na glifosat

Budući da je glifosat poliprotionska kiselina s tri polarne funkcionalne skupine, (karboksilna, amino i fosfonatna skupina), ima sposobnost preko fosfonatne skupine stvoriti komplekse s aluminijem i željeznim oksidima u tlu (Laitinen 2009.).

Osim što su željezni i aluminijevi oksidi u tlu važan pokazatelj intenziteta redoks procesa, oni također značajno utječu na adsorpciju glifosata.

Rampazzo i sur. (2013.) uspoređuju adsorpcijska svojstva ferihidrita, hematita i getita na glifosat i utvrđuju najveću adsorpciju kod ferihidrita, zatim getita, dok je hematit imao najmanju adsorpcijsku sposobnost. Isti autori provode istraživanja adsorpcijske sposobnosti Fe-oksida u černozeu koji ima nizak sadržaj Fe-oksida, stagnosolu sa srednjim sadržajem Fe-oksida i kambisolu sa visokim udjelom Fe-oksida. Dobiveni rezultati ukazuju da su i kambisol i stagnosol, s većim udjelom pedogenog Fe-oksida, adsorbirali znatno veću količinu glifosata od černozeu koji je imao K_d vrijednost i do 10-tak puta nižu od kambisola. Autori se pozivaju na slične rezultate koji su dobili Mentler i sur. (2007.), te Pessagno i sur. (2008.) u svojim istraživanjima, te zaključuju važnu ulogu Fe-oksida u adsorpciji glifosata.

Gimsing i Borggaard (2007.) istražuju adsorpciju glifosata na hematit i ferihidrit i utvrđuju da je adsorpcijski kapacitet ferihidrita iznosio 635 mmol/kg, a hematita samo 86 mmol/kg, pri čemu je ravnoteža adsorpcije glifosata hematitom postignuta u roku od nekoliko sati, dok je adsorpcija ferihidritom bila prilično spora i iznosila je nekoliko dana.

Provedeno je nekoliko istraživanja koja proučavaju interakcije glifosata s getitom i hematitom (Barja i dos Santos Afonso, 1998.; Sheals i sur., 2002.; Gimsing i sur., 2004.) koja potvrđuju da fosfonatna skupina glifosata stupa u interakciju s getitom i hematitom, pri čemu se navodi i značaj amino i karboksilne skupine. (u Dideriksen i Stipp, 2003.).

5.3.2. Utjecaj oksida i hidroksida aluminija, željeza i silicija na s-metolaklor

Nennemann i sur. (2001.) utvrđuju da nema statistički značajnog utjecaja željeznih i aluminijevih oksida na adsorpciju s-metolaklora, te zaključuju da se ovi oksidi ne mogu smatrati važnim adsorbentima za herbicid s-metolaklor.

5.3.3. Utjecaj oksida i hidroksida aluminija, željeza i silicija na 2,4-D

Watson i sur. (1973.) proučavaju adsorpciju herbicida 2,4-D na getit, te utvrđuju da se anionski oblik 2,4-D reverzibilno veže na pozitivno nabijenim površinama getita. Zaključuju da adsorpcija ovoga herbicida ovisi o pH vrijednosti i primijenjenoj koncentraciji 2,4-D pri čemu je utvrđena maksimalna adsorpcija u blizini konstante ionizacije pK_a , ovoga herbicida (2,73).

Goyne i sur. (2004.) istraživali su adsorpciju 2,4-D na silicijeve (SiO_2) i aluminijeve (Al_2O_3) okside pri pH vrijednosti 6, te utvrdili da se anionski oblik herbicida 2,4-D nije adsorbirao na kvarc zbog elektrostatskog odbijanja, ali se adsorbirao na pozitivno nabijene aluminijeve okside. Utvrđeno je da su razlike u adsorpciji 2,4-D na aluminijeve okside posljedica razlike u mezoporoznost unutar aluminijevih minerala, te da veća mezoporoznost rezultira i većim afinitetom adsorpcije herbicida 2,4-D. Adsorpcijska ravnoteža postignuta je vrlo brzo (<30 min) i vezanje je reverzibilno. Autori zaključuju da je adsorpcija ostvarena elektrostatskom interakcijom između disocirane i negativno nabijene karboksilatne skupine herbicida 2,4-D i pozitivno nabijene površine aluminijevih minerala.

Slične rezultate dobivaju i Clausen i sur. (2001) koji utvrđuju adsorpciju 2,4-D na kvarcu pri niskim pH vrijednostima, ali pri pH 6,5 adsorpcija nije značajna (u Werner i sur., 2012.).

Prema Clausen i Fabricius (2001.) adsorpcija 2,4-D na željeznim oksidima (ferihidrit, getit i hematit) povećava se pet do deset puta snižavanjem pH vrijednost sa 5,6 na 3,6. Slična istraživanja su proveli i Celis i sur. (1999.) te dobili vrijednosti adsorpcije slične onima u istraživanju Clausen i Fabricius (2001.) (prema Werner i sur., 2012.). Rezultati ukazuju na slabo vezanje 2,4-D u području neutralne i slabo kisele reakcije.

5.4. Fosfor

Fosfor iako pripada makrohranivima u tlu jedanaesti je element po zastupljenosti u Zemljinoj kori. Prosječna koncentracija u okolišu je oko 0,1%, stoga je geokemijski klasificirana kao element u tragovima. Dakle vrlo je mali izvor ovoga elementa prisutan

uglavnom u sedimentnim stijenama (apatit $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$, fosferit $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$, vivijanit $(\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \times 8\text{H}_2\text{O}$ i dr.) odakle može doći u tlo (Holtan i sur., 1988.).

Međutim prisutnost fosfora u okolišu, pa time i u tlu, može biti znatna budući da se dodaje tlu u obliku gnojiva, a također se koristi u proizvodnji deterdženata pa putem otpadnih voda dolazi u okoliš, kruži između sfera, te prelazi iz mineralnog u organski oblik i suprotno. Prisutnost fosfora u tlu je izrazito bitna i to ne samo kao hranivo za biljke i mikroorganizme, već, kao što će biti prikazano u ovom poglavlju i za ponašanje organofosfornih herbicida, među koje spada i glifosat.

5.4.1. Utjecaj fosfora na glifosat

Mnogi istraživači su utvrdili da je glifosat sposoban konkurirati fosfatima za vezanje na ista mjesta na adsorpcijskom kompleksu tla (Piccolo i Celano, 1994.; Gerritse i sur., 1996.; Gimsing i Borggaard, 2001.; Wang i sur., 2005.), a prva istraživanja su objavili Sprankle i sur. (1975.) i Hance (1976.), a o čemu izvještava Laitinen i sur. (2009.).

Laitinen i sur. (2009.) proučavajući ponašanje glifosata tijekom nekoliko godina u borealnim klimatskim uvjetima utvrđuju da su ključni čimbenici koji kontroliraju razgradnju i ispiranje glifosata količina fosfata i sadržaj aluminijevih i željeznih oksida. Prema tome postoji mogućnost da na tlima bogatim fosforom i male adsorpcijske sposobnosti dolazi do jačeg ispiranja glifosata u okoliš.

Gimsing i Borggaard (2002.) istraživali su utjecaj fosfata (ortofosfata) na ponašanje i adsorpciju glifosata u tri tipična danska poljoprivredna tla: 1. tla u kojima prevladava mineral getit (FeOOH); 2. tla u kojima prevladava mineral gipsit ($\text{Al}(\text{OH})_3$); 3. tla u kojima prevladavaju ilit i montmorilonit. Utvrđeno je da su getit i gipsit sposobni adsorbirati mnogo više glifosata i fosfata od minerala gline, te da se ponašaju vrlo različito u odnosu na količinu glifosata i fosfata koje adsorbiraju i prema učinku fosfata na adsorpciju glifosata. Sekundarni minerali gline ilit i montmorilonit adsorbiraju slične količine glifosata i fosfata, što ukazuje da vrsta gline ne utječe na sposobnost adsorpcije. Adsorpcija na getit i gipsit je pokazala da postoji konkurencija između glifosata i fosfata za mjesta vezivanja. Za getiti je utvrđeno da fosfat može gotovo potpuno istisnuti glifosat, ali ne i obratno, što upućuje na zaključak da fosfati imaju jači afinitet vezanja za getit u odnosu na glifosat. Slični rezultati su dobiveni i za gipsit međutim ovdje utjecaj fosfata na adsorpciju glifosata nije toliko izražen, a također je zabilježen i jači utjecaj glifosata na adsorpciju fosfata. Za ilit i montmorilonit je utvrđeno da glifosat ima veći učinak na smanjenu adsorpciju fosfata. Vrlo različito ponašanje oksida aluminija i željeza te sekundarnih minerala gline kao adsorbenata glifosata i fosfata ukazuje da će se tla različitog mineraloškog sastava (vrsta i količina oksida i glinenih minerala) različito ponašati s obzirom na adsorpciju glifosata i fosfata.

Gimsing i Borggaard (2007.) utvrđuju razlike u adsorpciji glifosata i fosfata na hematit i ferihidrit, što pripisuju razlikama u veličinama molekule glifosata i fosfat, kao i razlikama u strukturi proučavanih minerala. Autori zaključuju da veći glifosatni ioni imaju nižu brzinu difuzije u čestice ferihidrita i hematita od fosfata, što u konačnici rezultira manjom adsorpcijom glifosata.

Laitinen i sur. (2008.) proveli su istraživanje na pjeskovito-ilovastom i glinastom tlu u kojem su željeli utvrditi učinak rastućih količina fosfora na adsorpciju glifosata. Utvrdili su da se porastom dodanog fosfora u tlo smanjila adsorpcija glifosata. Iako se glifosat ne smatra vrlo otrovnim herbicidom, njegova intenzivna i dugotrajna uporaba čini ga jednim od herbicida potencijalno štetnim za okoliš. Autori zaključuju da količina dodanog fosfora može poslužiti u procjeni rizika od onečišćenja glifosatom.

5.5. Usporedba utjecaja kemijskih značajki tla na analizirane herbicide

Organska tvar tla je izrazito važna komponenta krute faze tla, koja unatoč tome što je tlo sadrži prosječno oko 5%, zbog svoje velike aktivne površine i prisutnosti površinskog naboja omogućuje adsorpciju brojnih anorganskih i organskih spojeva. Iako određena istraživanja provedena u laboratorijskim uvjetima ukazuju da pročišćene huminske kiseline imaju određeni utjecaj na adsorpciju glifosata, u poljskim uvjetima nije utvrđena takva pozitivna korelacija. Pregledom literature (Albers i sur., 2009. i Sprankle i sur., 1975.^b) ustanovljeno je da organska tvar nije primarna sorpcijska tvar za glifosat, odnosno ustanovljena je negativna korelacija između adsorpcije glifosata i organske tvari. Ovakvi rezultati mogu se objasniti time što glifosat ima nisku hidrofobnost, odnosno slabo stupa u hidrofobne interakcije. Važniju ulogu u njegovoj adsorpciji imaju mineralni koloidi tla (sekundarni minerali gline).

Za razliku od glifosata, organska tvar ima izraziti utjecaj na adsorpciju herbicida s-metolaklora koji se može snažno adsorbirati na organsku tvar tla zbog visoke hidrofobnosti molekule, što su potvrdila prethodno opisana istraživanja (Fernandez i sur., 2019., Crisanto i sur., 1995., Ding i sur., 2002. i Si i sur., 2009.). Stoga se organska tvar može smatrati primarnim adsorbensom s-metolaklor u tlu.

Zbog toga što organska tvar potencijalno posjeduje veći broj pozitivno nabijenih funkcionalnih skupina, kao i dominantnog anionskog oblika 2,4-D herbicida koji se javlja u većini tala, organska tvar ima veću adsorpcijsku ulogu za ovaj herbicid u usporedbi s mineralima gline. Ovo je potvrđeno istraživanjima Farenhorst i sur. (2010.), Benoit i sur. (1996.) i Picton i Farenhorst, (2004.). U tlima bogatim organskom tvari smanjuje se pokretljivost s-metolaklora i 2,4-D, dok je kretanje glifosata u takvim tlima lakše, uz uvjet da je u tlu zanemariv udio sekundarnih minerala gline i oksida željeza i aluminija.

Organska tvar može pozitivno djelovati i na mikrobnu aktivnost čime bi potencijalno mogla pospješiti razgradnju ovih herbicida, ali također postoje istraživanja koja pokazuju da bi se herbicidi, s-metolaklor i 2,4-D mogli ugraditi duboko u organsku tvar te da bi se na taj način mogla potencijalno prevenirati njihova mikrobiološka razgradnja.

Reakcija tla ili pH vrijednost ima ključnu ulogu na kemijski oblik u kojemu će se primijenjeni herbicid nalaziti u tlu. U neutralnim i kiselim uvjetima pH vrijednosti glifosat se nalazi u kationskom obliku čime je omogućena znatno veća adsorpcija prvenstveno na okside i hidrokside željeza i aluminija. Povišenjem pH vrijednosti glifosat postaje negativno nabijen čime se smanjuje mogućnost njegove adsorpcije. Za razliku od glifosata herbicid 2,4-D je u

neutralnom pH području u anionskom obliku i tada se slabo adsorbira, odnosno može se adsorbirati samo na pozitivno nabijene skupine organske tvari, kojih u tlu ima vrlo malo, pa je više sklon ispiranju. Pri niskom pH vrijednostima zabilježena je veća adsorpcija 2,4-D, pošto se tada nalazi u neutralnom, odnosno molekularnom obliku. S-metolaklor se u tlu primjenjuje u molekularnom obliku te nije podložan promjenama uslijed promjene pH vrijednosti tla. Istraživanja ukazuju da se prilikom promjene pH vrijednosti tla herbicidima glifosatu i 2,4-D mijenja i koeficijent adsorpcije, dok za s-metolaklor nije zabilježena statistički značajna povezanost adsorpcije s promjenom pH vrijednosti..

Oksidi i hidroksidi željeza, aluminijski i silicijski su minerali koji su široko zastupljeni u tlu i utječu na adsorpciju ionskih herbicida, kao što su glifosat i 2,4-D. Za glifosat je utvrđena izrazita pozitivna korelacija između adsorpcije i udjela oksida željeza i aluminijski, jer radi dvije negativno nabijene funkcionalne skupine (fosfonatne i karboksilne) glifosat može stvarati kompleksne spojeve sa željezom i aluminijem. Utvrđeno je da oksidi željeza i aluminijski imaju veći kapacitet adsorpcije glifosata u odnosu na sekundarne minerale gline i organsku tvar. 2,4-D se u neutralnom pH području nalazi u anionskom obliku te može lako stupati u kemijske interakcije sa oksidima željeza i aluminijski. Istraživanja ukazuju da kvarc nije imao značajan utjecaj na adsorpciju ni jednog od analiziranih herbicida. Za s-metolaklor nije zabilježen statistički značajni utjecaj željezovih, aluminijevih i silicijevih oksida na adsorpciju, prvenstveno zbog molekularnog oblika u kojemu se nalazi i ne posjedovanja funkcionalnih grupa koje bi omogućile adsorpciju.

Zbog sličnosti u građi fosfora, odnosno fosfata, kao vodećeg oblika fosfora u otopini tla i fosfonatne skupine glifosata javlja se kompeticija za adsorpcijska mjesta na koloidima tla. Istraživanja ukazuju da će doći do znatno većeg ispiranja glifosata ako je u tretiranom tlu prisutna visoka koncentracija fosfora, jer fosfati imaju veći afinitet adsorpcije od glifosata. Time se povećava potencijal ispiranja glifosata. Utvrđeno je da povećana količina fosfata u otopini tla smanjuje mikrobiološku razgradnju glifosata, na način da mikroorganizmi potreban fosfor pronalaze u otopini, odnosno ne dolaze do njega razgradnjom složene organske molekule glifosata.

Može se zaključiti da na ponašanje glifosata, s-metolaklora i 2,4-D snažno utječu kemijske značajke tla, prvenstveno na intenzitet adsorpcije, njihovu topljivost, ali i perzistentnost u tlu.

6. Utjecaj bioloških značajki tla na ponašanje herbicida

Biološki čimbenici tla koji utječu na ponašanje i sudbinu primijenjenih herbicida predstavljaju živi dio tla ili edafon, koji obuhvaća široki spektar različitih organizama. Organizmi tla sudjeluju u vrlo važnim procesima izmjene tvari i energije, trošenja stijena, obogaćivanja tla organskom tvari i stvaranja humusa, fiksacije dušika i drugim važnim procesima. Organizmi omogućuju izmjenu herbicida između krute, tekuće i plinovite faze tla i njihovo kretanje iz pedosfere u sve ostale susjedne sfere (Gložinić, 2017.). Sve organizme tla možemo podijeliti na mikroorganizme (koji imaju značajnu ulogu u mikrobiološkoj razgradnji herbicida) i makroorganizme (u koje spadaju kulture koje uzgajamo, korovi i životinje).

6.1. Mikroorganizmi

Mikrobna biomasa je dio organske tvari u tlu koju čine živi mikroorganizmi, a uključuju bakterije, aktinomicete, alge, protozoe i mikrofaunu (Chowdhury i sur., 2008.). Mikroorganizmi tla neophodni su za funkcioniranje tla kao jednog vrlo složenog ekosustava. Osim na plodnost tla, mikroorganizmi su presudni za biorazgradnju i detoksikaciju herbicida. Hristeva i sur. (2015) navode da prva istraživanja mikroorganizama potječu iz 60 - ih godina prošlog stoljeća, te da važnost ovih istraživanja danas sve više raste. Mikroorganizmi tla, prvenstveno bakterije i gljive, igraju važnu ulogu u biogeokemijskom ciklusu organskih onečišćujućih tvari i održavanju funkcija tla. Mikroorganizmi tla jedan su od glavnih izvora enzima, pa se često enzimska aktivnost često koristiti kao biološki indikator kvalitete tla (Sun i sur., 2019.^a).

Mikrobiološka razgradnja herbicida u tlima ovisi o tri ključne varijable: 1) sposobnosti mikroorganizama da razgrađuju herbicide, 2) količina mikroorganizama u tlu i 3) aktivnost mikrobnog enzimskog sustava (Joshi i Gupta, 2008.).

Mikroorganizmi se u tlu ne nalaze samostalno, već tvore kompleksne zajednice u kojima se javljaju pozitivne (mutualizam, kometabolizam i dr.) i negativne (amenzalizam, predatorstvo i dr.) interakcije. Interakcije u mikrobnim zajednicama su ključne za obavljanje brojnih kemijskih i biokemijskih procesa, među kojima je i biološka razgradnja herbicida.

Mikrobiološka razgradnja herbicida je rezultat djelovanja enzimskog sustava mikroorganizama tla, te predstavlja jedan od glavnih načina razgradnje herbicida. Sve trofičke skupine mikroorganizama u tlu sudjeluju u procesu biorazgradnje. Mikrobi koriste herbicide kao izvor energije i ugljika te ih cijepanjem intramolekulskih veza postupno prevode u anorganske molekule. Ova razgradnja se obično događa u tri faze: 1. redoks reakcijama i hidrolizom mijenjaju se početne značajke herbicida, pri čemu nastaju spojevi veće topljivosti i manje toksičnosti; 2. konjugacija herbicida ili njihovih metabolita na šećere ili aminokiseline; 3. konverzija toksičnih metabolita u netoksične (Sing i Sing, 2016.).

Intenzitet mikrobiološke razgradnje ovisi o pedoklimatskim činiteljima. Općenito se smatra da su najpovoljniji uvjeti za mikrobiološku razgradnju kada je vlaga tla 50-100% poljskog kapaciteta za vodu, temperatura 27-32°C, pH vrijednost 6,5-8.0 i kada tlo ima više

od 3% humusa (Ostojić, 1989.). Osim toga važna je i primijenjena doza herbicida, pri čemu se u pravilu s povećanjem doze razgradnja usporava.

Skupine mikroorganizama tla, zbog njihove iznimne raznolikosti i brojnosti, različito će reagirati na primijenjeni herbicid. Nesporulirajuće bakterije smatraju se najotpornijim mikroorganizmima na toksične učinke herbicida, zatim sporulirajuće bakterije i aktinomicete. Najosjetljivije su mikroskopske gljive, nitrificirajuće bakterije, kao i bakterije koje vežu dušik iz zraka tla (Hristeva i sur, 2015.).

6.1.1. Utjecaj mikroorganizama na glifosat

Biološka razgradnja glifosata mikroorganizama predstavlja najznačajniji način razgradnje glifosata, pri čemu dolazi do cijepanja ugljik-fosfor veze (C-P), te nastaje glavni produkt razgradnje sarkozin. Sposobnost mikroorganizama da koriste organofosforne spojeve kao jedini izvor fosfora poznata je već dugo. Prvi dokazi o biološkom cijepanju ugljik-fosfor veze dobiveni su pokusima s bakterijom *Escherichia coli*. Uz cijepanje ugljik-fosfor veze, moguće je i cijepanje ugljik-dušik veze djelovanjem mikroorganizama, pri čemu nastaje aminometilfosfonska kiselina (AMPA) (Adelowo i sur., 2014.).

Adelowo i i sur. (2014.) istraživali su utjecaj tri izolirane roda gljivica *Trichoderma viridae*, *Aspergillus niger* i *Fusarium oxysporum* iz dva tla na biološku razgradnju glifosata. Ustanovili su pojačani rast gljivica u prisutnosti glifosata, pri čemu je *Trichoderma* pokazala najveći rast populacije, a *Aspergillus* najmanji. Rezultati ovog istraživanja ukazuju da se razgradnja glifosata od strane gljivica uglavnom odvijala cijepanjem ugljik-fosfor veze, što je rezultiralo oslobađanjem sarkozina i fosfonatne skupine koja je korištena je kao izvor fosfora za rast gljivica. Mali udio glifosata razgradio se cijepanjem ugljik-dušik veze, pri čemu se oslobodio AMPA. Autori zaključuju da bi ove gljivice mogle koristiti glifosat za svoj rast.

Rueppel i sur. (1977.) utvrđuju da se u praškasto ilovastom tlu 47-55 % glifosata razgradilo mikrobiološki putem do CO₂ tijekom 4 tjedana, što ukazuje na značajan utjecaj mikroorganizama na razgradnju glifosata. Glavni produkt razgradnje glifosata je bio aminometilfosfonska kiselina (AMPA).

Adelowo i sur. (2014.) navode da najviše o mikrobiološkoj populaciji i uvjetima u kojima se odvija razgradnja ovisi koji će biti dominantni produkt razgradnje ovoga herbicida.. Autori su ustanovili i da je utjecaj glifosata na mikrobiološku populaciju bio minimalan.

Proučavajući utjecaj glifosata na mikrobne zajednice Lo (2010.) također utvrđuje da glifosat većinom nema štetan utjecaj na mikroorganizme tla, već da stimulira rast i povećava brojnost određenih fizioloških grupa mikrobnih zajednica. Autor utvrđuje dominaciju gljivica prije primjene glifosata, a nakon primjene utvrđena je podjednaka zastupljenost bakterija i gljivica, te zaključuje da primjena komercijalnih formulacija glifosata u preporučenim koncentracijama ima „prijateljski“ učinak na strukturu mikrobne zajednice.

Singh i sur. (2019.) utvrđuju da vrste iz rodova *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Geobacillus*, *Ochrobactrum*, *Pseudomonas*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Trichoderma* mogu razgraditi glifosat koji im služi kao izvor energije i fosfora. Primjenom Fe (III) i Cu (II) iona smanjuje se postotak razgradnje glifosata zbog tvorbe stabilnih i teško

razgradivih kompleksnih spojeva. Primjenom huminskih kiselina također je primijećen značajni pad biološke razgradnje glifosata zbog formiranja stabilnih kompleksa putem vodikovih i kovalentnih veza.

Sharifi i sur. (2015.) utvrđuju da i halofilna bakterija *Salinicoccus spp.* sposobna biorazgraditi herbicid glifosat, što ukazuje da i ekstremofilni mikroorganizmi mogu sudjelovati u njegovoj razgradnji.

6.1.2. Utjecaj mikroorganizama na S-metolaklor

Mnoga istraživanja (Ma i sur., 2006.; O'Connell i sur., 1998.; Rice i sur., 2002.; Shelton i Parkin, 1991.; Taylor-Lovell i sur., 2002.; Wu i sur., 2011.) ukazuju da je osnovni mehanizam razgradnje s-metolaklora u tlu putem mikroorganizama. Utvrđeno je da ponavljanjem primjene s-metolaklora u tlu dolazi do povećane adaptacije mikroorganizama za njegovu razgradnju (Long i sur., 2014.).

Kometabolizam je glavni mehanizam biološke razgradnje s-metolaklora, odnosno razgradnja je jača kada su u tlu prisutna hraniva ili više različitih grupa mikroorganizama. Munoz i sur. (2011.) utvrđuju da dodatak energetskih izvora može ubrzati razgradnju metolaklora sojem kvasca *Candida xestobium*, odnosno gljivicom *Chaetomium globosum*.

Chang i sur. (2020.) utvrđuju da i nekoliko rodova bakterija razgrađuje kloracetamidne herbicide iz tla, uglavnom C-dealkilacijom i N-dealkilacijom, pri čemu se 24–60% primijenjenih kloracetamidnih herbicida razgradilo nakon 5–120 dana inokulacije.

Chang i sur. (2020.) utvrđuju da i plijesan *Penicillium oxalicum* utječe na biološku razgradnju metolaklora, te da primijenjeni soj ima veći potencijal razgradnje metolaklora od prethodno analiziranih bakterija. Autori zaključuju da gljivice imaju ključnu ulogu u procesu razgradnje metolaklora u tlu, te se pozivaju na radove Vryzas i sur. (2012.), Sun i sur. (2020.) i posebno na rad Sanyal and Kulshrestha (2002.) koji su otkrili da mješovite kulture gljivica *Aspergillus flavus* i *Aspergillus terreus* mogu reducirati čak 99% metolaklora primijenjenog u koncentraciji od 100 µg/l.

Postoje i oprečni rezultati navedenima. Saxena i sur. (1987.) istraživali su nekoliko sojeva mikroorganizama u cilju njihovog korištenja za biološku remedijaciju površina kontaminiranih metolaklorom. Autori nisu uspjeli izolirati mikroorganizme koji bi mogli mineralizirati metolaklor, ali su pronađeni sojevi bakterija (*Bacillus circulans*, *Bacillus megaterium*), gljivica (*Fusarium sp.*, *Mucor racemosus*) i aktinomiceta koji mogu transformirati metolaklor. Utvrdili su da je tolerancija aktinomiceta na koncentraciju metolaklora preko 200 ppm bila niska i nije se mogla povećati niti udvostručenjem koncentracije dodane saharoze, dok je gljivica *Fusarium sp.* bila tolerantna na metolaklor do koncentracije od 300 ppm.

Na biološku razgradnju herbicida utječe i kemijska građa herbicida. Neki herbicidi, koji u svojoj građi imaju aromatični prsten su otporniji na mikrobnе metabolite te su ujedno postojaniji u okolišu. Primjer takvog herbicida je i s-metolaklor kod kojeg je zamijećena samo djelomična razgradnja i relativna otpornost na fotorazgradnju (Martins i sur., 2007.). Autori su uspjeli izolirati samo četiri soja bakterija (*Klebsiella pneumoniae pneumoniae* GC s.B soj 1,

Klebsiella pneumoniae pneumoniae GC s.B soj 2, *Pseudomonas alcaligenes* i *Enterobacter aerogenes* GC s.A) koje mogu potpuno ili djelomično razgraditi s metolaklor. Najbolje rezultate je pokazala *Klebsiella pneumoniae pneumoniae* GC s.B soj 2 koja je uspješno razgradila 99% primijenjenog s-metolaklora.

Zbog česte primjene s-metolaklora na obradivim površinama, provedena su brojna istraživanja utjecaja ovog herbicida na mikrobne populacije. Sahid i Yap (1994.) utvrđuju da primjena metolaklora (pri standardnim i visokim dozama) smanjuje broj celulolitičkih mikroorganizama (posebno bakterija) i njihovu sposobnost da koloniziraju i razgrade celulozni supstrat. Također se pokazalo da metolaklor smanjuje populaciju aerobnih fiksatora dušika, što u konačnici negativno utječe na bilancu dušika u tlu (Rose i sur., 2016.).

6.1.3. Utjecaj mikroorganizama na 2,4-D

Biorazgradnja 2,4-D važna je za određivanje sudbine ovog herbicida u okolišu. Različiti sastojci tla i interakcije mikrobnih zajednica i 2,4-D u tlu igraju presudnu ulogu u procesu razgradnje. 2,4-D se obično razgrađuje nakon nekoliko dana od primjene abiotskim i biotskim interakcijama. Dugotrajnost 2,4-D u prirodnom okolišu može biti posljedica toga što u prirodnom okruženju mikroorganizmi mogu imati pristup mobilnim i raznovrsnijim izvorima ugljika koji se lakše mogu razgraditi od složenih organskih spojeva kakav je 2,4-D (Islam i sur., 2018.).

Bakterije koje obavljaju razgradnju 2,4-D metabolizirajuće bakterije obično se dijele u tri skupine: 1. γ - i β - proteobakterije; 2. α – proteobakterije; 3. bakterije koje su povezane s rodом *Sphingomonas* (Islam i sur., 2017.). Prvi korak u aerobnoj biološkoj razgradnji 2,4-D je cijepanje esterne veze čime nastaje 2,4-diklorofenol (2,4-DCP) ili 4-klor-2 - metilfenol. Drugi je korak hidroksilacija fenolnih spojeva u katehol. U trećem koraku katehol se dalje metalizira te kao krajnji produkt nastaje 3-oksoadipat koji ulazi u posrednički metabolizam. (Islam i sur., 2018.).

U sulfonogenim uvjetima vjerojatni mehanizam razgradnje 2,4-D odvijao bi se u tri koraka: 1. hidrolitičko cijepanje O-C veze između aromatskog prstena (fenoksi-kisik) i ugljika supstituenta octene kiseline oslobađajući tako jednu molekulu acetata i 2,4-diklorofenola; 2. oslobođenu molekulu acetata mikrobi bi mogli koristiti kao izvor ugljika, s druge strane, 2,4-diklorofenol mogao bi se podvrgnuti reduktivnoj deklorinaciji čime bi nastao fenol; 3. generirani fenol mikrobi bi anoksično koristili za CO₂ uz redukciju elektron akceptora sulfata u sulfid (Robles - González i sur., 2006.).

Dejonghe i sur. (2000) izvijestili su da različiti mikroorganizmi u tlu, uglavnom aerobni ili fakultativni, kao što su vrste iz rodova *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Ralstonia*, *Bortedella*, *Arthrobacter*, *Sphingomonas* i *Burkholderia*, mogu razgraditi 2,4-D.

Robles-González i sur. (2006.) utvrđuju da bi porast sadržaja organske tvari u tlima može smanjiti biotransformaciju/razgradnju nekih herbicida poput 2,4-D, što pripisuju nepovratnoj sorpciji herbicida na organsku tvar u tlu, što dovodi do smanjene dostupnosti 2,4-D mikroorganizmima.

Ogram i sur. (1985.) predlažu primjenu matematičkog modela za procjenu biorazgradnje herbicida 2,4-D u tlu, pri čemu pretpostavljaju da je adsorbirani herbicid u potpunosti zaštićen od biološke razgradnje, te da je samo onaj dio molekule koja se nalazi u tekućoj fazi tla (otopini) može razgraditi. Testiranjem u laboratorijskim kontroliranim uvjetima potvrdili su visoku podudarnost između mjerenih i procijenjenih vrijednosti.

Adeleye i sur. (2004) proučavaju učinak 2,4-D na bakterije *Azotobacter vinelandii*, *Rhizobium phaseoli* i *Bacillus subtilis* i zaključuju da je *Azotobacter vinelandii* najosjetljiviji na ovaj herbicid, a postotak preživljavanja bakterija se smanjio s povećanjem primijenjene koncentracije

Joshi i Gupta (2008.) proučavali su učinak herbicida 2,4-D na gljivice (vrste *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.*, *Fusarium sp.*, *Penicillium sp.*, *Cunninghamella sp.*, *Verticillium sp.*, *Gliocladium sp.*, *Alternaria sp.*, *Helminthosporium sp.* i *Curvularia sp.*) i utvrdili da postoji toksični učinak na određene vrste, pri čemu je gljivica *Aspergillus sp.* najviše iskorištavala 2,4-D kao izvor ugljika.

6.2. Makroorganizmi

Pregledom literature utvrđen je veći broj radova koji govori o utjecaju herbicida i njihovoj bioakumulaciji u glistama i biljkama, pa se u nastavku daje pregled radova koji govore o tome.

Bioakumulacija predstavlja proces nagomilavanja tvari, odnosno spojeva u neki organizam, pri čemu te tvari ili spojevi nisu osnovni sastojak ili hranjiva tvar za taj organizam. Bioakumulacija neke tvari, pa tako i herbicida, uključuje unošenje herbicida u organizam i njegovu biokoncentraciju, odnosno povećavanje koncentracije herbicida u organizmu (Katagi i Ose, 2015.). Na stupanj bioakumulacije herbicida utječu brojni čimbenici, među kojima su: količina herbicida, vrijeme izloženosti herbicidima u otopini tla, prisutnost čestica koje mogu vezati, odnosno adsorbirati herbicide (glina i organska tvar), prehrambene navike samog organizma (Katagi, 2010.).

6.2.1. Gliste

Gliste su dugačke, uske, cilindrične, obostrano simetrične, segmentirane životinje bez kostiju i duljine nekoliko centimetara. Raspodjela glista u tlu ovisi o teksturi tla, vlažnosti tla, sadržaju organske tvari i pH tla. Preferiraju rahla ilovasta tla, sadržaja vlage između 60-75% poljskog kapaciteta za vodu, umjereno do dosta humozna, te neutralne do slabo kisele reakcije- Glista uglavnom nema ili su rijetke u tlu vrlo teške teksture ili kod pH <4. (Sinha i sur., 2009.).

Gliste su najvažniji beskralješnjaci u tlu, čine 60 - 80% ukupne biomase tla. Zbog svojih aktivnosti (kroz stvaranje kanala, probavljanje tla, omatanje tla svojim izlučevinama i izlučivanje tla) gliste imaju pozitivan utjecaj na stvaranje povoljne mrvičaste strukture, poboljšaju fizikalno-kemijske značajke tla, stimuliraju mikrobnu aktivnost i potiču reakcije, čime izravno i neizravno utječu na biorazgradnju organskih onečišćivača. Gliste mogu

povećati biorazpoloživost organskih onečišćivača, te time pomoći mikrobiološkoj razgradnji mnogih herbicida u tlu (Sun i sur., 2019.^b).

Prikladni su bioindikatori kemijske kontaminacije tla u kopnenim ekosustavima upozoravajući na pogoršanje kvalitete tla, što je velikim dijelom radi činjenice da probavljaju velike količine tla s potencijalnim primjesama onečišćujućih tvari, među koje spadaju i herbicidi (Yasmin i D'Souza, 2010.).

Kada se kreću u tlu gliste tvore vodoravne ili okomite tunele čime potiču aeraciju. Što s jedne strane može pospješiti biološku razgradnju herbicida, ali s druge može pospješiti njihovo ispiranje u dublje slojeve tla i/ili podzemne vode. (Prado i sur., 2016.).

Općenito postoje dva glavna puta kojima gliste mogu bioakumulirati onečišćenja; 1: jednostavna pasivna difuzija preko površine kože (samo spojevi u otopini tla i/ili oni koji su slabo vezani na čestice tla mogu se ovako akumulirati); 2. unošenje onečišćenja zajedno s tlom, što rezultira difuzijom onečišćenja kroz probavni trakt i nakupljanje u tkivima bogatim lipidima (Yu i sur., 2006.).

6.2.1.1. Utjecaj glista na glifosat

Iako se ne očekuje da će bioakumulacija glifosata u životinjskim tkivima biti visoka zbog njegove visoke topljivosti u vodi i zbog ionskog karaktera, Contardo-Jara i sur. (2009.) utvrdili su njegovu bioakumulaciju u glisti *Lumbriculus variegatus* prilikom četverodnevno izlaganja koncentracijama 0,05-5 mg/l. Akumulirane količine rasle su s porastom koncentracije glifosata.

Yang i sur. (2018.) proučavaju kretanje glifosata i metabolita AMPA kroz kanale glista i okolno tlo, te utvrđuju najveće koncentracije glifosata i AMPA u prvom centimetru gornjeg sloja tla, dok su u tlu izvan tunela utvrđene vrlo niske koncentracije. Dobiveni rezultati ukazuju da se glifosat u tunelima transportira brže i dublje, pogotovo u humidnim klimatskim uvjetima, te da tuneli glista mogu biti žarišta nakupljanja glifosata. Slične rezultate su dobili i Kjær i sur. (2011.) uz zaključak da je jedan od mogućih puteva prijenosa glifosata u tlu putem velikih pora-biopora koje nastaju djelovanjem korijenovog sustava i/ili djelovanjem glista.

Lescano i sur. (2020.) utvrđuju da je u tlu obogaćenom glistama (*Eisenia fetida*) nakon 90 dana razgrađeno 90% primijenjenog glifosata, dok je u tlu bez glista razgrađeno 80% glifosata. Takve biosmjese pokazuju izvrsnu sposobnost razgradnje i aminometilfosfonske kiseline (AMPA). Rezultati ukazuju da *Eisenia fetida* može tolerirati visoke koncentracije glifosata (1000 mg/kg biosmjese), te se može koristiti za bioremedijaciju, odnosno uklanjanje glifosata i AMPA iz tla.

Istraživanja ukazuju da herbicidi na bazi glifosata nemaju utjecaj na reprodukciju glista, ali njegov glavni metabolit AMPA pokazuje promjenjiv učinak (González - Alcaraz i sur., 2020.).

Correia i Moreira (2010.) nakon istraživanja utjecaja glifosata na gliste (*Eisenia fetida*) utvrđuju visoku smrtnost kod primjene visokih koncentracija (500 i 1.000 mg/kg), kao i ozbiljne učinke na razvoj i razmnožavanje *Eisenia fetida* pri nižim koncentracijama.

6.2.1.2. Utjecaj glista na s-metolaklor

Wu i sur. (2011.) provode istraživanja bioakumulacije metolaklora u glisti *Eisenia fetida* te na njegovu adsorpciju i desorpciju, te utvrđuju da s porastom količine organske tvari u tlu se smanjuje njegova bioakumulacija. Utvrđena je značajna negativna korelacija između koncentracije metolaklora u tkivima glista i sadržaja organske tvari. Utvrđeno je da na bioakumulaciju metolaklora u glistama utječe složena interakcija fizikalno-kemijsko-bioloških značajki tla.

Worrall i sur. (1997.) utvrđuju da su tuneli glista većinom obloženi organskim česticama nastalih razgradnjom organske tvari, te kao takvi predstavljaju povoljna mjesta za adsorpciju brojnih herbicida, pa time i metolaklora. Između 25 i 87% herbicida se adsorbiralo na takve organske čestice.

Sun i sur. (2019.^b) utvrđuju da glista *Eisenia fetida* utječe na ubrzanje biološke razgradnje metolaklora putem gljivica i bakterija. U tretmanu s glistama su otkrivena dva metabolita metolaklora: 1. metolaklor oksanilna kiselina (MOXA) i 2. metolaklor etansulfonska kiselina (MESA), te je utvrđeno da gliste stimuliraju stvaranje MOXA, a inhibiraju stvaranje MESA u tlu. Koncentracije metabolita metolaklora su bile znatno više u tlu nego u glistama, što sugerira da se ti metaboliti ne akumuliraju (MOXA) ili da se akumuliraju u niskim koncentracijama (MESA) u glistama.

Xu i sur. (2010.) proučavaju učinke s-metolaklora na enzimsku aktivnost glista *Eisenia fetida*, te utvrđuju njegov toksičan utjecaj na aktivnosti enzima celulaže i katalaze.

6.2.1.3. Utjecaj glista na 2,4-D

Lazurick i sur. (2017.) proučavajući toksikološki utjecaj i potencijal bioakumulacije 2,4-D i glifosata u glistama (*Eisenia fetida*) utvrđuju niski toksikološki utjecaj herbicida 2,4-D-putem pasivne difuzije preko površine kože, dok prilikom unošenja ovoga herbicida probavnim traktom (gutanjem tla ili vegetacije tretirane ovom herbicidom) ovoga utjecaja nije bilo. Dobiveni rezultati upućuju da 2,4-D i njegovi metaboliti imaju niski potencijal bioakumulacije u glistama *Eisenia fetida*.

Kao što je već spomenuto za glifosat i s-metolaklor tako se i 2,4-D se može lako kretati kroz makropore, odnosno biopore koje stvaraju gliste svojim djelovanjem. Ovo su potvrdili Pivetz i Steenhuis (1995.) proučavajući kretanje herbicida 2,4-D u tlu s prirodnim bioporama i u tlu s umjetno načinjenim makroporama. Utvrdili su ispiranje 2,4-D u oba tla, ali i njegovu adsorpciju na organske čestice na rubovima makropora, odnosno biopora. U bioporama je zamijećena veća mikrobna aktivnost stimulirana glistama, što je rezultiralo uspješnijom biološkom razgradnjom 2,4-D.

Bolan i Baskaran (1996.) su dobili slične rezultate proučavajući utjecaj organskih ostataka glista *Lumbricus rubellus* i *Allobophora caliginosa* na sorpciju i kretanje 2,4-D u tlu. I oni su utvrdili da su organski ostaci na stijenkama kanala sposobni sorbirali veću količinu herbicida iz onečišćenog tla.

Uzimajući u obzir široku primjenu 2,4-D herbicida pojedina istraživanja ukazuju da njegova prisutnost ipak može biti štetna za neciljane organizme. De Castro Marcato i sur. (2017.) navode da dugoročna primjena 2,4-D može izazvati poremećaje u zastupljenosti glista i stonoga u tlu, čak i pri primjeni u preporučenoj koncentraciji (3,5 mg/kg).

Hattab i sur. (2015.) navode da toksični učinak 2,4-D proizlazi iz toga što on potiče peroksidaciju lipida što može potaknuti proizvodnju reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) u izloženim glistama. Pojačano nakupljanje enzima za detoksikaciju ROS-a, poput superoksid dismutaze (SOD), katalaze (CAT) i glutation-S-transferaze (GST) važni su za procjenu toksičnog učinka 2,4-D na organizme tla.

6.2.2. Biljke

Navarro i sur. (2007.) navode da je nekoliko je studija pokazalo kako biljke uzgajane na površinama prethodno tretiranim herbicidima mogu apsorbirati neke herbicide iz tla u većim ili manjim koncentracijama koje ovise o nizu čimbenika (uzgajanoj kulturi, fizikalno-kemijskim svojstvima upotrijebljenog herbicida, klimi, značajkama tla i stupnju onečišćenja).

Usvajanje herbicida korijenjem biljaka aktivan je ili pasivan proces koji ovisi o značajkama herbicida i samoj biljci. Herbicidi se prenose iz otopine tla u biljno korijenje pasivno masenim strujanjem vode prilikom transpiracije ili difuzijom, pri čemu hidrofobnost, naboj, molekularna masa i polarnost spoja utječu na intenzitet difuzije. U biljkama se herbicidi sorbiraju u biljne lipide, translociraju se u ksilem ili floem, metaboliziraju, ugrađuju u biljna tkiva ili se transpiracijom ispuštaju u atmosferu (Müller i sur., 2006.).

Jednom adsorbirani herbicid se može skladištiti unutar biljke ili razgraditi u druge spojeve koji imaju veću ili manju toksičnost od matičnog spoja. Razgradnja herbicida u biljkama odvija se u tri faze: 1. transformacija, 2. konjugacija i 3. sekvestracija nakon čega slijedi skladištenje razgradnih produkata (Müller i sur., 2006.).

Korijen biljaka nakon uginuća podliježe procesima razgradnje čime nastaju makropore (biopore, slično kao kod glista), koje ubrzavaju translokaciju herbicida iz površinskih slojeva tla u dublje, čime je povećan i rizik od ispiranja herbicida. Pojačani rast biljaka i korijena također potiče agregaciju tla i mikrobiološku aktivnost u rizosferi povećanim izlučevinama korijena, uključujući niskomolekularne organske kiseline, polisaharide i enzime (Müller i sur., 2006.).

Istraživanja tijekom posljednjih desetljeća otkrila su da biljke sadrže mnoštvo enzima koji utječu na metaboliziranje herbicida u fitonetoksične produkte. Metabolizam herbicida često uključuje njihovu oksidaciju ili hidrolizu, pri čemu se stvaraju funkcionalna skupine koje se mogu konjugirati na endogeni dio (glutation, glukoza ili aminokiselina), a nastali spoj je općenito neaktivan prema početnom ciljnom mjestu, hidrofilniji i manje pokretni u biljci od matičnog herbicida, te osjetljivi na daljnju razgradnju (Kreuz i sur., 1996.).

6.2.2.1. Utjecaj biljaka na glifosat

Singh i sur. (2020.) navode da je tijekom posljednjih 40-ak godina proučavana primjena glifosata na 40 različitih korova kako bi se utvrdila učinkovitost i opseg translokacije ovoga herbicida. Jedno od prvih istraživanja objavili su Sprankle i sur. (1973.) u kojemu objašnjavaju mehanizam translokacije glifosata floemom u meristemski dio korijena i druge dijelove biljke. Nekoliko je neovisnih čimbenika koji reguliraju mehanizam usvajanja glifosata. Kao najvažniji se navodi primijenjena koncentracija, zatim vrsta površinski aktivnog sredstva, kao i njegova koncentracija, ionska snaga i koncentracija soli, veličina kapljice i njeno širenje, sastav i debljina kutikule i vlažnost (Singh i sur., 2020.).

Glifosat i aminometilfosfonska kiselina (AMPA) se translociraju u lišće u dva procesa: prvo prodiru kroz kutikulu a zatim se usvajaju putem simplasta. Simplast omogućuje ulazak herbicida sustavom endogenih nosača ili pasivnom difuzijom, što ovisi o količini herbicida, čimbenicima okoliša i biljci. Nakon ulaska dolazi do translokacije glifosata i nakupljanja u meristemskim mjestima, kao i na aktivnim biljnim dijelovima poput vrhova korijena i izbojaka, gomolja, rizoma i mladog lišća. Učinkovito djelovanje glifosata pripisuje se izvrsnom usvajanju od strane biljke, translokaciji u meristeme, djelomičnoj razgradnji i sporom načinu djelovanja (Singh i sur, 2020.).

Glifosat nakupljen u aktivnom meristematskom tkivu, izdancima i plodovima u razvoju, usporava njihov rast. Kalcij, magnezij i mikroelementi koji keliraju s glifosatom mogu smanjiti njegovu biološku aktivnost i njegov utjecaj na rast ovih tkiva, pa se stoga nazivaju „detoksikacijski elementi“. Stoga je važno održavati dovoljnu količinu ovih minerala u biljci odnosno tlu. Detoksikacija glifosata putem kelacije se može dogoditi u jako karbonatnim vapnenim tlima ili tlima s visokom razinom topljivih mikroelemenata, te se na taj način smanjuje toksični učinak glifosata na organizme tla (Johal i Huber, 2009.).

Apsorpciju glifosata i mehanizam njegovog kretanja u biljci potvrdili su i Feng i sur. (2003.) u pokusima s teofrastovim mračnjakom (*Abutilon theophrasti*), pri čemu navode da izlučivanje translociranog glifosata korijenom predstavlja toksikološki problem za neciljane organizme i sjeme u tlu.

Laitinen i sur. (2007.) također istražuju značaj translokacije glifosata i njegovo izlučivanje u tlo putem korijena biljaka što utječe na rezidue glifosata u tlu. Rezultati pokazuju da je i kod vrlo mladih biljkama oko 1% translociranog glifosata pronađeno u sloju tla oko korijena jedan sat nakon nanošenja, dok kod starijih biljaka koncentracija glifosata u tlu nije se značajno razlikovala od kontrole. Međutim, nakon osam dana rezidui glifosata su utvrđeni u tlu oko korijena starijih biljaka, ali u manjim koncentracijama od onih u mlađim biljkama.

Detoksikacija glifosata u biljci može se odvijati na dva načina. Jedan rezultira stvaranjem fosfata i sarkozina, dok drugi rezultira stvaranjem aminometilfosfonske kiseline (AMPA) i gliksilata, koji se još naziva i glifosat oksidaza (GOX). Detoksikacija glifosata je u većoj mjeri moguća kod biljaka koje su rezistentne na glifosat, pa istraživanja idu u smjeru stvaranja rezistentnih vrsta koje bi se mogle koristiti u komercijalne svrhe (Dill, 2005.).

Neselektivna uporaba glifosata ne samo da negativno utječe na neciljane usjeve, već predstavlja i zdravstveni rizik za neciljane životinjske vrste koje se nalaze u kopnenim i vodenim ekosustavima.

Brojna istraživanja govore da glifosat može djelovati na fotosintezu (Kremer i Means 2009.; Kielak i sur., 2011.; Zobiolo i sur., 2012.), biosintezu klorofila (Reddy i sur., 2004.; Serra i sur., 2013.), fotokemijske reakcije (Vivancos i sur., 2011.), metabolizam ugljika (Mateos-Naranjo i sur., 2009.; Zobiolo i sur., 2011b; Ding i sur., 2011.), metabolizam dušika (Zobiolo i sur., 2010.), usvajanje minerala (Cakmak i sur., 2009.; Senem i sur., 2009.; Zobiolo i sur., 2010., 2011b., 2012.), oksidativni stres (Ahsan i sur., 2008.), poremećaj fitohormona (Sergiev i sur., 2006.; Miteva i sur., 2010.).

Glifosat inhibira sintezu klorofila, masnih kiselina, aminokiselina (Gomes i sur., 2017a.) i sekundarnih metabolita poput kinona (Dewick, 1995.) koji čini važnu komponentu u fiziološkim procesima biljaka (Mateos-Naranjo i sur., 2009.; Zobiolo i sur., 2012.; Yanniccari i sur., 2012.). Glifosat smanjuje sadržaj Mg u lišću (Cakmak i sur., 2009.) što dovodi do smanjenja brzine fotosinteze i sadržaja klorofila (Zobiolo i sur. 2012.). Također sprječava biosintezu katalaze, peroksidaze i δ -aminolevulinskih kiselina koje su glavna komponenta biosintetskog puta klorofila i koje induciraju nedostatak Fe u biljkama (Marsh i sur., 1963.) (u Singh i sur., 2020.).

6.2.2.2. Utjecaj biljaka na s-metolaklor

Dixon i Stoller (1982.) utvrđuju da kukuruz ima razvijeniji mehanizam za detoksikaciju metolaklora od jestivog šilja. Iako je kukuruz apsorbirao 41% primijenjenog metolaklora nakon 13 dana, a jestivi šilj samo 8%, jača translokacija u izdanke utvrđena je kod jestivog štira.

Biljni enzim glutation-s-transferaza (GST) ima ključnu ulogu u detoksikaciji herbicida, među kojima je metolaklor i već opisani glifosat. Li i sur. (2016.) proučavajući osjetljivost 10 kultivara kukuruza na metolaklor izdvajaju dva kultivara koji su rezistentni na metolaklor, odnosno posjeduju enzimatski sustav GST za detoksikaciju metolaklora. Rezistentni kultivari su znatno brže razgradili metolaklor od osjetljivih kultivara.

Značaj GST enzima na rezistentnost i osjetljivost biljaka na utjecaj s-metolaklora proučavali su Brabham i sur. (2019.) i Rangani i sur. (2021.). Oba istraživanja su provedena na *Amaranthus palmeri*, pri čemu autori zaključuju da se znatna količina herbicida inaktivirana djelovanjem GST enzima već u korijenu prilikom njegove apsorpcije.

Posjedovanje enzimatskog sustava za detoksikaciju i razgradnju metolaklora se potencijalno može koristiti i za fitoremedijaciju onečišćenih lokacija. Mogućnost korištenja travnih smjesa u fitoremedijaciji s-metolaklora istraživali su Henderson i sur. (2007.) i utvrdili da su metolaklor i metaboliti manje bioraspoloživi u tlima, te da se prerijske trave mogu uspješno koristiti za uklanjanje s-metolaklora iz tla. Razine metolaklora i ključnih metabolita u travama bile su nešto ispod granica tolerancije (prema Američkoj agenciji za zaštitu okoliša).

Xie i sur. (2010.) pratili su aktivnost enzima superoksid dismutaze, peroksidaze, i katalaze u kukuruzu na razgradnju s-metolaklora (izomer) i metolaklora (racemat), te utvrdili da je razgradnja s-metolaklora u korijenu bila veća od razgradnje metolaklora.

6.2.2.3. Utjecaj biljaka na 2,4-D

Metabolizam 2,4-D u biljkama dobro je proučen u istraživanjima Feung i sur. (1971., 1972., 1973., 1974., 1976., 1978) i Loos (1971.). 2,4-D se metabolizira u biljci hidroksilacijom bočnog lanca prstenaste strukture, konjugacijom šećera i aminokiselina, formulacijom metabolita, cijepanjem prstena ili produženjem bočnog lanca. Biljke pretvaraju 2,4-D herbicid hidroksilacijom u neaktivne, netoksične ugljikohidratne spojeve, ili konjugacijom u aminokiselinske spojeve koji ometaju sintezu proteina i toksični su za biljke, što u konačnici rezultira uginućem biljke. Scheel i Sandermann (1981.) utvrđuju da kod rezistentnih biljaka postoji tendencija hidroksilacije 2,4-D, odnosno u osjetljivim biljkama na 2,4-D postoji tendencija njegove konjugacije s aminokiselinama. Rezultati ukazuju da rezistentne biljke imaju jači utjecaj na detoksikaciju 2,4-D herbicida (cit. Barnes i Seefeldt, 2009.).

Iako je 2,4-D sintetiziran za selektivno suzbijanje širokolisnih korova, ubrzo nakon njegove komercijalizacije počinju se javljati fitotoksični učinci na osjetljive kulturne biljke, pogotovo širokolisne.. Prisutnost 2,4-D na osjetljivim kulturama može uzrokovati oštećenje kutikule, oksidativni stres, smanjenje prinosa, oštećenje DNA i druge štetne pojave što je dokumentirano u mnogim istraživanjima (Sciombato i sur., 2014.; Leon i sur., 2014.; Virginia i sur., 2012.; Marple i sur., 2008.; Kumar and Singh, 2010.; Islam i sur., 2016.; Filkowski i sur., 2003.) (citirano u Islam i sur, 2017.).

Peterson i Hulting (2004.) procjenjuju da je fitotoksičnost 2,4-D oko 400 puta veća od glifosata. Širokolisni usjevi poput pamuka, soje i grožđa vrlo su osjetljivi i mogući je potencijalni gubitak prinosa čak i pri izloženosti biljaka vrlo malim dozama. Bondada (2011.) izvještava da postoje brojne abnormalnosti strukturalnih stanica lista grožđa kod primjene 2,4-D, te se smanjila sposobnost fotosinteze i transpiracije vode kod oštećenog lista, što dovodi do starenja lista, nekroze i u konačnici uginuće biljke.

S druge strane dugogodišnja primjena istog herbicida može rezultirati stvaranjem rezistentnih vrsta. Torra i sur. (2017.) utvrđuju pojavu rezistencije na 2,4-D kod širokolisnog korova *Papaver rhoeas* (mak turčinjak) u ozimim žitaricama u južnoj Europi.

6.3. Usporedba utjecaja bioloških značajki tla na analizirane herbicide

Osnovni način razgradnje glifosata, s-metolakora i 2,4-D je putem mikroorganizama (prvenstveno bakterija i gljivica) u aerobnim ili anaerobnim uvjetima. Glifosat i 2,4-D su podložni razgradnji djelovanjem prvenstveno bakterija pa gljivica, a za s-metolaklor su to prvenstveno gljivice pa tek onda bakterije. Istraživanja ukazuju da se otpornost istraživanih herbicida na mikrobiološku razgradnju može prikazati sljedećim redoslijedom: glifosat > 2,4-D > s-metolaklor.

Gliste i biljno korijenje, kao i makroorganizmi u tlu, sudjeluju u transportu, razgradnji i bioakumulaciji herbicida putem biopora koje stvaraju. Gliste mogu biopore obogatiti organskom tvari, što može dovesti do njihove pojačane sorpcije na stijenke pora. Zabilježen je pozitivan utjecaj organskih čestica u bioporama na sorpciju s-metolaklor i 2,4-D, dok u literaturi nema podataka o njihovom utjecaju na glifosat. U bioporama je utvrđena i pojačana aerobna razgradnja istraživanih herbicida zbog prisutnosti velikog broja aerobnih mikroorganizama.

Gliste u određenoj mjeri mogu i bioakumulirati herbicide. Za glifosat je utvrđena ograničena mogućnost bioakumulacije u glistama, dok je za s-metolaklor i 2,4-D utvrđen niski potencijal bioakumulacije. Toksični učinak analiziranih herbicida na gliste ovisan je o primijenjenoj dozi, vremenu izlaganja, vrsti i starosti gliste.

Biljke kao makroorganizmi također imaju učinak na ponašanje herbicida. Glifosat i 2,4-D se primjenjuju folirarno te je njihovo mjesto ulaska u biljku preko lista, dok se s-metolaklor primjenjuje na tlo pa je mjesto ulaska u biljku uglavnom putem korijena. Herbicidi se translociraju u tretiranim biljkama putem ksilema i floema te dopijevaju u aktivne dijelove poput vrhova korijena i izbojaka, gomolja, rizoma i mladog lišća, gdje mogu dovesti do stagnacije rasta, pojave oksidativnog stresa, nepovoljno djelovati na fotosintezu, sintezu proteina i drugo.

Dakle može se zaključiti da biološke značajke tla imaju prvenstveno utjecaj na ponašanje herbicida u tlu preko mikrobiološke razgradnje i sposobnosti detoksikacije u makroorganizmima.

7. Zaključak

Gledajući analizirane čimbenike tla na ponašanje istraživanih herbicida vidljivo je da tekstura, organska tvar, pH i oksidi i hidroksidi aluminijska i željeza imaju različiti učinak što prvenstveno ovisi o fizikalno-kemijskim značajkama samih herbicida.

Glifosat, kao organofosforni herbicid, u tlu se pojavljuje u kationskom obliku te se najviše adsorbira na okside i hidrokside željeza i aluminijska, zatim na sekundarne minerale gline, naročito smektite, dok organska tvar nema statistički značajni utjecaj na njegovu sorpciju. Ovakvi herbicidi su podložni djelovanju pH, o čemu i ovisi koeficijent adsorpcije. Glifosat i fosfor, zbog sličnosti u građi, kao i dio drugih organofosforinih herbicida, imaju kompetitivni odnos prema adsorpcijskim mjestima. Fosfati, uz kompeticiju, mogu i smanjiti biološku razgradnju glifosata zbog dostatne količine fosfora u otopini tla.

S-metolaklor je organoklorni herbicid koji se primjenjuje u molekularnom obliku. On se u tlu najviše adsorbira na organsku tvar, te sekundarne minerale gline. Oksidi i hidroksidi željeza i aluminijska nemaju statistički značajni učinak na njegovu adsorpciju, kao ni pH vrijednost tla radi molekularnog oblika u kojemu se ovaj herbicid javlja u tlu.

2,4-D je također organoklorni herbicid koji se u tlu nalazi prvenstveno u anionskom obliku. Na adsorpciju 2,4-D podjednako djeluju organska tvar i oksidi i hidroksidi željeza i aluminijska, odnosno može se zaključiti da se radi anionskog oblika slabo zadržava u tlu i sklon je ispiranju. pH vrijednost utječe na adsorpciju i pokretljivost ovog herbicida jer utječe na promjenu anionskog u molekularni oblik.

Čimbenici, kao što su struktura, vlaga i temperatura tla, stvaraju uvjete u tlu koji utječu na mogućnost adsorpcije, površinskog otjecanja i ispiranja, isparavanja te razgradnje na način da stimuliraju mikrobne populacije, stvaraju transportne kanale, odnosno makropore te djeluju kao medij za transport.

Organizmi tla, kao biološki čimbenici, odgovorni su za kontrolu količine herbicida u otopini tla biološkom razgradnjom (mikroorganizmi), adsorpcijom (biljke) ili bioakumulacijom (gljive). Biljke i gljive, uz adsorpciju i bioakumulaciju, stimuliraju mikrobiološku razgradnju herbicida aeriranjem tla, ali i potenciraju transport otopljenih herbicida u formiranim bioporama,

Temeljem analizirane literature može se zaključiti da ponašanje i učinak proučavanih herbicida ovisi o velikom broju činitelja, odnosno o njihovoj interakciji. Stoga je važno prilikom korištenja herbicida i postizanja željenog učinka poznavati značajke tla (teksturu, strukturu, poroznost, sadržaj vode i organske tvari, pH vrijednost), ali i svojstva samih herbicida od kojih su najvažniji tlak para koji utječe na njihovo isparavanje, topljivost koja utječe na njihovo površinsko otjecanje i ispiranje, te koeficijent adsorpcije koji utječe na zadržavanje herbicida u tlu. Ne treba zanemariti ni vremenske prilike, naročito oborine i temperature. Koja će od navedenih značajki tla imati jači utjecaj ovisit će o značajkama herbicida.

8. Literatura

1. Adams, R.S. (1973). Factors influencing soil adsorption and bioactivity of pesticides. *Residue Reviews*, 47: 1 - 54
2. Adeleye, I.A., Okorodudu, E., Lawal, O. (2004). Effect of herbicides used in Nigeria on *Rhizobium phaseoli*, *Azotobacter vinelandii* and *Bacillus subtilis*. *J. Environ. Biol.*, 25: 151-156
3. Adelowo, F.E., Olu - Arotiowa, O.A., Amuda, O.S. (2014). Biodegradation of Glyphosate by Fungi Species. *Advances in Bioscience and Bioengineering*, 2(1): 104 - 118
4. Aïkpo, F.H., Ahouansè, M.D.S., Agbandji, L., Edorh, P.A., Houssou, C.S. (2017). Assessment of contamination of soil by pesticides in Djidja's cotton area in Benin. *International Journal of Advanced Engineering Research and Science*, 4(7): 1 - 7
5. Albers, C.N., Banta, G.T., Hansen, P.E., Jacobsen, O.S. (2009). The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil – Comparing different soils and humic substances. *Environmental Pollution*, 157(10): 2865–2870
6. Armstrong, D.E., Konrad, J.G. (1974). *Nonbiological Degradation of Pesticides*. ACSESS Publications, 123 - 131
7. Bailey, G.W., White, J.L. (1970). Factors influencing the adsorption, desorption, and movement of pesticides in soil. *Single Pesticide Volume: The Triazine Herbicides*. *Residue Reviews*, 32: 29 - 92
8. Bailey, G.W., White, J.L. (1964). Soil-Pesticide Relationships, Adsorption and Desorption of Organic Pesticides by Soil Colloids, with Implications Concerning Pesticide Bioactivity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 12(4): 324 – 332
9. Baldi, I., Calf, G.M., Blair, A., Egeghy, P.P., Forastiere, F., Martin, M.T. i sur., (2017). Some organophosphate insecticides and herbicides, IARC monographs on the evaluation of cancerogenic risk to humans. International Agency for Research on Cancer. Lyon. Francuska
10. Barceló, D., Hennion, M. C. (1997). Trace Determination of Pesticides and Their Degradation Products in Water. U: *Techniques in analytical chemistry*, (ur. Hennion M. C.), Elsevier, Amsterdam, 3.
11. Barić, K., Ostojić, Z. (2021). Herbicidi. U: *Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2021. godinu*, Glasilo biljne zaštite, Vol. XXI, 1-2: 231-302
12. Barnes, D. Seefeldt, S. (2009). Attenuation and Effectiveness of Triclopyr and 2,4-D Along Alaska Highway Rights-of-Way in a Continental and a Coastal Subarctic Environment. *završno izvješće*
13. Bažok, R., Ivić, D., Cvjetković, B., Barić, K., Ostojić, Z. (2021). Glasilo biljne zaštite Vol. XXI, 1-2
14. Bedmar, F., Daniel, P.E., Costa, J.L., Giménez, D. (2011). Sorption of acetochlor, S-metolachlor, and atrazine in surface and subsurface soil horizons of Argentina. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(9): 1990 – 1996

15. Benoit, P., Barriuso, E., Houot, S., Calvet, R. (1996). Influence of the nature of soil organic matter on the sorption-desorption of 4-chlorophenol, 2,4-dichlorophenol and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *European Journal of Soil Science*, 47(4): 567 – 578
16. Bento, C.P.M., Yang, X., Gort, G., Xue, S., van Dam, R., Zomer, P., Geissen, V. (2016). Persistence of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in loess soil under different combinations of temperature, soil moisture and light/darkness. *Science of The Total Environment*, 572: 301 – 311
17. Bolan, N.S., Baskaran, S. (1996). Characteristics of earthworm casts affecting herbicide sorption and movement. *Biol Fertil Soils*, 22: 367–372
18. Bondada, B.R., (2011). Micromorpho-anatomical examination of 2,4-D phytotoxicity in grapevine (*Vitis vinifera* L.) leaves. *J. Plant Growth Regul*, 30: 185 – 198
19. Borggaard, O.K., Gimsing, A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters: a review. *Pest Management Science*, 64 (4): 441 – 456
20. Bošnjir, J., Čulig, J. (2005). *Metali i polumetali u okolišu. Zdravstveno veleučilište, Zagreb*
21. Braschi, I., Gessa, C.E., Blasioli, S. (2011). The Fate of Herbicides in Soil. U: *Herbicides and Environment*, (ur. Kortekamp A.), IntechOpen, (preuzeto s: <https://www.intechopen.com/books/herbicides-and-environment/the-fate-of-herbicides-in-soil>, 8.9.2021.)
22. Carter, A.D. (2000). Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes. *Weed Research*, 40(1): 113–122
23. Chang, X., Liang, J., Sun, Y., Zhao, L., Zhou, B., Li, X., Li, Y. (2020) Isolation, Degradation Performance and Field Application of the Metolachlor-Degrading Fungus *Penicillium oxalicum* MET-F-1. *Applied Sciences*, 10(23): 8556
24. Chowdhury, A., Pradhan, S., Saha, M., Sanyal, N. (2008) Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. *Indian Journal of Microbiology*, 48(1): 114 – 127
25. Contardo-Jara, V., Klingelmann, E., Wiegand, C. (2009). Bioaccumulation of glyphosate and its formulation Roundup Ultra in *Lumbriculus variegatus* and its effects on biotransformation and antioxidant enzymes. *Environmental Pollution*, 157(1): 57 – 63
26. Correia, F.V., Moreira, J.C. (2010). Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia foetida*) in Laboratory Tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85(3): 264 – 268
27. Costa, L.G., Aschner, M. (2014). Toxicology of Pesticides, Reference Module in Biomedical Research, 3: 1 - 9
28. Crafts, A., Yamaguchi, S. (1960). Absorption of Herbicides by Roots. *American Journal of Botany*, 47(4): 248 - 255

29. Crisanto, T., Sánchez - Camazano, M., Arienzo, M., Sánchez - Martín, M. (1995). Adsorption and mobility of metolachlor in surface horizons of soils with low organic matter content. *Science of The Total Environment*, 166(1-3): 69 – 76
30. de Castro Marcato, A.C., de Souza, C.P., Fontanetti, C.S. (2017). Herbicide 2,4-D: A Review of Toxicity on Non-Target Organisms. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228(3): 120
31. de Jonge, H., de Jonge, L.W., Jacobsen, O.H., Yamaguchi, T., Moldrup, P. (2001). Glyphosate Sorption in Soils of Different pH and Phosphorus Content. *Soil Science*, 166(4): 230 – 238
32. Dill, G.M. (2005). Glyphosate-resistant crops: history, status and future. *Pest Management Science*, 61(3): 219 – 224
33. Ding, G., Novak, J.M., Herbert, S., Xing, B. (2002). Long-term tillage effects on soil metolachlor sorption and desorption behavior. *Chemosphere*, 48(9): 897 – 904
34. Dixon, G., Stoller, E. (1982). Differential Toxicity, Absorption, Translocation, and Metabolism of Metolachlor in Corn (*Zea mays*) and Yellow Nutsedge (*Cyperus esculentus*). *Weed Science*, 30(3): 225 - 230
35. Dolić, N. (2015). Metalurgija aluminija. interna skripta. Metalurški fakultet, Sveučilište u Zagrebu
36. Đurović-Pejčev, R. (2011). Procesi koji određuju sudbinu pesticida u zemljištu. *Pesticide and Phytomedicine*, 26: 9 - 22
37. Europska komisija. (2021). EU Pesticides Database. dostupno na: https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/eu-pesticides-database_hr, pristupljeno: 1.6.2021.
38. Farenhorst, A., Saiyed, I.M., Goh, T.B., McQueen, P. (2010). The important characteristics of soil organic matter affecting 2,4-dichlorophenoxyacetic acid sorption along a catenary sequence. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 45(3): 204 – 213
39. Fernandez, J.V., Otero, D.C., MacDonald, G.E., Ferrell, J.A., Sellers, B.A., Wilson, P.C. (2019). Field dissipation of S-metolachlor in organic and mineral soils used for sugarcane production in Florida. *Weed Technol*, 34(3): 362 - 370
40. Flores, F.M., Torres Sánchez, R.M., dos Santos Afonso, M. (2018). Some aspects of the adsorption of glyphosate and its degradation products on montmorillonite. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(18): 138 – 146
41. Gimsing, A.L., Borggaard, O.K. (2002). Effect of Phosphate on the Adsorption of Glyphosate on Soils, Clay Minerals and Oxides. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 82(8-9): 545 – 552
42. Gimsing, A.L., Borggaard, O.K. (2007). Phosphate and glyphosate adsorption by hematite and ferrihydrite and comparison with other variable-charge minerals. *Clays and Clay Minerals*, 55(1): 108 – 114
43. Gish, T.J., Williams, J., Prueger, J.H., Kustas, W., McKee, L.G., Russ, A. (2011). Pesticide Movement. *Soil Management: Building a Stable Base for Agriculture*, 183 - 198

44. Gložinić, K. (2017). Utjecaj meliorativne gnojidbe na fizikalna i kemijska svojstva tla. završni rad. Međimursko veleučilište u Čakovcu, Čakovec
45. Goyne, K.W., Chorover, J., Zimmerman, A.R., Komarneni, S., Brantley, S.L. (2004). Influence of mesoporosity on the sorption of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid onto alumina and silica. *Journal of Colloid and Interface Science*, 272(1): 10 – 20
46. Hameed, B.H., Salman, J.M., Ahmad, A.L. (2009). Adsorption isotherm and kinetic modeling of 2,4-D pesticide on activated carbon derived from date stones. *Journal of Hazardous Materials*, 163(1): 121 – 126
47. Hattab, S., Boughattas, I., Boussetta, H., Viarengo, A., Banni, M., Sforzini, S. (2015). Transcriptional expression levels and biochemical markers of oxidative stress in the earthworm *Eisenia andrei* after exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 122: 76 – 82
48. Heinonen-Tanski, H. (1989). The effect of temperature and liming on the degradation of glyphosate in two arctic forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 21(2): 313 – 317
49. Helling, C. S. (2005). The science of soil residual herbicides. U: *Soil Residual Herbicides: Science and Management*, (ur. Van Acker, R. C.), Topics in Canadian Weed Science, Canadian Weed Science Society, 3: 3-22
50. Henderson, K.L., Belden, J.B., Coats, J.R. (2007). Mass Balance of Metolachlor in a Grassed Phytoremediation System. *Environmental Science & Technology*, 41(11): 4084 – 4089
51. Hermosin, M. C., Cornejo, J. (1993). Binding Mechanism of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid by Organo-Clays. *Journal of Environment Quality*, 22(2): 325
52. Holtan, H., Kamp-Nielsen, L., Stuanes, A.O. (1988). Phosphorus in soil, water and sediment: an overview. *Hydrobiologia*, 170(1): 19 – 34
53. Hristeva, T., Yanev, M., Bozukov, H., Kalinova, S. (2015). Condition of Soil Microbial Communities When Exposed to Some Chloroacetamide Herbicides. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(4): 730 - 735
54. Hrvatska enciklopedija. Leksikografski zavod Miroslav Krleža (2021). Herbicidi 2021. dostupno na: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=25093> , pristupljeno: 8.6.2021.
55. Islam, F., Wang, J., Farooq, M.A., Khan, M.S.S., Xu, L., Zhu, J. Zhou, W. i sur. (2018). Potential impact of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on human and ecosystems. *Environment International*, 111: 332 – 351
56. Johal, G.S., Huber, D.M. (2009). Glyphosate effects on diseases of plants. *European Journal of Agronomy*, 31(3): 144 – 152
57. Joshi, N, Gupta, D. (2008). Soil microflora responses following the exposure to 2, 4-D. *J Environ Biol.*, 29(2): 211 - 214
58. Kah, M., Brown, C.D. (2007). Prediction of the Adsorption of Ionizable Pesticides in Soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6): 2312 – 2322

59. Katagi, T. (2010). Bioconcentration, Bioaccumulation, and Metabolism of Pesticides in Aquatic Organisms. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 204: 1 - 132
60. Katagi, T., Ose, K., (2015). Toxicity, bioaccumulation and metabolism of pesticides in the earthworm. *Journal of Pesticide Science*, 40(3): 69 - 81
61. Kjær, J., Ernsten, V., Jacobsen, O.H., Hansen, N., de Jonge, L.W., Olsen, P. (2011). Transport modes and pathways of the strongly sorbing pesticides glyphosate and pendimethalin through structured drained soils. *Chemosphere*, 84(4): 471 – 479
62. Kozak, J., Weber, J.B., Sheets, T.J. (1983). Adsorption of Prometryn and Metolachlor by Selected Soil Organic Matter Fractions, *Soil Science*, 136(2): 94 - 101
63. Kördel, W., Egli, H., Klein, M. (2008). Transport of pesticides via macropores (IUPAC technical report). *Pure and Applied Chemistry*, 80(1): 105 - 160
64. Kreuz, K., Tommasini, R., Martinoia, E., (1996). Old Enzymes for a New Job (Herbicide Detoxification in Plants). *Plant physiology*, 111: 349 - 353
65. Laitinen, P. (2009). Fate of the organophosphate herbicide glyphosate in arable soils and its relationship to soil phosphorus status. doktorska disertacija. Faculty of Natural and Environmental Sciences. University of Kuopio
66. Laitinen, P., Rämö, S., Nikunen, U., Jauhiainen, L., Siimes, K., Turtola, E. (2009). Glyphosate and phosphorus leaching and residues in boreal sandy soil. *Plant and Soil*, 323(1-2): 267 – 283
67. Laitinen, P., Rämö, S., Siimes, K. (2007). Glyphosate translocation from plants to soil – does this constitute a significant proportion of residues in soil? *Plant and Soil*, 300(1-2): 51 – 60
68. Laitinen, P., Siimes, K., Rämö, S., Jauhiainen, L., Eronen, L., Oinonen, S., Hartikainen, H. (2008). Effects of soil phosphorus status on environmental risk assessment of glyphosate and glufosinate-ammonium. *J Environ Qual*. 2, 37(3): 830 - 838
69. Lazurick, C., Lidzbarski, N., Owings, R., Brotherton, J., Steele, E. (2017). Investigating the Toxicity and Accumulation of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) and Glyphosate in *Eisenia fetida*. *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15(2): 22 - 24
70. Lescano, M.R., Masin, C.E., Rodríguez, A.R., Godoy, J.L., Zalazar, C.S. (2020). Earthworms to improve glyphosate degradation in biobeds. *Environ Sci Pollut Res Int.*, 27(21): 23 - 31
71. Lewis, K.A., Tzilivakis, J., Warner, D., Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 22 (4): 1050-1064
72. Li, D., Gao, Q., Xu, L., Pang, S., Liu, Z., Wang, C., Tan, W. (2017). Characterization of glutathione S -transferases in the detoxification of metolachlor in two maize cultivars of differing herbicide tolerance. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 143: 265 – 271

73. Liu, W., Gan, J., Yates, S.R. (2002). Influence of Herbicide Structure, Clay Acidity, and Humic Acid Coating on Acetanilide Herbicide Adsorption on Homoionic Clays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14): 4003 – 4008
74. Liu, K., He, Y., Xu, S., Hu, L., Luo, K., Liu, X., Bai, L. i sur. (2018). Mechanism of the effect of pH and biochar on the phytotoxicity of the weak acid herbicides imazethapyr and 2,4-D in soil to rice (*Oryza sativa*) and estimation by chemical methods. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 161: 602 – 609
75. Lo, C.C. (2010). Effect of pesticides on soil microbial community, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 45(5): 348-359
76. Long, Y., Li, R., Wu, X. (2014). Degradation of S-metolachlor in soil as affected by environmental factors. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(1): 189 - 198
77. Mallawatantri, A.P., McConkey, B.G., Mulla, D.J. (1996). Characterization of Pesticide Sorption and Degradation in Macropore Linings and Soil Horizons of Thatuna Silt Loam. *Journal of Environment Quality*, 25(2): 227 - 235
78. Maltseva, O., McGowan, C., Fulthorpe, R., Oriel, P., (1996). Degradation of 2,4 - dichlorophenoxyacetic acid by haloalkaliphilic bacteria, *Microbiology*, 142: 1115 - 1122
79. Martins, P.F., Martinez, C.O., Carvalho, G. de Carneiro, P.I.B., Azevedo, R.A., Pileggi, S.A.V., Pileggi, M. i sur. (2007). Selection of microorganisms degrading S-Metolachlor herbicide. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50(1): 153 – 159
80. McConnell, J.S., Hossner, L.R. (1985). pH-Dependent adsorption isotherms of glyphosate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(6): 1075 – 1078
81. Mon, E.E., Hirata, T., Kawamoto, K., Hiradate, S., Komatsu, T. (2009). Adsorption of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid onto Volcanic Ash Soils: Effects of pH and Soil Organic Matter. *Environment Asia*, 1: 1 - 9
82. Muskus, A.M., Krauss, M., Miltner, A., Hamer, U., Nowak, K.M. (2020). Degradation of glyphosate in a Colombian soil is influenced by temperature, total organic carbon content and pH, *Environmental Pollution*, 259: 113767
83. Müller, K., Magesan, G.N., Bolan, N.S. (2007). A critical review of the influence of effluent irrigation on the fate of pesticides in soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 120(2-4): 93 – 116
84. Müller, K., Trolove, M., James, T. K., Rahman, A. (2004). Herbicide loss in runoff: effects of herbicide properties, slope, and rainfall intensity. *Australian Journal of Soil Research*, 42(1): 17-27
85. Narodne novine. (2019). Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja, NN 71 / 2019
86. Narodne novine. (2020). Zakon o održivoj uporabi pesticida. NN 14 / 14, 115 / 18, 32 / 20
87. Navarro, S., Vela, N., Navarro, G. (2007). Review. An overview on the environmental behaviour of pesticide residues in soils. *Spanish journal of agricultural research*, 3: 357 - 375

88. Nennemann, A., Mishaël, Y., Nir, S., Rubin, B., Polubesova, T., Bergaya, F. Lagaly, G. i sur. (2001). Clay-based formulations of metolachlor with reduced leaching. *Applied Clay Science*, 18(5-6): 265 – 275
89. Novak, S.M., Banton, O., Schiavon, M. (2003). Modelling metolachlor exports in subsurface drainage water from two structured soils under maize (eastern France). *Journal of Hydrology*, 270(3-4): 295 – 308
90. Novak, S., Portal, J.M., Schiavon, M. (2001). Effects of soil type upon metolachlor losses in subsurface drainage. *Chemosphere*, 42(3): 235 – 244
91. Okada, E., Costa, J.L., Bedmar, F. (2017). Glyphosate Dissipation in Different Soils under No-Till and Conventional Tillage. *Pedosphere.*, 29(6): 773 – 783
92. Ololade, I.A., Oladoja, N.A., Oloye, F.F., Alomaja, F., Akerele, D.D., Iwaye, J., Aikpokpodion, P. (2014). Sorption of Glyphosate on Soil Components: The Roles of Metal Oxides and Organic Materials. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 23(5): 571 – 585
93. Orcelli, T., di Mauro, E., Urbano, A., Valezi, D.F., da Costa, A.C.S., Zaia, C.T.B.V., Zaia, D.A.M. (2018). Study of Interaction Between Glyphosate and Goethite Using Several Methodologies: an Environmental Perspective. *Water, Air, & Soil Pollution*, 229(5): 150
94. Ostojić, Z. (1989). Herbicidi i tlo. U: Studija o jedinstvenim kriterijima zagađivača voda, vazduha i tla na području SAP Vojvodine i potrebne hitne mere zaštite na mestima sa najvažnijim zagađivačima, 319 - 332
95. Pereira, R.C., Anizelli P.R., Di Mauro E., Valezi D.F., da Costa A.C.S., Zaia C.T.B.V., Zaia D.A.M. (2019). The effect of pH and ionic strength on the adsorption of glyphosate onto ferrihydrite. *Geochemical Transactions*, 20(1): 1 - 14
96. Peterson, R.K., Hulting, A.G. (2004). A comparative ecological risk assessment for herbicides used on spring wheat: the effect of glyphosate when used within a glyphosate - tolerant wheat system. *Weed Sci.*, 52: 834–844
97. Picton, P., Farenhorst, A. (2004). Factors Influencing 2,4-D Sorption and Mineralization in Soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 39(3): 367 – 379
98. Pintar, A. (2020). Biotest metoda utvrđivanja rezidua mezotriona u tlima različitih fizikalno - kemijskih značajki, doktorski rad, Agronomski fakultet, Sveučilište u Zagrebu
99. Pintar, A., Barić K. (2018). Gubitak herbicida u tlu ovisno o svojstvima tla. *Gospodarski list*, 177(9): 23-25
100. Pivetz, B.E., Steenhuis, T.S. (1995). Soil Matrix and Macropore Biodegradation of 2,4-D. *Journal of Environment Quality*, 24(4): 564
101. Prado, B., Strozzi, A.G., Huerta, E., Duwig, C., Zamora, O., Delmas, P., Márquez, J. i sur. (2016). 2,4-D mobility in clay soils: Impact of macrofauna abundance on soil porosity. *Geoderma*, 279: 87 – 96

102. Rampazzo, N., Rampazzo Todorovic, G., Mentler, A., Blum, W.E.H. (2013). Adsorption of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in soils. *International Agrophysics*, 27(2): 203 – 209
103. Reinhardt, C.F., Nel, P.C. (1989). Importance of selected soil properties on the bioactivity of alachlor and metolachlor. *South African Journal of Plant and Soil*, 6(2): 120 – 123
104. Rice, P.J., Anderson, T.A., Coats, J.R. (2002). Degradation and persistence of metolachlor in soil: Effects of concentration, soil moisture, soil depth, and sterilization. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(12): 2640 – 2648
105. Robles-González, I., Ríos-Leal, E., Ferrera-Cerrato, R., Esparza-García, F., Rinderknecht - Seijas, N., Poggi - Valardo, H.M. (2006). Bioremediation of a mineral soil with high contents of clay and organic matter contaminated with herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid using slurry bioreactors: Effect of electron acceptor and supplementation with an organic carbon source. *Process Biochemistry*, 41(9): 1951 – 1960
106. Rose, T.M., Cavagnaro, T.R., Scablan, C.A., Rose, T.J., Vancov, T., Kimber, S., Kennedy, T.R., Kookana, R.S., Van Zwieten, L. (2016). Impact of Herbicides on Soil Biology and Function, *Advances in Agronomy*, 136: 133 - 220
107. Rueppel, M.L., Brightwell, B.B., Schaefer, J., Marvel, J.T. (1977). Metabolism and degradation of glyphosate in soil and water. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(3): 517 – 528
108. Sanchez-Camazano, M., Sanchez-Martin, M.J. (1996). Interaction of metamitron and metolachlor with organic and inorganic smectites. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 56(1-4): 11 – 21
109. Sanyal, D. Kulshrestha, G. (2002), Metabolism of Metolachlor by Fungal Cultures. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 499–505
110. Saxena, A., Zhang, R.W., Bollag, J.M. (1987). Microorganisms capable of metabolizing the herbicide metolachlor. *Appl Environ Microbiol.*, 53(2): 390-396
111. Senesi, N. (1992). Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of The Total Environment*, 123/124: 63 – 76
112. Shaner, D.L., Brunk, G., Belles, D., Westra, P., Nissen, S. (2006). Soil dissipation and biological activity of metolachlor and S-metolachlor in five soils. *Pest Management Science*, 62(7): 617 – 623
113. Sharifi, Y., Pourbabaee, A., Javadi, A., Abdolmohammadi, M.H., Saffari, M., Morovvati, A., Abbas, M. (2015). Biodegradation of glyphosate herbicide by *Salinicoccus* spp isolated from Qom Hoze-soltan lake, Iran. *Environmental Health Engineering and Management*, 2(1): 31 - 36
114. Shirvani, M., Farajollahi, E., Bakhtiari, S., Ogunseitan, O.A. (2014). Mobility and efficacy of 2,4-D herbicide from slow-release delivery systems based on organo-zeolite and organo-bentonite complexes. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 49(4): 255 – 262

115. Si, Y., Takagi, K., Iwasaki, A., Zhou, D. (2009). Adsorption, desorption and dissipation of metolachlor in surface and subsurface soils. *Pest Management Science*, 65(9): 956 – 962
116. Singh, D.K. (2008). Biodegradation and bioremediation of pesticide in soil: concept, method and recent developments. *Indian Journal of Microbiology*, 48(1): 35 – 40
117. Singh, S., Kumar, V., Datta, S., Wani, A.B., Dhanjal, D.S., Romero, R., Singh, J. (2020). Glyphosate uptake, translocation, resistance emergence in crops, analytical monitoring, toxicity and degradation: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 18: 663 – 702
118. Singh, S., Kumar, V., Kaur Sidhu, G., Singh, J. (2019). Kinetic study of the biodegradation of glyphosate by indigenous soil bacterial isolates in presence of humic acid, Fe(III) and Cu(II) ions. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7: 103098
119. Singh, B., Singh, K. (2016). Microbial degradation of herbicides. *Critical review in microbiology*, 42(2): 245-261
120. Singh, N., Singh, B., Dureja, P., Sethunathan, N. (2003). Persistence of phorate in soils: Role of moisture, temperature, preexposure and microorganisms. *Journal of Environmental Science & Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 38: 723-736
121. Sinha, R., Valani, D., Sinha, S., Singh, S., Herat, S. (2010). *Bioremediation of Contaminated Sites: A Low-Cost Nature's Biotechnology for Environmental Clean Up by Versatile Microbes, Plants & Earthworms*. Solid Waste Management and Environmental Remediation. ISBN: 978-1-60741-761-3
122. Spadotto, C. Hornsby, A. (2003). Organic Compounds in the Environment Soil Sorption of Acidic Pesticides: Modeling pH Effects. *Journal of Environmental Quality*, 32: 949–956
123. Sprankle, P., Meggitt, W., Penner, D. (1975^a). Adsorption, Mobility, and Microbial Degradation of Glyphosate in the Soil. *Weed Science*, 23(3): 229 - 234
124. Sprankle, P., Meggitt, W., Penner, D. (1975^b). Rapid Inactivation of Glyphosate in the Soil. *Weed Science*, 23(3): 224 - 228
125. Sraka, M. (2003). *Fizika tla, autorizirana predavanja*. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za pedologiju, Zagreb.
126. Sun, Y., Zhao, L., Li, X., Hao, Y., Xu, H., Weng, L., Li, Y. (2019^b). Stimulation of earthworms (*Eisenia fetida*) on soil microbial communities to promote metolachlor degradation. *Environmental Pollution*, 248: 219 - 228
127. Sun, Y., Zhao, L., Li, X., Xu, H., Weng, L., Yang, L., Li, Y. (2019^a). Response of soil bacterial and fungal community structure succession to earthworm addition for bioremediation of metolachlor. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189: 109926
128. Székács, A., Darvas, B. (2012). Forty years with glyphosate. In: *Herbicides – Properties, Synthesis and Control of Weeds* (Hasaneen, M. N. A. E.-G., Ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 247 - 284

129. Škorić, A. (1991). Sastav i svojstva tla. Fakultet poljoprivrednih znanosti Sveučilišta u Zagrebu, 130-140
130. Tevez, H., Dos Santos Afonso, M. (2015). pH dependence of Glyphosate adsorption on soil horizons. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 67(3): 509 - 516
131. Todorovic, G.R., Rampazzo, N., Mentler, A., Blum, W.E.H., Eder, A., Strauss, P. (2014). Influence of soil tillage and erosion on the dispersion of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in agricultural soils. *International Agrophysics*, 28(1): 93 – 100
132. Torra, J., Rojano-Delgado, A.M., Rey-Caballero, J., Royo-Esnal, A., Salas, M.L., De Prado, R. (2017). Enhanced 2,4-D Metabolism in Two Resistant *Papaver rhoeas* Populations from Spain. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1584
133. Tu, M., Hurd, C., Randall, J.M. (2001). *Weed Control Methods Handbook*, The Nature Conservancy, dostupno na: <http://tncweeds.ucdavis.edu> . pristupljeno: 22.4.2021.
134. University of Hertfordshire. (2016). *Agricultural Substance Database Background and Support Information*. dostupno na: https://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/docs/Background_and_Support.pdf. pristupljeno: 20.4.2021.
135. Valavanidis, A. (2018). Glyphosate, the Most Widely Used Herbicide. Health and safety issues. Why scientists differ in their evaluation of its adverse health effects. dostupno na: <http://chem-tox-ecotox.org/ScientificReviews/>, pristupljeno: 30.4.2021.
136. Watson, J., Posner, A., Quirk, J. (2006). Adsorption of the herbicide 2,4-D on Goethite. *Journal of Soil Science*, 24: 503 - 511
137. Werner, D., Garratt, J.A., Pigott, G. (2012). Sorption of 2,4-D and other phenoxy herbicides to soil, organic matter, and minerals. *Journal of Soils and Sediments*, 13(1): 129–139
138. Westra, E.P., Shaner, D.L., Westra, P.H., Chapman, P.L. (2014). Dissipation and Leaching of Pyroxasulfone and S-Metolachlor. *Weed Technology*, 28(01): 72 – 81
139. Worrall, F., Parker, A., Rae, J.E., Johnson, A.C. (1997). The role of earthworm burrows in pesticide transport from ploughlands. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 61(1-4): 211 – 222
140. Wu, X.M., Li, M., Long, Y.H., Liu, R.X., Yu, Y.L., Fang, H., Li, S.N. (2010). Effects of adsorption on degradation and bioavailability of metolachlor in soil. *Journal of soil science and plant nutrition*, 11: 83 - 97
141. Xie, F., Liu, H.J., Cai, W.D. (2010). Enantioselectivity of racemic metolachlor and S-metolachlor in maize seedlings. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 45(8): 774 – 782
142. Xu, D., Wen, Y., Wang, K. (2010). Effect of chiral differences of metolachlor and its (S)-isomer on their toxicity to earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(8): 1925 – 1931

143. Yang, X., Lwanga, E.H., Bemani, A., Gertsen, H., Salanki, T., Guo, X., Geissen, V. i suradnici. (2018). Biogenic transport of glyphosate in the presence of LDPE microplastics: A mesocosm experiment. *Environmental Pollution*. 245: 829 – 835
144. Yasmin, S., D'Souza, D. (2010). Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review, *Applied and Environmental Soil Science*, 2010: 1 - 9
145. Yu, Y.W., Wu, X.M., Li, S.N., Fang, H., Zhan, H.Y., Yu, J.Q. (2006). An exploration of the relationship between adsorption and bioavailability of pesticides in soil to earthworm. *Environmental Pollution*. 141: 428 - 433
146. Zemolin, C.R., Cassol, G.V., Massey, J.H., Camargo, E.R. (2014). Environmental Fate of S - Metolachlor - A Review. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, 32(3): 655-664

Popis korištenih izvora - poveznica:

Kemijska struktura glifosata

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3496#section=2D-Structure> - pristupljeno 5.6.2021.

Kemijska struktura s-metolaklora

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/S-Metolachlor#section=2D-Structure> - pristupljeno 5.6.2021.

Kemijska struktura 2,4-D

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1486#section=2D-Structure> - pristupljeno 5.6.2021.

9. Životopis

Matea Pavlović rođena je 12.10.1996. u Zagrebu gdje završava osnovnu i srednju školu. Nakon osnovne škole obrazovanje nastavlja na Zdravstvenom učilištu, usmjerenje sanitarni tehničar, gdje radi odličnog uspjeha tijekom školovanja dobiva stipendiju Grada Zagreba. Po završetku srednje škole upisuje Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, preddiplomski stručni studij sanitarno inženjerstvo. Tijekom preddiplomskog školovanja dobiva tri Dekanove nagrade (kao najuspješnija studentica prve i druge godine stručnog studija, te kao najuspješnija studentica čitave generacije Sanitarnog inženjerstva) i dvije STEM stipendije radi odličnog uspjeha. Na zadnjoj godini preddiplomskog stručnog studija aktivno je sudjelovala na Konferenciji Global Nursing and Healthcare gdje je izlagala svoj rad u obliku e - postera pod nazivom Laboratorijski uzgojeno meso - ekološki i javnozdravstveni značaj. Nakon završenog preddiplomskog studija upisuje diplomski studij Agroekologija – usmjerenje Agroekologija na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. U akademskoj godini 2020. / 2021. dobitnica je Nagrade za marljivost i ostvarenje uzornih rezultata. Posjeduje komunikacijske vještine koje je stekla obavljanjem studentskih poslova i stručne prakse. Poznaje osnovne rada na računalu (Microsoft Office i QGIS) i koristi se engleskim i latinskim jezikom.