



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Mr Amer Sunulahpašić

**SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA
U ZEMLJIŠTU**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Banja Luka, 2022. god.



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA

ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Mr Amer Sunulahpašić

**SORPTION AND DEGRADATION
OF NICOSULFURON IN SOIL**

DOCTORAL DISSERTATION

Banja Luka, 2022.

Komisija za pregled, ocjenu i odbranu doktorske disertacije mr Amera Sunulahpašića pod naslovom: "Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu":

Prof. dr Siniša Mitrić- predsjednik

-vanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, na užoj naučnoj oblasti Zaštita zdravlja biljaka i agroekologija-

Prof. dr Slavica Vuković- mentor

-vanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, na užoj naučnoj oblasti: Fitofarmacija-

Prof. dr Mirjana Žabić- član

-redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, na užoj naučnoj oblasti: Biohemija i molekularna biologija-

Prof. dr Dragana Šunjka- član

-vanredni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, na užoj naučnoj oblasti: Fitofarmacija-

Prof. dr Saud Hamidović- član

-vanredni profesor Poljoprivredno-prehrambenog fakulteta Univerziteta u Sarajevu, na užoj naučnoj oblasti: Mikrobiologija u poljoprivredi i prehrambenoj tehnologiji

INFORMACIJE O MENTORU I DESERTACIJI

Mentor: Prof. dr Slavica Vuković, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, na užoj naučnoj oblasti FITOFARMACIJA

Naslov doktorske disertacije: Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu

Rezime

Adsorpcija nikosulfurona u stanju ravnoteže, tj. masa adsorbovanog nikosulfurona statistički visoko značajno zavisi, kako od tipa zemljišta, tako i početne koncentracije herbicida, a analogno tome to vrijedi i za koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži. Pokazatelji konstanti Freundlich-ove adsorpcione izoterme za adsorpciju nikosulfurona u istraživanim zemljištima su značajno varirali, zavisno od karakteristika zemljišta. Tako je vrijednost K_f varirala od 0,027 do 7,388 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{mL}^{1/n} / \text{g}$. Vrijednost $1/n$ je bila u intervalu od 0,291 do 1,927. Koeficijent distribucije se kretao u intervalu 0,41 do 2,81 mL/g. Srednja vrijednost procenta adsorbovanog nikosulfurona u zavisnosti od koncentracije i tipa zemljišta, se kretala od 15,75 do 53,08%.

Sadržaj pijeska, praha i gline statistički značajno utiče na adsorpciju nikosulfurona. Adsorpcija nikosulfurona se povećava sa povećanjem sadržaja praha i gline u zemljištu, a smanjuje sa povećanjem sadržaja pijeska u zemljištu. Korelaciona zavisnost između sadržaja pijeska (%) i vrijednosti $\log K_f$ je negativna i visoko statistički značajna. Sadržaj čestica pijeska u zemljištu značajno utiče i na konstantu $1/n$. Koeficijent distribucije (K_d) nikosulfurona u zemljištu je u statistički značajnoj negativnoj korelativnoj vezi sa sadržajem čestica pijeska u zemljištu. Procenat adsorbovanog nikosulfurona na čestice zemljišta je u statistički visokoznačajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem pijeska. Koeficijent distribucije (K_d) nikosulfurona u zemljištu je u jakom i statistički značajnom pozitivnom korelacionom odnosu sa sadržajem gline u tom zemljištu.

Degradacija nikosulfurona zavisi od početne količine herbicida, vremena koje protekne od aplikacije herbicida. Vrijeme polurazgradnje (DT_{50}) bilo je najveće u zemljištu sa lokaliteta Kosjerevo ($DT_{50}=43,31$ dan), u zemljištu sa lokaliteta Manjača DT_{50} je 16,13 dana u prosjeku, dok je najkraće vrijeme polurazgradnje u uzorku zemljišta sa lokaliteta Tunjice i iznosi 9,43 dana.

Rezultati zastupljenosti mikroorganizama u uzorcima zemljišta pokazali su različitu brojnost sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama. Brojnost je zavisila od tipa analiziranog zemljišta, grupe mikroorganizama i koncentracije nikosulfurona. U većini uzoraka zastupljenost mikroorganizama u zemljištu bila najveća u kontroli u poređenju sa tretmanima gdje je primijenjen nikosulfuron. Zastupljenost ukupnog broja bakterija je nakon primjene nikosulfurona redukovana do 77% na lokaciji Manjača, do 74% na lokaciji Tunjice i do 80% na lokaciji Kosjerevo. Ukupni amonifikatori su pokazali izrazitu osjetljivost prema primjeni nikosulfurona: na lokaciji Manjača, stepen redukcije ove grupe mikroorganizama iznosio je do 85%, na lokaciji Tunjice do 89% i na lokaciji Kosjerevo do 87%. Mikrobni diverzitet bio je najizraženiji na lokaciji Tunjice, gdje je pH vrijednost bila najoptimalnija. Broj mikroorganizama se uglavnom smanjivao sa povećanjem koncentracije nikosulfurona u ispitivanim uzorcima zemljišta. Iz ispitivanih uzoraka izolovano je 10 bakterijskih i 6 izolata gljiva tolerantnih na prisustvo nikosulfurona. Identifikacija najrezistentnijih izolata pokazala je da oni pripadaju rodovima *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Penicillium*.

Ključne riječi: nikosulfuron, sorpcija, degradacija, zemljište

Naučna oblast: Poljoprivredne nauke

Naučno polje: Poljoprivredne biljne nauke

Klasifikaciona oznaka za naučnu oblast prema CERIF šifrniku: B006; B390; B410

Tip odabrane licence Kreativne zajednice: Autorstvo- nekomercijalno- dijeliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)

INFORMATION ABOUT MENTOR AND DOCTORAL THESIS

Mentor: Prof. dr Slavica Vuković, full time professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad, scientific field of PHYTOPHARMACY

Title of doctoral dissertation: Sorption and degradation of nicosulfuron in soil

Abstract

Adsorption of nicosulfuron in the equilibrium state, i.e. the mass of adsorbed nicosulfuron is statistically highly dependent, both on the type of soil and the initial concentration of the herbicide, and the same is true for the concentration of nicosulfuron in the equilibrium solution. Indicators of Freundlich adsorption isotherm constants for nicosulfuron adsorption in the studied soils varied significantly, depending on soil characteristics. Thus, the value of K_f varied from 0.027 to 7.388 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$. The value of $1/n$ was in the interval from 0.291 to 1.927. The distribution coefficient ranged from 0.41 to 2.81 mL/g. The mean value of the percentage of adsorbed nicosulfuron, depending on the concentration and soil type, ranged from 15.75 to 53.08%.

The content of sand, dust and clay has a statistically significant effect on the adsorption of nicosulfuron. Adsorption of nicosulfuron increases with an increase in the content of dust and clay in the soil, and decreases with an increase in the content of sand in the soil. The correlation dependence between the sand content (%) and the value of $\log K_f$ is negative and highly statistically significant. The content of sand particles in the soil also significantly affects the constant $1/n$. The distribution coefficient (K_d) of nicosulfuron in the soil has a statistically significant negative correlation with the content of sand particles in the soil. The percentage of adsorbed nicosulfuron on soil particles has a statistically highly significant negative correlation with the sand content. The distribution coefficient (K_d) of nicosulfuron in the soil has a strong and statistically significant positive correlation with the clay content in that soil.

The degradation of nicosulfuron depends on the initial amount of herbicide, the time that elapses after the application of the herbicide. The half-degradation time (DT_{50}) was the highest in the soil from the Kosjerovo location ($DT_{50}=43.31$ days), in the soil from the Manjača location the DT_{50} is 16.13 days on average, while the shortest half-degradation time is in the soil sample from the Tunjica location and is 9.43 days.

The results of the representation of microorganisms in soil samples showed different numbers of systematic and physiological groups of microorganisms. The abundance depended on the type of soil analyzed, the group of microorganisms and the concentration of nicosulfuron. In most samples, the presence of microorganisms in the soil was the highest in the control compared to the treatments where nicosulfuron was applied. After application of nicosulfuron, the representation of the total number of bacteria was reduced by up to 77% at the Manjača location, up to 74% at the Tunjica location and up to 80% at the Kosjerovo location. Total ammonifiers showed a marked sensitivity to the application of nicosulfuron: at the Manjača location, the degree of reduction of this group of microorganisms was up to 85%, at the Tunjica location up to 89% and at the Kosjerovo location up to 87%. Microbial diversity was most pronounced at the location of Tunjica, where the pH value was the most optimal. The number of microorganisms mainly decreased with increasing concentration of nicosulfuron in the tested soil samples. 10 bacterial and 6 fungal isolates tolerant to the presence of nicosulfuron were isolated from the tested samples. The identification of the most resistant isolates showed that they belong to the genera *Bacillus*, *Pseudomonas* and *Penicillium*.

Key words: nicosulfuron, sorption, degradation, soil

Scientific area: Agricultural science

Scientific field: Poljoprivredne Agricultural plant science

Classification code for the scientific field under CERIF code book: B006; B390; B410

Type of selected licence Creative Commons: Authorship - non-commercial - share under the same conditions (CC BY-NC-SA)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Pesticidi - istorijat primjene i uloga u poljoprivredi	3
2.2. Sudbina pesticida u poljoprivrednom zemljištu	4
2.3. Sorpcija pesticida u zemljištu	6
2.3.1. Sorpcija - definicija i osnovni pojmovi	6
2.3.2. Mehanizmi sorpcije	7
2.3.3. Sorpcijske izoterme	9
2.4. Adsorpcija pesticida u zemljištu	11
2.4.1. Pokazatelji adsorpcije pesticida u zemljištu	11
2.4.2. Faktori koji utiču na sorpciju pesticida u zemljištu	15
2.5. Adsorpcija i desorpcija nikosulfurona u zemljištu	22
2.6. Degradacija pesticida u zemljištu	24
2.6.1. Degradacija pesticida u zemljištu- degradacioni putevi i rezidue	24
2.6.2. Rezidue herbicida iz klase sulfonilurea i tehnike detekcije	25
2.7. Zemljište i uloga mikroorganizama u zemljišnom ekosistemu	27
2.7.1. Zemljište kao životna sredina za mikroorganizme	27
2.7.2. Agrotehničke mjere i mikrobiološka aktivnost zemljišta	30
2.7.3. Primjena pesticida i mikrobni diverzitet zemljišta	33
2.7.4. Faktori koji utiču na efekat pesticida na zemljišne mikroorganizme	37
2.7.5. Primjena nikosulfurona u biljnoj proizvodnji i uticaj na mikrobni diverzitet zemljišta	39
3. RADNA HIPOTEZA	42
4. MATERIJAL I METODE RADA	43
4.1. Karakteristike primjenjenog nikosulfurona	43
4.2. Karakteristike zemljišta korištenog u istraživanju	44
4.3. Metode istraživanja adsorpcije nikosulfurona u zemljištu	44
4.4. Metode istraživanja degradacije nikosulfurona u zemljištu	46
4.5. Uticaj nikosulfurona na mikrobiološke osobine zemljišta	51
4.5.1. Postavka ogleđa za istraživanje djelovanja nikosulfurona na mikrobiološku aktivnost zemljišta	51
4.5.2. Ispitivanje mikrobnog diverziteta zemljišta tretiranog nikosulfuronom	51
4.5.3. Ispitivanje tolerantnosti mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona	54
4.5.4. Morfološka ispitivanja izolata mikroorganizama	55
4.5.5. Identifikacija izolata mikroorganizama	56
4.5.6. Ispitivanje rasta mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije	56

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	58
5.2. Sorpcija nikosulfurona u zemljištu	59
5.2.1. Adsorpcija nikosulfurona u zemljištu u stanju ravnoteže	59
5.2.2. Freundlich-ova adsorpciona izoterma nikosulfurona u zemljištu	61
5.2.3. Koeficijent distribucije i procenat adsorbovanog nikosulfurona u zemljištu.....	63
5.2.4. Procenat adsorbovanog nikosulfurona u zemljištu	64
5.3. Zavisnost adsorpcije nikosulfurona od karakteristika zemljišta	66
5.3.1. Korelacioni i regresioni odnosi između pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i hemijskih osobina zemljišta.....	66
5.3.2. Korelacioni i regresioni odnosi između pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i mehaničkog sastava zemljišta.....	70
5.3.3. Korelacioni odnosi između adsorpcionih pokazatelja međusobno	76
5.4. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu.....	78
5.4.1. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu na lokaliteta Manjača	78
5.4.2. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu na lokaliteta Kosjerevo	82
5.4.3. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice	85
5.5. Mikrobni diverzitet zemljišta	88
5.6. Tolerantnost mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona.....	98
5.7. Rezistencija izolata mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona.....	100
5.8. Identifikacija izolata mikroorganizama tolerantnih i rezistentnih na prisustvo nikosulfurona	101
5.8.1. Identifikacija bakterijskih izolata.....	101
5.8.2. Identifikacija izolata gljive.....	102
5.9. Rast mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije	102
5.9.1. Rast bakterija u prisustvu nikosulfurona kao jedinstvenog izvora ugljenika i energije	102
5.9.2. Rast gljive u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije	104
6. DISKUSIJA	105
6.1. Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu	105
6.2. Mikrobni diverzitet i tolerantnost/rezistentnost mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona	114
7. ZAKLJUČAK.....	121
8. LITERATURA	125
Prilog 1.....	155

1. UVOD

Upotreba agrohemičalija u biljnoj proizvodnji se posljednjih decenija drastično uvećala na svjetskom nivou (Nishimoto, 2019). Bez njihove aplikacije se savremena poljoprivredna proizvodnja ne može zamisliti, a rezultat uvođenja pesticida u proizvodnju je minimiziranje pojave bolesti, štetočina, korova i insekata (Aktar et al., 2009), dok različite vrste đubriva doprinose obezbjeđenju visokih i stabilnih prinosa (Schutz et al., 2018). Međutim, u savremenoj biljnoj proizvodnji, široka i nekontrolisana primjena agrohemičalija može dovesti do nesagledivih i neželjenih posljedica po zemljišni ekosistem i kvalitet podzemnih i površinskih voda (Forget, 1993). Zbog toga, poznavanje karakteristika zemljišta i ekoloških uslova, je potreban uslov za pravilnu primjenu agrohemičalija.

Jednu od najčešćih hemičalija koja ima široku primjenu u poljoprivredi čine pesticidi. Ove agrohemičalije i njihove rezidue mogu da, i nakon dugog vremenskog perioda poslije primjene, ostanu prisutne u zemljištu. One ispoljavaju različit stepen toksičnosti i njihovi produkti degradacije mogu izazvati promjene u kvalitetu životne sredine, ući u lanac kontaminacije hrane i poremetiti javno zdravlje (Brouwer et al., 1999). Kontaminacija zemljišta agrohemičalijama utiče na agroekosistem i njegov živi svijet, koji je odgovoran za kruženje hranljivih supstanci.

Sudbina pesticida, kao jedna od najčešće korištenih agrohemičalija u agroekosistemu, zavisi od procesa adsorpcije i desorpcije (Kumar et al., 2015), kao i njihove mobilnosti, a toksičnost i perzistentnost pesticida su direktno vezani za ove procese. Intenzitet procesa sorpcije i desorpcije pomaže u predikciji mobilnosti i biopristupačnosti pesticida. Jedni se vezuju za zemljišne koloide i zadržavaju se u zemljištu duže vrijeme, dok se drugi desorbuju sa aktivnih mjesta u zemljišni rastvor i postaju pristupačni za dalje biotransformacije. Proces sorpcije ima veliki uticaj na druge procese u zemljištu i omogućava interakciju između pesticida i čvrste faze zemljišta u agroekosistemu (Kah i Brown, 2006).

Određivanje intenziteta procesa sorpcije i desorpcije nije neophodno samo sa aspekta determinacije mobilnosti pesticida kroz ekosistem (zemljište, vodu, vazduh), već i zbog uloge različitih mikroorganizama u njihovom usvajanju i metabolizmu. Mikroorganizmi, osim učešća u procesu kruženja hranljivih supstanci u zemljištu (Finlay, 2007), imaju važnu ulogu u transformaciji organskih polutanata u agroekosistemu (Dilly et al., 2004). Oni su prilagođeni uslovima koji vladaju u zemljištima tretiranim pesticidima i mogu da ih koriste kao jedinstvene izvore energije i ugljenika, kao i drugih hranljivih supstanci. Pri tome, mikroorganizmi svojim

enzimskim sistemima mogu da razgrade hemijske veze u strukturi pesticida, tako da se pesticid transformiše do različitih produkata degradacije (Iwafune, 2018). S obzirom na adekvatan izvor hranljivih supstanci i energije, bakterije svoju aktivnost reflektuju kroz parametre rasta.

Imajući u vidu varijacije u efikasnosti nekih pesticida, kao i njihovu neselektivnost, u proizvodnju su uvedeni novi pesticidi, koji predstavljaju dobru alternativu postojećim. Jedan od njih je i nikosulfuron (grupa sulfonilurea), koji je namijenjen suzbijanju višegodišnjih i širokolisnih korova u usjevu kukuruza (Rick i Rowe, 1991). Njegova primjena je ekološki opravdana, budući da podliježe procesima adsorpcije i degradacije. Međutim, usljed njegove neadekvatne i neracionalne primjene, došlo je do pogoršanja kvaliteta životne sredine, što je praćeno njegovim toksičnim djelovanjem na živi svijet i biodiverzitet u zemljištu. Hlorimuron-etil, koji ulazi u sastav pesticida iz grupe sulfonilurea, se odlikuje perzistentnošću, zbog čega se i nikosulfuron i njegove rezidue mogu dugo zadržati u zemljištu i izazvati kontaminaciju usjeva i vodotokova u blizini njegove primjene (Soltani et al., 2006). Primjena mikroorganizama je jedno od ekološki prihvatljivih rješenja u remedijaciji zemljišta sa povećanim koncentracijama nikosulfurona.

S obzirom da procesi adsorpcije/desorpcije i degradacije pesticida zavise od karakteristika zemljišta, neophodno je ispitati i definisati mehanizme adsorpcije/desorpcije u različitim tipovima zemljišta, odnosno ispitati i definisati stepen potencijalnog rizika od njihove akumulacije u agroekosistemu. Takođe, izolacija mikrobnih populacija koje su tolerantne i rezistentne na prisustvo nikosulfurona, mogu biti polazna osnova za razvoj biotehnološkog pristupa u rješavanju problema kontaminacije životne sredine pesticidima. Ova istraživanja, osim naučnog, imaju i aplikativni značaj, budući da rezultate ove doktorske disertacije mogu da koriste naučnici sličnih oblasti istraživanja i poljoprivredni proizvođači koji primjenjuju nikosulfuron u biljnoj proizvodnji.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. *Pesticidi - istorijat primjene i uloga u poljoprivredi*

Termin “pesticid” podrazumijeva širok spektar jedinjenja kao što su insekticidi, fungicidi, herbicidi, rodenticidi, regulatori biljnog rasta (Aktar et al., 2009) itd. Elementarni sumpor se smatra prvim pesticidom, koji su koristili Sumeri sredinom III milenijuma p.n.e. Podaci o upotrebi pesticida postoje i u drevnoj Mesopotamiji. Drevna indijska zbirka tekstova “Rigveda” opisuje upotrebu “otrovnih” biljaka u cilju uništavanja štetočina. Savremena poljoprivredna proizvodnja podrazumijeva primjenu velikog broja agrohemikalija u cilju povećanja prinosa gajenih biljaka i njihove zaštite. Tako su mineralna đubriva sintetisana kako bi obezbijedila biljkama hranljive supstance i povećale plodnost zemljišta. Na ovaj način, u zemljištu se sprječava nedostatak hranljivih supstanci neophodnih za rast, razvoj i plodonošenje. Razvoj biljaka je značajno modifikovan primjenom hemijskih sredstava, kao što su pesticidi, regulatori rasta i slične supstance ili jedinjenja (Pandya, 2018).

Kada su pesticidi u pitanju, organohlorni insekticidi su sredinom XX vijeka imali široku primjenu i uspješno su korišteni za suzbijanje insekata prenosioca malarije i tifusa. Međutim, nakon 60-ih godina XX vijeka, njihova upotreba je zabranjena ili ograničena, tako da su krajem ovog perioda korišteni sintetički organofosfatni insekticidi. Već 70-ih godina uvedeni su i karbamati, 80-ih piretroidi, a između 70-ih i 80-ih godina XX vijeka počela je proizvodnja herbicida (Aktar et al., 2009). Proizvodnja fungicida započeta je već 30-ih godina XX vijeka, pa su ditiokarbamati sintetisani 50-ih godina, benzimidazoli 60-ih godina XX vijeka (Russell, 2005).

U idealnom slučaju, pesticid bi trebalo da bude toksičan za određenu štetočinu, ali ne i za biljnu vrstu i čovjeka. Primarna korist od primjene pesticida vezana je za posljedice koje pesticidi stvaraju. Uništavanjem larvi ili gusjenica koje se hrane lišćem, dovodi do većeg prinosa i boljeg kvaliteta povrća, što predstavlja primarnu korist primjene pesticida. U opštem slučaju, primarna korist primjene pesticida je veoma raznovrsna, tako da se može reflektovati od zaštite usjeva, preko uništavanja korova, bolesti, štetočina i insekata, do zaštite zdravlja ljudi. Sekundarne koristi su manje i teže vidljive i uglavnom proističu iz primarnih koristi. Tako na primjer, veći prinos biljaka po jedinici površine se reflektuje kroz ekonomičniju proizvodnju i veće prihode, čiji se dio može donirati u razne svrhe (edukacija djece, zdravstvena zaštita, zaštita okoliša), tako da sekundarne koristi primjene pesticida takođe variraju od direktnog uticaja na ljudsko društvo do zaštite biodiverziteta (Aktar et al., 2009).

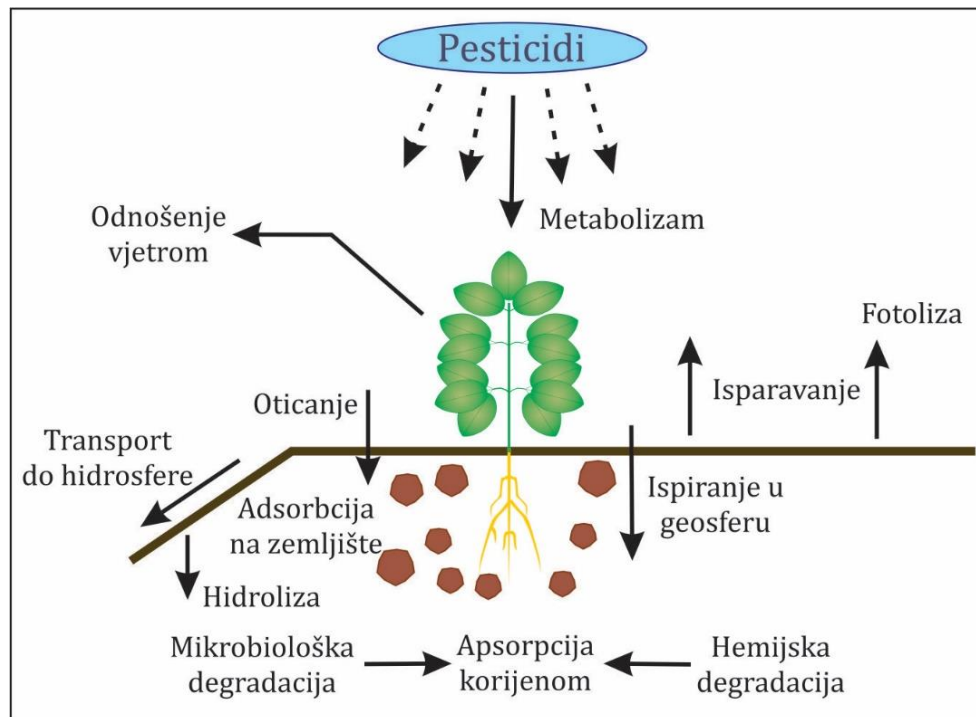
U modernoj biljnoj proizvodnji, primjena pesticida je kombinovana sa tehnikama navodnjavanja i selekcije biljnih vrsta, što je dovelo do povećanja prinosa u mnogim zemljama svijeta. Dalje povećanje prinosa uslovljeno je primjenom odgovarajućeg tipa đubriva i racionalnije poljoprivredne mehanizacije. Primjena pesticida je integralni dio procesa povećavanja prinosa poljoprivrednih kultura. Warren (1998) posebno ističe ulogu pesticida u povećanju prinosa biljaka u SAD-u tokom XX vijeka. Webster et al. (1999) smatraju da bi značajni ekonomski gubici prinosa bili zabilježeni da nisu korišteni pesticidi.

Pesticidi takođe imaju snažan uticaj i na vektore (prenosiocce) bijnih bolesti (Ross, 2005), ali i na kvalitet hrane (Brown, 2004). Zbog sve većeg rasta populacije na Zemlji, neophodno je uvećati količinu hrane, kako bi se ishranila nova populacija, ali uvećazi i kvalitet hrane. Priručnici o ishrani ukazuju da konzumiranje zdravstveno ispravnog voća i povrća smanjuje rizik od pojave kancera, visokog krvnog pritiska, bolesti srca, dijabetesa i drugih hroničnih oboljenja (Dietary Guidelines, 2005). Lewis i Jamie (2005) su ispitivali nutritivne karakteristike jabuke i borovnice u ishrani stanovnika SAD-a i ustanovili da visok sadržaj antioksidanata ima zaštitnu ulogu u preventivi srčanih bolesti i kancera. Isti autori smatraju da je dvostruko uvećanje proizvodnje borovnice rezultat primjene pesticida, što je uticalo na eliminaciju korova i stvorilo uslove za bolje uspjevanje biljaka.

2.2. Sudbina pesticida u poljoprivrednom zemljištu

Pesticidi nakon primjene najvećim dijelom dopijevaju u zemljište. Zemljište postaje „prijemnik“, odakle se pesticid nesmetano „kreće“ u druge sredine. On se može apsorbovati od strane biljaka i životinja, kretati kroz vodu i zemljište ili razgraditi. Poslije kontakta sa zemljištem, određeni dio pesticida se adsorbuje, a stepen sorpcije se povećava ukoliko je sadržaj gline i organske materije veći, čime se smanjuje potencijal kretanja pesticida kroz zemljište (Gevao et al., 2000). Zemljište je najveći rezervoar pesticida koji se koriste u biljnoj proizvodnji, oni potencijalno ispoljavaju svoje djelovanje na mnoge komponente ekosistema (Gill i Garg, 2014). Pesticidi nakon primjene velikim dijelom dopijevaju u zemljište, pa čak i onda kada se koriste kao folijarni pesticidi. Pesticidi nakon primjene i dopijevanjem na zemljište jednim dijelom se adsorbuju na koloidne čestice zemljišta („*soil adsorbition*“), bivaju podvrgnuti mikrobiološkoj („*microbial degradation*“) i hemijskoj degradaciju u zemljištu („*chemical degradation*“), a ukoliko dospiju u vodu mogu i hidrolizirati („*hydrolysis*“) (Ahemad i Khan, 2013). Drugim dijelom se usvajaju korijenom („*root uptake*“), a mogu samo da „prođu“ kroz zemljište, izbjegavajući ciljni organizam ili lokaciju, te se ispiru sa površine zemljišta („*leaching*“) te tako dopijevaju u dublje slojeve zemljišta i/ili podzemnu vodu, mogu

i nakon padavina ili navodnjavanja da otiču („run-off“) sa površine zemljišta i dospijevanja u površinske vode (slika 1).



Slika 1. Sudbina pesticida u zemljištu (Ahemad i Khan, 2013)

Perzistentnost i mobilnost pesticida u zemljištu zavisi od različitih faktora, kao što su rastvorljivost u vodi, pojava sorpcije i desorpcije i vrijeme poluraspada u zemljištu. Pesticidi i njihove rezidue se duže ili kraće vrijeme zadržavaju u zemljištu, što zavisi od interakcije između pesticida i zemljišta. Neželjena apsorpcija rezidua pesticida od strane biljaka dovodi do kontaminacije lanca ishrane, odnosno zemljišta, hrane i javnog zdravlja (Sarkar et al., 2020).

Mnoge agrohemijske, posebno pesticidi, mogu opstati u zemljištu i do nekoliko decenija (tabela 1) i uticati na kvalitet zemljišta. Fizičke i hemijske osobine zemljišta, biološki i ekološki faktori kontrolišu mobilnost i transformaciju pesticida (Arias-Estevez et al., 2008). Ovi faktori utiču na adsorpciju/desorpciju, volatilizaciju, degradaciju, usvajanje od strane biljaka, ispiranje i oticanje pesticida. Od fizičkih i hemijskih karakteristika, najvažnije su sadržaj i tip minerala gline, sadržaj organske materije, pH vrijednost zemljišta i temperatura zemljišta (Wauchope et al., 2002; Vryzas et al., 2007). Akumulacija i formacija rezidua koje se vežu za zemljište smanjuju ispiranje, oticanje i biopristupačnost molekula pesticida (Lerch et al., 2009).

Tab. 1. Vrijeme poluraspada nekih pesticida

Aktivna supstanca	DT50 (dana)	Aktivna supstanca	DT50 (dana)
Propahlor	4	Diuron	< 90
Piretrin	< 9	Glifosat	< 200
2,4-D	< 14	Atrazin	< 260
Pendimetalin	< 40	Dieldrin	< 1800
Dicamba i simazin	< 60	DDT	> 3500

Postoji nekoliko načina za kontaminaciju životne sredine pomoću agrohemičalija. Jedan od glavnih izvora kontaminacije pesticidima su difuzni izvori, odnosno difuzna kontaminacija i disperzija ka različitim dijelovima životne sredine, što se dešava putem isparavanja, površinskog i/ili dubinskog oticanja, ispiranja, odvodnjavanja, itd. Do kontaminacije životne sredine može doći i prilikom zaprašivanja sjemena. Biljni materijal je poznat kao nosač pesticida, tako da nakon raspadanja biljnih ostataka pesticidi dopijevaju u zemljište. Vlažnost zemljišta takođe u velikoj mjeri utiče na kontaminaciju životne sredine, tako u suvljim zemljištima, adsorpcija pesticida je veća, pa je njihova mobilnost manja. U isto vrijeme, aktivnost mikroorganizama koji imaju sposobnost bioremedijacije se smanjuje. Ipak, biodegradacija i bioremedijacija su najbolje proučeni procesi uklanjanja pesticida iz zemljišta (Sarkar et al., 2020). Karpouzias et al. (2016) ukazuju da je opisana biodegradacija mnogih pesticida, koja je najintenzivnija u površinskom sloju zemljišta, dok se u dubljim slojevima, zbog limitirane aktivnosti mikroorganizama i sadržaja organske materije, stepen transformacije smanjuje (Accinelli et al., 2001; Vinther et al., 2001).

2.3. Sorpcija pesticida u zemljištu

2.3.1. Sorpcija - definicija i osnovni pojmovi

Razvoj agrotehničkih mjera u biljnoj proizvodnji, posebno u oblasti zaštite bilja, industrijskih aktivnosti, produkcije otpadnih voda u urbanim sredinama i povećanja broja deponija je neraskidivo povezan sa dospijevanjem velikog broja organskih jedinjenja u životnu sredinu. Neka od ovih jedinjenja su toksična za biljke, životinje i čovjeka. Zbog toga je neophodno poznavanje njihovog „ponašanja“ u zemljištu i načina njihovog širenja kroz zemljište i podzemne i površinske vode (Calvet, 1989). U ova jedinjenja ubrajaju se i pesticidi.

Sorpcija, degradacija i ispiranje ("*leaching*") pesticida su glavni faktori njihovog opstanka u zemljištu (Gerstl i Yaron, 1983). Caceres-Jensen et al. (2018) smatraju sorpciju osnovnim procesom koji utiče na opstanak i transport pesticida iz zemljišnog rastvora do aktivnih mjesta na česticama zemljišta. Proces sorpcije imaju značajan uticaj na procese u

zemljištu i ekosistem u cjelini, jer utiču na pristupačnost organskih polutanata za biljke, potencijal mikroorganizama u degradaciji polutanata i limitiranje transporta ovih polutanata redukcijom njihove koncentracije u zemljišnom rastvoru (Site, 2001). Intenzitet sorpcije je odgovoran za smanjenje biološke aktivnosti pesticida i stepen njihove biološke degradacije, ili povećanja stepena njihove hidrolize nebiološkim putem (Stevenson, 1994) i direktno je vezan za karakteristike pesticida i uslova u zemljištu (Weber et al., 2004; Weber et al., 2006). Od sorpcije direktno zavise i drugi procesi i zbog toga se sorpcija smatra jednim od najvažnijih procesa koji utiče na interakciju pesticida i čvrste faze zemljišta (Hamaker i Thompson, 1972; Khan, 1978).

Termin „sorpcija“ obuhvata dva procesa: adsorpciju i/ili desorpciju. Adsorpcija predstavlja adheziju adsorbata kao što je tečnost ili gas, stvaranjem tankog sloja ili filma na površini adsorbenta bilo da je on čvrst ili tečan. Veza između adsorbenta i adsorbata može biti fizička ili hemijska veza. Hemijsko spajanje osigurava jaču vezu nego fizičko vezivanje, a film može biti jednoslojni ili višeslojni. Adsorbat se može odvojiti iz adsorbenta i proces se naziva desorpcija (Patiha et al., 2016). Proces adsorpcije se obično proučava na datoj temperaturi i naziva se adsorpciona izoterma. Adsorpcija podrazumijeva proces gdje se jedinjenja koncentrišu u međuprostoru između dvije faze (čvrste i tečne, gasovite i tečne ili gasovite i čvrste), dok desorpcija predstavlja proces gdje se jedinjenja prenose iz jedne faze u drugu (Khan, 1980). Pošto je najveći broj pesticida slabo isparljiv, najčešće se spominje desorpcija iz tečne faze. Putem adsorpcije pesticida za čestice zemljišta, pogotovo u zoni korijenovog sistema, sprječava se ili usporava njihova migracija kroz zemljište (Đurović, 2011). Vryzas et al. (2007) su u vlastitim istraživanjima ukazali da više faktora utiče na adsorpciju pesticida u zemljištu, uključujući teksturu, sadržaj organskog ugljika, rastvorene organske materije, pH zemljišta, vrstu minerala gline, kapacitet kationske izmjene (CEC), hemijska svojstva pesticida i njihovih proizvoda konverzije (jonizacija, isparljivost, rastvorljivost u vodi, termo-, foto- i hidrolizna stabilnost). Na adsorpciju istovremeno utiče i prisustvo drugih rastvorenih supstanci koja se takmiče za ista mjesta adsorpcije na čestice zemljišta, uslovi okoline i poljoprivredne prakse.

2.3.2. Mehanizmi sorpcije

Adsorpcija pesticida za zemljišne čestice se može objasniti različitim mehanizmima. Neki od ovih mehanizama su potpuno nezavisni u procesu sorpcije, dok se drugi, u zavisnosti od karakteristika pesticida i uslova u zemljištu, mogu simultano obavljati. Prema Sadegh-Zadeh et al. (2017), glavni mehanizmi adsorpcije pesticida u zemljištu su:

1. **Van der Waals-ove sile.** Ovim vezama obavlja se adsorpcija nejonskih i nepolarnih pesticida za nejonske i nepolarne komponente zemljišta. Van der Waals-ove sile su rezultat specifičnih interakcija u zemljištu. Ove veze između molekula adsorbata (adsorbovane supstance) i adsorbenta (supstrat za koji je vezan adsorbat) mogu dovesti do privlačenja velikih molekula (Senesi, 1992). Khan (1980) ukazuje da se veliki broj pesticida može adsorbovati za zemljište Van der Waals-ovim vezama.
2. **Hidrofobne veze.** Nepolarni pesticidi koji imaju velike nepolarne regione se mogu adsorbovati za hidrofobne regione organske materije zemljišta (Khan, 1980), tako da neće dozvoliti molekulima vode da se adsorbuju za ove regione (Weber i Miller, 1989). Regioni lipida su glavne komponente organske materije zemljišta, odnosno lokacije za adsorpciju pesticida. Veza između nepolarnih pesticida i lipidne frakcije organske materije je hidrofobna (Weber i Miller, 1989). Postojanjem ove veze se može objasniti zbog čega je sorpcija nekih pesticida nezavisna od sadržaja vode u zemljištu, a posebno u zemljištu sa visokim sadržajem organske materije. Weber i Miller (1989) ukazuju da je hidrofobna frakcija masti, voskova i smola važan adsorbent fenilurea. Ovaj tip veze je takođe nezavisan i od pH vrijednosti. Metilacija organske materije ili humusnih komponenti i blokada hidrofilnih hidroksilnih grupa stimulise mehanizme adsorpcije.
3. **Vodonične veze.** Ovaj tip vezivanja je tip interakcije gdje atom vodonika služi kao most između dva negativno naelektrisana atoma. Vezivanje pomoću vodonika je ključni mehanizam adsorpcije polarnih nejonskih molekula za minerale gline (Hance, 1989), odnosno organsku materiju zemljišta. Karbonilne grupe molekula pesticida se na ovaj način vezuju za amino-vodonične ili hidroksilne funkcionalne grupe organske materije zemljišta (Khan, 1980).
4. **Transfer elektrona.** U ovom mehanizmu, kada elektron prelazi sa donora na akceptor, dolazi do elektrostatičkog privlačenja. Ovaj način sorpcije je karakterističan za neke triazinske pesticide i njihovo vezivanje za organsku materiju (Sluszny et al., 1999). Sadegh-Zadeh et al. (2011) su konstatovali da je transfer elektrona jedan od mehanizama za adsorpciju napropamida za organsku frakciju zemljišta.
5. **Jonska razmjena.** Ovim mehanizmom se obavlja adsorpcija katjonskih pesticida u zemljištu. Na ovaj način se karboksilne i fenolne funkcionalne grupe pesticida (parakvat i dikvat) mogu vezati za organsku materiju zemljišta (Stolpe i Kuzila, 2002). Kiseli pesticidi mogu podleći adsorpciji za organsku materiju zemljišta i minerale putem mehanizama anjonske razmjene (Khan, 1980).

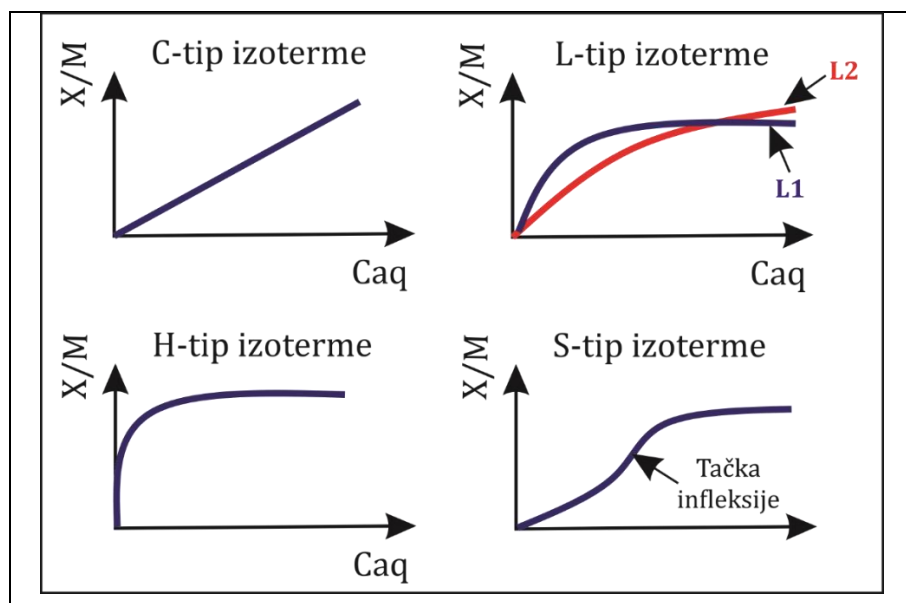
6. **Razmjena liganda.** Ovaj mehanizam podrazumijeva zamjenu liganda na adsorbentu adsorbovanim pesticidom, što se dešava ukoliko je adsorbovani pesticid „jači“ od liganda na adsorbentu (Stolpe et al., 1993). Kiseli pesticidi mogu da budu adsorbovani na Al- i Fe-hidroksidima kroz razmjenu liganda.

2.3.3. Sorpcijske izoterme

Sorpcija pesticida se najčešće procjenjuje primjenom sorpcijskih izotermi (Celis et al., 1997; Turin i Bowman, 1997; Nelson et al., 2000). *Batch* ravnotežni metod je uobičajena tehnika koja se koristi za determinisanje sorpcije pesticida u zemljištu. Kod ove metode, koristi se serija rastvora pesticida u različitim koncentracijama, koji se zatim miješaju sa poznatom masom zemljišta do stanja ravnoteže. Nakon mjerenja koncentracije pesticida u rastvoru, izračunava se razlika između mase pesticida na početku testa i nakon uspostavljanja ravnoteže, koja predstavlja masu pesticida koja je adsorbovana za čestice zemljišta. Na ovaj način može se determinisati masa adsorbovanog pesticida pri svakoj primijenjenoj koncentraciji pesticida. Na kraju ove metode, može se definisati i odnos između koncentracije pesticida u ravnoteži i sorbovane koncentracije pesticida za zemljište (Von Oepen et al., 1991). Sorpcijska izoterma pokazuje odnos između količine adsorbovanog pesticida po jedinici mase zemljišta i koncentracije pesticida u rastvoru pri ravnoteži. Giles et al. (1974) su predložili 4 glavna oblika izotermi (slika 2):

1. **S-tip izoterme** je sigmoidnog tipa, tj., kriva ima tačku infleksije. Prema ovom tipu izoterme se adsorbuju pesticidi koji imaju nizak afinitet za vezivanje na određeno zemljište. Ova vrsta izoterme ukazuje da pri niskim koncentracijama supstance, zemljište ima nizak afinitet za adsorpciju, koja se povećava pri višim koncentracijama. Weber i Miller (1989, cit. Deel et al., 1994) pokazuju da sorpcija "hidrofilnih rastvorenih supstanci na lipofilnim površinama" rezultira izotermama S-tipa. Sorpcija po S-tipu izotermi utvrđena je za herbicide visoko rastvorljive u vodi, kao što su 2,4-D i dikamba, te fungicid vinkozolin.
2. **L-tip izoterme** ukazuje da je omjer između koncentracije supstance preostale u rastvoru i koncentracije supstance adsorbovane ne čvrstu fazu opada kada se koncentracija rastvorene supstance povećava, dajući konkavnu krivu. To ukazuje na progresivno zasićenje čvrste materije. Ovaj tip izoterme se dijeli na dvije podgrupe:
 - kriva dostiže strogi asimptotski maksimum, obično kada čvrsta faza ima ograničen sorpcijski kapacitet (na sl. 2 iznačena kao **L1**) i

- kriva ne dostiže bilo koji maksimum, jer čvrsta faza ne pokazuje jasno ograničen kapacitet sorpcije (na sl. 2 iznačena kao **L2**). Giles et al. (1974) ipak ukazuju da je praktično teško znati pripada li izoterma prvoj ili drugoj podgrupi.
3. **C-tip izoterme** je linearnog oblika i on znači da je odnos između količine supstance koja ostaje u rastvoru i količine supstance koja se adsorbuje na čvrstu supstancu isti, pri bilo kojoj koncentraciji. Ukoliko je ovakav regresioni odnos između koncentracije supstance u rastvoru u ravnoteži i masenog udjela adsorbovane supstance pri toj ravnoteži, onda se to može pouzdano definisati, kao „koeficijent distribucije“ („*distribution coefficient*“) ili „koeficijent raspodjele“ („*partition coefficient*“), koji se označava sa K_d ili K_p , respektivno, a mjeri u $(L \cdot kg^{-1})$. Jednostavnost ove izoterme ne smije opravdati njegovu upotrebu bez provjere, jer bi moglo doći do pogrešnih zaključaka. Na primjer, ako čvrsta materija ima ograničenu količinu adsorpcionih mjesta, onda bi adsorbicijona izoterma na višim koncentracijama mogla biti nelinearna zbog mogućeg zasićenja, tj. mogla bi da pokazuje ipak neku drugu vrstu adsorbicijone izoterme, npr. „L“ ili „H“.
 4. **H-tip izoterme** je samo poseban slučaj "L" izoterme, kada je početni nagib krive veoma visok, a onda asimptotski teži ka nekom maksimumu. Ovaj poseban slučaj izoterme je posljedica visokog afiniteta supstance prema sorbensu i on se javlja samo ukoliko je veoma izražen afinitet između pesticida i zemljišta.



Slika 2. Tipovi izotermi (Giles, 1974, Limousin i sar., 2007)

Sorpcione izoterme, predstavljene kroz gore prikazane tipove, se iskazuju odgovarajućim regresionim funkcijama. Najčešće korištene izoterme za sorpciju pesticida su Freundlich-ova, Langmuir-ova i linearna izoterma (Aguer et al., 2000; Dolaptsoglou et al., 2007).

Freundlich-ova adsorpciona izoterma. Freundlich-ova adsorpciona izoterma, kojom se opisuje adsorpcija pesticida na zemljište, organsku materiju i minerale gline može se predstaviti na sljedeći način:

$$\frac{X}{M} = K_F \cdot (C_{aq})^{1/n} \quad \text{ili} \quad \log \frac{X}{M} = \log K_F + 1/n \cdot \log C_{aq}$$

gdje $\frac{X}{M}$ predstavlja odnos pesticida prema masi adsorbenta, C_{aq} predstavlja koncentraciju pesticida u rastvoru pri ravnoteži, dok su K_F (Freundlich-ov koeficijent) i $\frac{1}{n}$ konstante vrijednosti. Vrijednost K_F se smatra korisnim indeksom za klasifikaciju stepena adsorpcije. Cheah et al. (1997) su ustanovili da adsorpcija pesticida 2,4-D, lindana, parakvata i glifosata za pjeskovite ilovače prati Freundlich-ovu izotermu.

Langmuir-ova adsorpciona izoterma. Langmuir-ova sorpciona jednačina je izvedena iz izučavanja adsorpcije gasova za čvrste supstance. Langmuir-ov model opisuje adsorpciju molekula adsorbata (herbicida) na poroznom mediju (adsorbentu) pod pretpostavkom da adsorbent ima ograničen kapacitet (Tadeo-Jalife et al., 2021). Pretpostavlja se da su mjesta adsorpcije identična i zadržavaju molekulu adsorbata. Linearni oblik Langmuir-ove jednačine, prema Singh et al. (1989) je:

$$\frac{C_{aq} \cdot M}{X} = \frac{C_{aq}}{X_m} + \frac{1}{b \cdot X_m}$$

gdje je C_{aq} koncentracija pesticida u rastvoru pri ravnoteži ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), M je masa zemljišta (g), X je masa adsorbovanog pesticida (mg), X_m je maksimum adsorpcije ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) i b je konstanta vezana za energiju adsorpcije.

2.4. Adsorpcija pesticida u zemljištu

2.4.1. Pokazatelji adsorpcije pesticida u zemljištu

Zemljište je heterogen i kompleksni sistem, koji se sastoji od čvrste, tečne i gasovite faze. Adsorpcija je pojam koji se najčešće opisuje vezivanje pesticida za čvrstu fazu zemljišta, a što predstavlja glavni mehanizam mobilnosti i pristupačnosti pesticida u zemljištu. Adsorpcija određenog pesticida u zemljištu može se opisati odgovarajućim pokazateljima, koji proističu iz utvđene funkcionalne zavisnosti između količine adsorbovanog pesticida (X/M) i

koncentracije pesticida u rastvoru pri ravnoteži (C_{aq}). Ova ispitivanja se najčešće ustanovljava pomoću „batch“ ili „slurry“ eksperimenta, gdje se zemljište (mase M) miješa sa vodom ili drugim jedinjenjem (zapremine V) uz dodatak pesticida (mase m_p). Ova količina pesticida se može dodati u jednu fazu i prije miješanja, tako da se može konstatovati početna koncentracija pesticida u tečnoj fazi (C_i). Nakon mirovanja (24-48 h), obavlja se mjerenje koncentracije pesticida (C_{aq}) u rastvoru, pri čemu se pretpostavlja da je ostatak pesticida adsorbovan na zemljištu (X/M). Iz utvđenih funkcionalnih zavisnosti, opisanih odgovarajućom adsorpcionom izotermom, proizilaze i određeni pokazatelji koji karakterišu adsorpciju pesticida u određenom zemljištu. Iz tih pokazatelja proizilazi i procjena mobilnosti pesticida u zemljištu. Takođe, ukoliko perzistetnost zemljišta povežemo sa adsorpcionim pokazateljima možemo i vršiti ocjenu mogućnosti dospijevanja pesticida, a prije svega herbicida u podzemne vode. Pokazatelji adsorpcije su: koeficijent distribucije (K_d), koeficijent raspodjele organski ugljenik-voda, frojndlihoivi adsorpcioni koeficijenti i GUS.

Distribucioni koeficijent (K_d). Distribucioni koeficijent (K_d) se izračunava polazeći od pretpostvke da je pesticid iz rastvora adsorbovan zemljištem, a ta adsorbovana masa pesticida se označava sa X , i izračuna se po obrascu $X = V \cdot (C_i - C_{aq})$. Tako da omjer X/M predstavlja ustvari maseni udio pesticida u čvrstoj fazi [$g \cdot g^{-1}$], pa je K_d je definisan kao:

$$K_d = \frac{X/M}{C_{aq}} \left(\frac{mL}{g} \right)$$

Visoke vrijednosti K_d (od 100 pa naviše) upućuju da je pesticid veoma adsorbivan i da će biti imobilan u zemljištu i otporan na mikrobiološku degradaciju. Mnogobrojni autori ukazuju da je u posljednjih desetak godina obavljeno hiljade mjerenja K_d (Wauchope et al., 2002). Uprkos ogromnim podacima, postoji samo jedna generalizacija, koja kaže da ako je vrijednost K_d za neki pesticid mjerena u raznim zemljištima, onda obično postoji visoka pozitivna korelacija između sadržaja organskih materija u zemljištu i vrijednosti K_d . Ovo je vjerovatno prvo primijećeno kada su za konkretno primjenjenu količinu herbicida, oni bili fototoksičniji u zemljištima sa niskim sadržajem organskih materija (Hance, 1965). Ova opservacija dovodi do pretpostavke da se organske materije u zemljištu ponašaju kao nepolarne faze ili površine, da su glavni sorbenti u zemljištu i da vezuje pesticide, jer su pesticidi tipične nepolarne organske molekule, s tim da se posljednjih godina sve više koriste polarni i manje isparljivi pesticidi (Đorđević i sar., 2009). Wilson (2009) je predložio klasifikaciju sorpcionih osobina pesticida na osnovu K_d :

- $K_d \gg 1$ – većina pesticida je snažno adsorbovana, a veoma mala količina je prisutna u zemljišnom rastvoru;

- $K_d > 1$ – više od 50% pesticida je adsorbovano na zemljište;
- $K_d = 1$ – pesticid je ravnomjerno raspoređen u čvrstoj fazi i vodi;
- $K_d < 1$ – više od 50% pesticida se nalazi u zemljišnom rastvoru i
- $K_d \ll 1$ – većina pesticida je prisutna u zemljišnom rastvoru, a manji dio je adsorbovan na zemljište.

Koeficijent raspodjele organski ugljenik- voda (K_{OC}). Organska materija zemljišta se obično mjeri određivanjem količine prisutnog organskog ugljenika koristeći tehnike digestije ili oksidacije. Omjer mase organske materije zemljišta i mase organskog ugljenika zemljišta se kreće od 1,72 do 2,0. Pošto taj omjer nije konstantan, obično se prvo ustanovi frakcija organskog ugljenika u nekom zemljištu (F_{OC}), pa se koeficijent raspodjele u sistemu organski ugljenik/voda (K_{OC}) u tom zemljištu računa dijeljenjem izmjenog K_d u tom zemljištu sa frakcijom organskog ugljenika u istom zemljištu:

$$K_{OC} = \frac{K_d}{F_{OC}} \left(\frac{mL}{g} \right)$$

Vrijednost K_{OC} za neki pesticid, a prije svega herbicid, se može iskoristiti za procjenu potencijalne mobilnosti u zemljištu, tj. klasifikaciju mobilnosti baziranu na vrijednosti K_{OC} .

FAO klasifikacija mobilnosti pesticida u zemljištu bazirana na vrijednosti K_{OC} prikazana je u tabeli 2, a u tabeli 3 McCall's-ova klasifikacija mobilnosti organskih supstanci u zemljištu.

Tab. 2. FAO klasifikacija mobilnosti pesticida u zemljištu bazirana na vrijednosti K_{OC} .

Koc (mL/g ilir L/kg)	Log Koc (mL/g ili L/kg)	Klasa mobilnosti	
< 10	< 1	Visoko mobilan	<i>Highly mobile</i>
10-100	1 – 2	Mobilan	<i>Mobile</i>
100-1,000	2 – 3	Srednje mobilan	<i>Moderately mobile</i>
1,000 - 10,000	3 – 4	Malo mobilan	<i>Slightly mobile</i>
10,000 - 100,000	4 – 5	Teško mobilan	<i>Hardly mobile</i>
> 100,000	> 5	Imobilan	<i>Immobile</i>

Izvor: <https://www.fao.org/3/X2570E/X2570E06.htm>

Tab. 3. McCall's-ova klasifikacija mobilnosti organskih supstanci u zemljištu bazirana na vrijednosti K_{OC} .

Koc (mL/g ilir L/kg)	log Koc (mL/g ili L/kg)	Klasa mobilnosti
0-50	do 1,69	Vrlo visoko mobilan
50 – 150	1,69-2,17	Visoko mobilan
150 - 500	2,17-2,69	Srednje mobilan
500 - 2000	2,69-3,30	Slabo mobilan
2000 - 5000	3,30-3,70	Teško mobilan
> 5000	>3,70	Imobilan

Izvor: McCall et al. (1981)

Groundwater Ubiquity Score (GUS). Groundwater Ubiquity Score (GUS) je u teoriju uveo Gustafson (1989), a to je pokazatelj koji povezuje vrijednost DT_{50} , sa jedne strane, sa vrijednošću sorpcionog koeficijenta K_{OC} sa druge strane, a on se koristi kao pokazatelj rizika, tj. mogućnosti da najčešće upotrebljavani pesticidi, svojim kretanjem dospiju, do podzemnih voda (tabela 4).

$$GUS = \log(DT_{50}) \times [4 - \log(K_{OC})]$$

Tab. 4. Ocjena pokretljivosti pesticida i njihova ekvivalentna GUS vrijednost (Kerle et al., 2007)

GUS vrijednost	Ocjena pokretljivosti pesticida
< 0,1	Ekstremno niska
0,1-1,0	Vrlo niska
1,0-2,0	Niska
2,0-3,0	Osrednja
3,0-4,0	Visoka
>4,0	Vrlo visoka

Vrijeme poluraspada (DT_{50}). Vrijeme poluraspada (DT_{50}) se mjeri u danima i to je vrijeme za koje se aktivna supstanca pesticida razloži za 50% od početnog depozita u određenim uslovima. Vrijeme poluraspada nekog pesticida u zemljištu se određuje u laboratorijskim uslovima i uslovima polja i obično je dat u intervalu, jer ovaj parametar zavisi od velikog broja faktora, prije svih karakteristika zemljišta, mikrobioloških osobina zemljišta i ekoloških uslova (temperature i vlage zemljišta). Klasifikacija pesticida prema vremenu poluraspada (polurazgradnje) u zemljištu kao posljedica biološke i fizičko-hemijske transformacije, prikazana je u tabeli 5.

Tab. 5. Klasifikacija pesticida prema vremenu poluraspada (polurazgradnje) u zemljištu

DT_{50} (dana)	Klasifikacija	
< 20	Lako razgradivo	<i>Readily degradable</i>
20-60	Prilično razgradivo	<i>Fairly degradable</i>
60-180	Slabo razgradivo	<i>Slightly degradable</i>
> 180	Veoma slabo razgradivo	<i>Very slightly degradable</i>
Izvor: https://www.fao.org/3/x2570e/x2570e06.htm		

Rastvorljivost u vodi. Rastvorljivost pesticida u vodi i njegova sorpcija u tlu su obrnuto povezani: povećana rastvorljivost rezultira manjom sorpcijom. Klasifikacija pesticida prema rastvorljivosti u vodi prikazana je u tabeli 6.

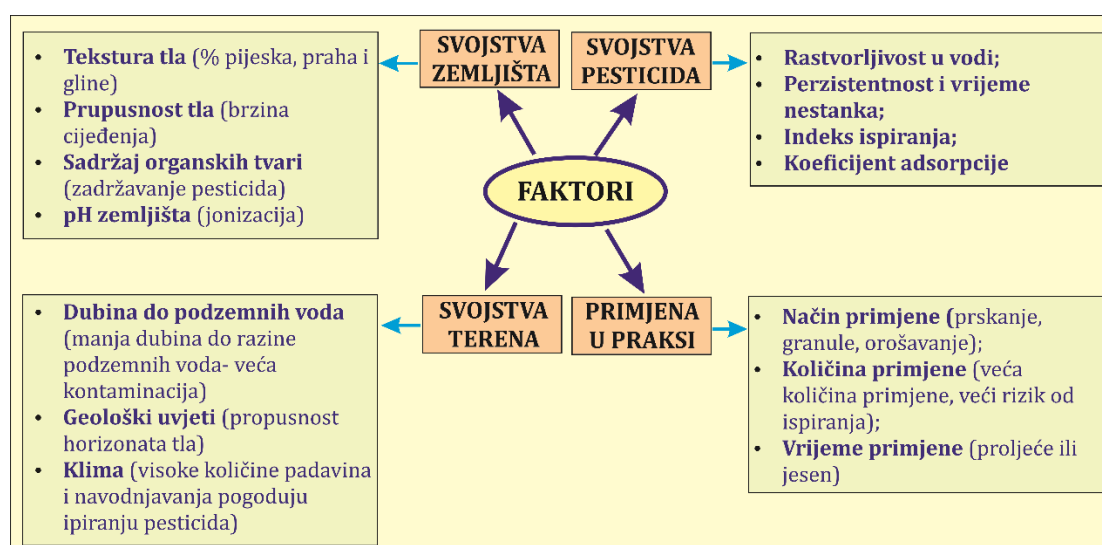
Tab. 6. Klasifikacija pesticida prema rastvorljivosti u vodi ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

DT₅₀ (dana)	Klasifikacija	
<0,10	Nije rastvorljiv	<i>Not soluble</i>
0,1–1	Slabo rastvorljiv	<i>Slightly soluble</i>
1–10	Srednje rastvorljiv	<i>Moderately soluble</i>
10–100	Lako rastvorljiv	<i>Readily soluble</i>
>100	Visoko rastvorljiv	<i>Highly soluble</i>

Izvor: <https://www.fao.org/3/x2570e/x2570e06.htm>

2.4.2. Faktori koji utiču na sorpciju pesticida u zemljištu

Pokazatelji adsorpcije pesticida, kao što su K_F , K_d , K_{OC} su utvrđeni u interakciji određenog pesticida sa određenim zemljištem. Naravno da je radi potpune spoznaje zakonomjernosti sorpcionih procesa neophodno ustanoviti koji faktori utiču na sorpciju pesticida u zemljištu. Mnogobrojne karakteristike pesticida utiču na njihovo ponašanje u životnoj sredini (slika 3), u kojoj oni mogu biti perzistentni ili mogu da podlegnu procesima degradacije, bioakumulacije, volatilizacije, adsorpcije i apsorpcije (Pereira et al., 2016).



Slika 3. Faktori koji utiču na ponašanje pesticida i njihovu toksičnost u životnoj sredini

Faktori koji utiču na sorpciju pesticida u zemljištu mogu se podijeliti na faktore koje potiču od samih karakteristika pesticida, zatim faktore koje uslovljavaju karakteristike zemljišta, te faktore koji su posljedica mikrobioloških osobina zemljišta, faktore koje uslovljavaju konkretni ekološki uslovi (količina padavina i temperatura zemljišta), te antropogeni faktori koji mogu da utiču da sorpcione procese u zemljištu.

2.4.2.1. Karakteristike pesticida

Poznavanje strukture pesticida i njihovih fizičkih i hemijskih karakteristika su važni faktori za procjenu njihove sorpcije u zemljištu. Većina pesticida ima malu molekulsku masu i slabu rastvorljivost. Njihove hemijske karakteristike, oblik i konfiguracija, njihova kiselost ili alkalnost, rastvorljivost, polarnost i veličina molekula su samo neki od faktora koji utiču na proces sorpcije i desorpcije za koloide zemljišta (Khan, 1980).

Struktura pesticida određuje hemijski karakter molekula pesticida i utiču na njihovu sorpciju za zemljište. Mogu se izdvojiti osnovna četiri strukturalna faktora koja utiču na sorpciju pesticida u zemljištu. Prvi faktor se odnosi na prirodu funkcionalnih grupa, kao što su karboksilna, karbonilna, hidroksilna i amino. Amino grupe imaju veliki značaj jer mogu da mijenjaju naelektrisanje i da budu adsorbovane kao katjoni. Ove, kao i karbonilne grupe, mogu da učestvuju u stvaranju vodoničnih veza. Sorpcija je posebno izražena kod pesticida koji imaju sljedeće funkcionalne grupe: R_3N^+ , $-CONH_2$, $-OH$, $-NHCOR$, $-NH_2$, $-OCOR$ i $-NHR$ (Khan, 1980). Drugi faktor je priroda supstitucionih grupa koje mogu da utiču na funkcionalne grupe. Treći faktor je pozicija supstitucionih grupa koja može da utiče na pojačanje ili slabljenje intermolekularnog povezivanja. Četvrti faktor je napon pare pesticida i on je svakako jedan od najvažnijih faktora adsorpcije (Khan, 1980). Napon pare može biti neznatan, koji potiče od nejednake distribucije elektrona stvarajući polarnost molekula, do veoma jak, koji nastaje kao rezultat disocijacije.

pH vrijednost sistema je takođe važan činilac jonizacije najvećeg broja organskih molekula (Grey et al., 1997). Konstanta disocijacije (pK_a) definiše sposobnost nekog jedinjenja da se reverzibilno disocira na manje komponente. Što je veća vrijednost pK_a , sposobnost disocijacije je izraženija. Ovaj parametar obuhvata konstantu disocijacije kiseline (K_a) i baze (K_b). Dakle, ove konstante predstavljaju mjeru za izražavanje jačine kiseline ili baze. Na osnovu ovog parametra, svi pesticidi se mogu podijeliti na kisela, bazična, nejonska (neutralna) i amfoterična jedinjenja. Kiseli pesticidi su donori protona, koji se u uslovima visoke pH vrijednosti ponašaju kao anjoni usljed disocijacije vodoničnog jona funkcionalnih grupa (Piccolo i Celano, 1993). Karakteristike adsorpcije pesticida koji podliježu jonizaciji u vodenim rastvorima i stvaraju katjone se razlikuje od one gdje nastaju anjoni. Osim toga, nejonski ili neutralni pesticidi se ponašaju različito od katjonskih i anjonskih. Neutralni pesticidi mogu podlijeći kratkotrajnoj polarizaciji i prisustvu električnog polja, što dovodi do adsorpcije za naelektrisanu površinu. Pristupačnost mobilnih elektrona u benzenovom prstenu utiče na polarizaciju neutralnih molekula. Zbog toga, adsorpcija neutralnih pesticida za

naelektrisanu površinu se može povećati u slučaju kada ovo povećanje podrazumijeva i dodavanje aromatičnih grupa (Khan, 1980).

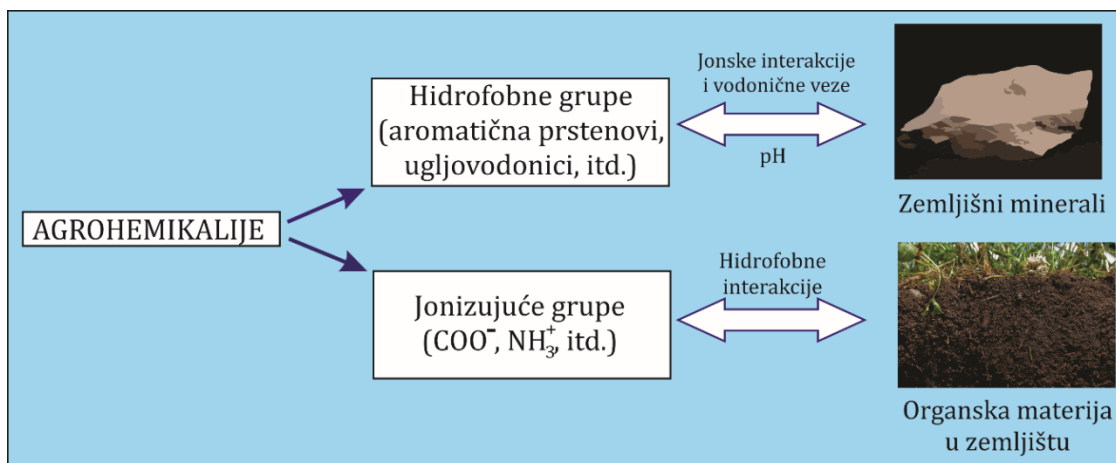
Karakteristike pesticida koje utiču na njihovu mobilnost su rastvorljivost u vodi, hidrofobnost, jonizacija, veličina molekula, volatilizacija, reaktivnost zemljišnih konstituenata i postojanost u životnoj sredini (Stolpe i Kuzila, 2002).

2.4.2.2. Uticaj vrste i sadržaja minerala gline na sorpciju agrohemičalija u zemljištu

Čvrsta faza zemljišta čini oko 50% zapremine zemljišta, dok ostatak predstavlja zemljišni rastvor i zemljišni vazduh. Glavne komponente u zemljištu koje imaju značajnu ulogu u sorpciji pesticida su sadržaj gline i tip minerala, organska materija i pH vrijednost (Peter i Weber, 1985). Ovim faktorima treba dodati i karakteristike pesticida. Minerali gline i organska materija predstavljaju čvrstu vezu između čvrste, tečne i gasovite faze zemljišta. Kroz jonsku razmjenu i putem fizičkih sila, agrohemičalije se mogu koncentrisati na adsorptivnim površinama, ukloniti iz zemljišnog rastvora ili usvojiti od strane biljaka.

Neorganske frakcije zemljišta, pretežno frakcije gline, igraju značajnu ulogu u adsorpciji pesticida (Baskaran et al., 1996). Minerali gline su negativno naelektrisani i posjeduju veliku specifičnu površinu (Sarkar et al., 2018). Zbog toga zemljišta sa većim sadržajem gline imaju tendenciju većeg adsorbovanja agrohemičalija u odnosu na ilovasta ili pjeskovita zemljišta. Iako prisustvo organske materije čini površine minerala hidrofobnijim i reaktivnijim prema hidrofobnim organskim jedinjenjima (Sarkar et al., 2018), posljedice interakcije između komponenata zemljišta i agrohemičalija nisu potpuno razjašnjene i zavise od mehanizama interakcije i vrste agrohemičalija. Međusobne interakcije između površine minerala, organske materije i drugih konstituenata zemljišta mogu da blokiraju lokuse minerala i frakcija organske materije za sorpciju (Sarkar et al., 2020).

Mehanizam adsorpcije pesticida za minerale gline uglavnom podrazumijeva hidrofobne interakcije između organskih jedinjenja i minerala gline. Osim toga, transfer protona, odnosno vodonične veze i pH vrijednost igraju značajnu ulogu u retenciji pesticida za silikatne minerale (shema 1).



Shema 1. Međusobne interakcije i karakteristike zemljišta u sorpciji i retenciji agrohemikalija u zemljištu (Sarkar et al., 2020- modifikovano)

Adsorpcija ili retencija pesticida je direktno proporcionalna sadržaju gline u zemljištu. Minerali gline se mogu zasiti različitim jednovalentnim i dvovalentnim katjonima (K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) i igrati značajnu ulogu u adsorpciji pesticida. Među ovim katjonima, kalijum igra najvažniju ulogu, što je povezano sa niskom energijom hidratacije ovog katjona u odnosu na ostale.

Različiti minerali gline imaju različitu moć adsorpcije pesticida. Minerali iz grupe smektita pokazuju visok kapacitet retencije prema metalaksilu, pre svega zbog elektrostatičkog privlačenja (Rodriguez-Liebana et al., 2016). Ovaj pesticid, kao i aromatični triciklazol su pokazali značaj stepen adsorpcije na prirodnim stevensitima (Azarkan et al., 2017). Adsorpcija imazetapira bila je izražena u vertisolu koji je imao visok sadržaj smektita (Oufqir et al., 2017). Isti autori su zaključili da je prisustvo smektita odgovorno za adsorpciju najvećeg broja pesticida. Cox et al. (2005) zaključuju da interakcija pesticida tiazaflurona i montmorilonita dovodi do adsorpcije ovog pesticida, kao i da ilit i montmorilonit imaju različit kapacitet adsorpcije pesticida. U skladu sa ovim su i rezultati do kojih su došli Celis et al. (1997), koji su ustanovili visok stepen adsorpcije ovog pesticida ukoliko je montmorilonit vezan za $Fe(OH)_3$. Villaverde et al. (2008) ukazuju da povećanje sadržaja minerala gline u zemljištu sa 3 na 66% dovodi do srazmjernog povećanja stepena adsorpcije pesticida prema sljedećem redosljedu: dikamba, metsulfuron-metil, 2,4-D, flupirsulfuron-metil-natrijum, dok prisustvo kaolinita u zemljištu utiče na povećanje stepena adsorpcije atrazina (Davies i Jabeen, 2003). Zheng i Cooper (1996) su ustanovili da su kapacitet katjonske razmjene i sadržaj gline pozitivno korelisani sa sorpcijom kadusafosa.

Osim pesticida, i produkti njihove razgradnje se mogu adsorbovati za minerale gline. Sanchez Martin i Sanchez Camazano (1991) su ustanovili da sorpcija degradacionih produkata

parationa i metil-parationa zavisi od sadržaja minerala gline i veze između ovih minerala i organske materije.

2.4.2.3. Uticaj sadržaja organske materije na sorpciju agrohemičalija u zemljištu

Jedna od najvažnijih karakteristika zemljišta koja utiče na mobilnost i transformaciju pesticida je sadržaj organske materije. Organska materija ima znatno veći kapacitet katjonske razmjene u odnosu na glinu i može da formira kompleksna jedinjenja sa metalima i pesticidima, pri čemu se njihova mobilnost drastično smanjuje. Međutim, ukoliko je mobilnost izražena, pesticidi sa površine zemljišta spiranjem dospijevaju u dublje slojeve i podzemnu vodu (FAO, 2000). I ovaj proces nije nezavistan, već se obavlja pod uticajem hidro-klimatskih faktora, kao što su učestalost padavina, odvodnjavanje zemljišta, dubina podzemne vode, pravac mobilnosti pesticida; i neke agrotehničke mjere (vrijeme sjetve, količina pesticida i način tretmana, vrsta usjeva) mogu da imaju uticaj na akumulaciju pesticida u zemljištu (FAO, 2000; Wyman et al., 1985).

Organska materija u zemljištu se smatra primarnim adsorbentom pesticida (Sarkar et al., 2020). Od nje zavisi koncentracija svakog pesticida u zemljišnom rastvoru i regulacija njihovog transporta kroz zemljišni profil. Zbog toga, organska materija predstavlja jedan od najvažnijih faktora za primjenu agrohemičalija, odnosno pesticida. Naelektrisanje aktivnih sorptivnih mjesta organske materije određuje stepen adsorpcije pesticida, zahvaljujući jonizaciji karboksilnih grupa na površini organske materije. Stepenu adsorpcije pesticida je u obrnutoj srazmjeri sa sadržajem organske materije, što znači da je spiranje i oticanje pesticida izraženije u zemljištima sa nižim sadržajem organske materije. Ova pojava može da dovede do kontaminacije površinskih i podzemnih voda (Fernandez et al., 1988). Međutim, zemljišta koja sadrže više od 5% organske materije imaju sposobnost direktne adsorpcije pesticida, pri čemu priroda organske materije nema bitnu ulogu u stepenu adsorpcije (Bekbolet et al., 1999). Sa druge strane, humusna jedinjenja su mnogo stabilnija i bogata stabilnim slobodnim radikalima, koji imaju važnu ulogu u reakcijama polimerizacije i depolimerizacije, kao i interakciji sa drugim organskim molekulima, kao što su pesticidi i polutanti (Sadegh-Zadeh et al., 2017). U opštem slučaju, visok sadržaj organske materije ukazuje na visok sadržaj organskog ugljenika, zbog toga se kroz sadržaj organskog ugljenika može determinisati stepen adsorpcije pesticida u zemljištu. Varijacije u sadržaju organskog ugljenika u različitim tipovima zemljišta ukazuju na varijacije u sadržaju aromatičnih komponenti organske materije. Zbog toga se odnos između

sadržaja aromatičnih komponenti organske materije i sadržaja organskog ugljenika smatra dobrim indikatorom kapaciteta zemljišta za adsorpcijom pesticida (Ahmad et al., 2006).

Rastvorena organska materija ima važnu ulogu u adsorpciji pesticida. Ova organska materija ima i pozitivan i negativan efekat na adsorpciju pesticida, što zavisi od tipa i funkcionalnih grupa molekula pesticida. Sanchez Martin i Sanchez Camazano (1991) su utvrdili da je sorpcija parationa i metil-parationa upravo srazmjerna sadržaju organske materije. Pesticidi stupaju u interakciju i sa rastvorenim i sa čvrstim frakcijama organske materije, a efekat i revezibilnost ovih interakcija determiniše stepen adsorpcije pesticida. Tako se sorpcija atrazina povećava pri većem sadržaju rastvorene organske materije, dok se sorpcija pesticida 2,4-D i hlorspirifosa smanjuje (Ben-Hur et al., 2003; Li et al., 2005). Lee i Farmer (1989) ukazuju na značajnost sastava rastvorene organske materije u sorpciji pesticida; tako je ustanovljena pozitivna korelacija između napropamida i humusnih jedinjenja (huminske i fulvinske kiseline), pri čemu je veza između napropamida i huminske kiseline stabilnija u odnosu na fulvinsku kiselinu. S obzirom da neki pesticidi, kao što je napropamid imaju nizak stepen adsorpcije u pjeskovitim zemljištima sa niskim sadržajem organske materije (Sadegh-Zadeh et al., 2011) i mogu da izazovu kontaminaciju vodenih ekosistema, predlaže se dodavanje organskih oplemenjivača kao jedna od mjera redukcije stepena kontaminacije životne sredine (Sarkar et al., 2020). Međutim, pesticid MCPA (4-hloro-2-metilfenoksisirćetna kiselina), koji se koristi u pirinčanim poljima, u prisustvu rastvorene organske materije podliježe procesu desorpcije (Wu et al., 2018). Spark i Swift (2002) ukazuju da je rastvorena organska materija imala neznatni uticaj na sorpciju atrazina i parakvata.

2.4.2.4. Uticaj pH vrijednosti na sorpciju agrohemičalija u zemljištu

Osim minerala gline i organske materije, i pH vrijednost zemljišta utiče na procese adsorpcije i desorpcije primijenjenih agrohemičalija u biljnoj proizvodnji. pH vrijednost zemljišta utiče na sorpciju mnogih pesticida (Burns, 1975). Ona utiče na sorpciju pesticida za frakcije gline ili površinu organskih koloida. Međutim, efekat pH vrijednosti zavisi od vrste pesticida i organizma koji je odgovoran za degradaciju pesticida. Tako je degradacija mnogo brža u zemljištima sa visokom pH vrijednošću, dok je adsorpcija pesticida izraženija pri smanjenju pH vrijednosti (Andreu i Pico, 2004). Osim toga, pesticidi mogu opstati duži vremenski period u ekosistemu, tako su organohlorni insekticidi parakvat i dikvat detektovani u površinskim vodama čak i 20 godina nakon upotrebe, zbog čega je njihova primjena zabranjena (Larson et al., 1997). Oni pripadaju grupi perzistentnih organskih polutanata, koji

predstavljaju tipična organska jedinjenja sa visokim stepenom bioakumulacije, toksičnosti i perzistentnosti u životnoj sredini.

Pesticidi egzistiraju u zemljišnom rastvoru kao neutralni, pozitivno ili negativno naelektrisani. U zavisnosti od pH vrijednosti, karboksilne i fenolne grupe organske materije se mogu transformisati i kreirati mrežu na samoj površini organske materije. Tako pH vrijednost utiče na stepen adsorpcije agrohemikalije kada su one transformisane hemijskim putem. Sheng et al. (2005) su utvrdili da je bromoksinil transformisan u procesu disocijacije pri visokoj pH vrijednosti u anjonski oblik. Stepen adsorpcije ovog anjona bio je manji u neutralnom zemljištu (pH=7) u odnosu na kiselo. Međutim, isti autori su utvrdili da je ametrin u molekulskom obliku bio adsorbovan za organsku materiju u neutralnom zemljištu, što ukazuje da ne postoji statistička korelacija između sorpcije agrohemikalija i pH vrijednosti različitih tipova zemljišta (Sarkar et al., 2020). Weber et al. (1986) nisu utvrdili statističku značajnost između pH vrijednosti i adsorpcije fluridona u 18 različitih tipova zemljišta, u kojima se pH vrijednost kretala od 4,4 do 8,1. Međutim, ovi autori su utvrdili porast stepena adsorpcije ovog pesticida sa 38 na 42% pri sniženju pH vrijednosti sa 6,4 na 3,5. Sličan trend je ustanovljen i za pesticide iz grupe sulfonilurea, koji slabo podliježu adsorpciji, ali je stepen adsorpcije negativno korelisan sa pH vrijednošću (Kah i Brown, 2006; Werner et al., 2013).

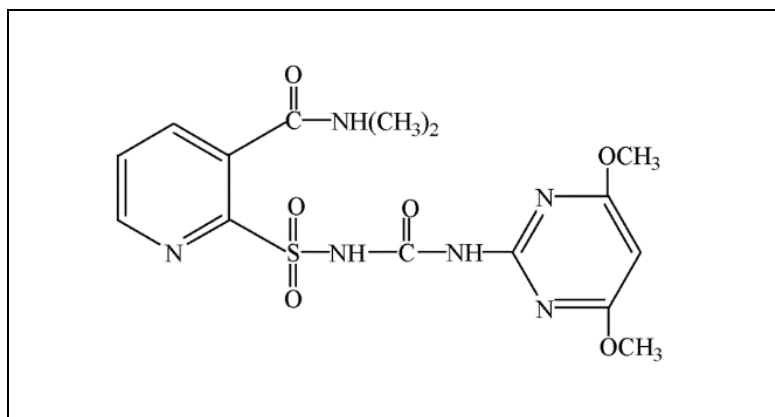
Uticaj pH vrijednosti na adsorpciju pesticida je opisan u mnogim istraživanjima i uglavnom zavisi od karakteristika zemljišta i agrohemikalija. Korelacija između pH vrijednosti i sorpcije uslovljena je koncentracijom i naelektrisanjem pesticida. Zemljišni koloidi, koje uglavnom sačinjavaju organska materija i oksidi Al i Fe, i pH vrijednost su faktori koji omogućavaju elektrostatičko privlačenje i adsorpciju agrohemikalija, dok organski koloidi utiču na stepen jonizacije huminskih kiselina. Fenolne i alkoholne grupe organskih jedinjenja ne podliježu jonizaciji pri neutralnoj pH vrijednosti, dok karboksilne grupe podliježu jonizaciji. Tako su Walker et al. (1989) pratili stepen sorpcije i degradacije hlorsulfurona i metsulfuron-metila u zemljištu i utvrdili da je sorpcija oba pesticida obrnuto srazmjerna pH vrijednosti zemljišta i upravo srazmjerna sadržaju organske materije zemljišta. Kiselinska konstanta (pKa) hlorsulfurona iznosi 3,8, dok metsulfuron-metila 3,3, što ukazuje da oba pesticida uglavnom egzistiraju u kiseloj sredini. I sorpcija piklorama takođe zavisi od pH vrijednosti i pKa vrijednosti organskih jedinjenja. Značajna količina piklorama podleže sorpciji za humusne i huminske kiseline kada je pH vrijednost bila blizu pKa vrijednosti, odnosno 3,4 (Nearpass, 1976). Sa druge strane, 2,4-D kao kiseli pesticid, egzistira u zemljištu u molekulskom i anjonskom obliku. Njegova pKa vrijednost je veoma niska (2,8) i u jonskom obliku 2,4-D može

da egzistira u zemljištima različite pH vrijednosti i može se adsorbovati za pozitivno naelektrisane zemljišne minerale. Pozitivno naelektrisani hidroksidi Al i Fe pokazuju visok stepen sorpcije prema negativno naelektrisanim karboksilnim i fenolnim hidroksilnim grupama pesticida 2,4-D (Huang et al., 1977). Gondar et al. (2013) su ispitivali adsorpciju metalaksila i penkonazola i utvrdili da pri $pH > 5$ nije došlo do frakcionisanja ovih pesticida između tečne i čvrste faze zemljišta, dok je smanjenje pH vrijednosti povećalo stepen adsorpcije za čvrstu fazu zemljišta. Autori ovaj zaključak povezuju sa uticajem pH vrijednosti na jonizaciju karboksilnih grupa organske materije i hidrofilnom prirodom organske materije. Tako su Palma et al. (2015) utvrdili da je stepen adsorpcije fluroksipira, triklopira, piklorama i klopivalida bio najveći u uslovima kada je pH vrijednost bio 4,0. Rice et al. (2004) ukazuju da su izoksafutol i diketonitril pokazali najveći stepen sorpcije pri većem sadržaju organske materije i minerala gline, kao i pri nižoj pH vrijednosti. Ovi rezultati ukazuju da pH vrijednost i kiselinska priroda pesticida imaju snažan uticaj na sposobnost migracije, adsorpcije i degradacije agrohemičalija u zemljišnom profilu.

2.5. Adsorpcija i desorpcija nikosulfurona u zemljištu

Herbicidi iz grupe sulfonilurea su introdukovani u biljnu proizvodnju u cilju zamjene atrazina, alahlorala i metribuzina (Gonzales i Ukrainczyk, 1996). Zbog niskih koncentracija i niske toksičnosti za sisare, smatralo se da herbicidi iz ove grupe neće izazvati pogoršanje kvaliteta životne sredine, međutim, zbog svog anjonskog karaktera, herbicidi iz ove grupe su veoma mobilni u zemljištu (Brown, 1990), što je dovelo i do gubitka prinosa poljoprivrednih kultura (Bailey i Kapusta, 1993) i kontaminacije akvatičnih ekosistema. Mobilnost ovih herbicida se obično povećava sa porastom pH vrijednosti i smanjenjem sadržaja organske materije u zemljištu (Beyer et al., 1988).

Nikosulfuron je herbicid koji se primjenjuje u malim količinama u cilju suzbijanja korova u proizvodnji kukuruza. Prema strukturi, nikosulfuron se razlikuje od ostalih „članova“ grupe sulfonilurea, jer sadrži piridinski prsten umjesto benzenovog i karboksamidnu grupu na piridinskom prstenu (slika 4). Ponaša se kao slaba kiselina ($pK_a=4,3$), a rastvorljivost u vodi zavisi od pH vrijednosti. S obzirom na niske vrijednosti K_{ow} (odnos oktanol i vode), nikosulfuron ima slab afinitet prema organskoj materiji zemljišta pri vrijednostima pH uobičajenim za većinu zemljišta.



Slika 4. Hemijska struktura herbicida nikosulfurona (Stojanović, 2015)

Adsorpcija nikosulfurona (K_d) se povećava sa porastom sadržaja organske materije u zemljištu, kao i sa smanjenjem pH vrijednosti (Weed Science Society of America, 1994). Zavisnost sudbine nikosulfurona od sadržaja organske materije, pH vrijednosti, kao i tipa minerala gline potvrđuju i Gonzales i Ukrainczyk (1996). Nasuprot tome, Azcarate et al. (2018) su upoređivali vrijednosti K_d u zemljištima Argentine i SAD-a i konstatovali da su ove vrijednosti veće u zemljištima SAD-a, koja imaju veći sadržaj organskog ugljenika i veću pH vrijednost u odnosu na zemljišta u Argentini. Azcarate et al. (2015) su utvrdili perzistentnost herbicida iz grupe sulfonilurea u zemljištima u Argentini, kao i drugim zemljama (Gonzales i Ukrainczyk, 1996).

Ukrainczyk i Rashid (1995) su opisali izraženu i nereverzibilnu adsorpciju nikosulfurona na silikatima ($K_d > 100$ za minerale gline, pri pH 6,0-6,5). Jaka sorpcija nikosulfurona na mineralima gline je neočekivana, jer je nikosulfuron jedinjenje anjonske prirode, osim toga, svi herbicidi iz grupe sulfonilurea imaju slabu adsorpciju na mineralima gline (Broggaard i Streibig, 1988). Ove činjenice bi mogle da ukažu na slabiju mobilnost nikosulfurona u odnosu na druge herbicide iz grupe sulfonilurea (Gonzales i Ukrainczyk, 1996). Nasuprot tome, Struger et al. (2011) su detektovali nikosulfuron u uzorcima površinskih voda u Kanadi. Regitano i Koskinen (2008) su ukazali da se koncentracija rastvorenog nikosulfurona smanjuje brže u odnosu na njegovu koncentraciju u zemljištu, što ukazuje da su degradacioni procesi u labilnim zonama zemljišta intenzivniji u odnosu na proces desorpcije. Isti autori smatraju da je usporeno smanjenje koncentracije nikosulfurona u zemljištu posljedica uspostavljanja čvrstih veza sa česticama zemljišta. Međutim, Zemelka (2015) je detektovala veću vrijednost K_d za S-metolahlor u odnosu na nikosulfuron. Osim toga, nikosulfuron je pokazao perzistentnost i otpornost na mikrobnu razgradnju u zemljištu. Isti autor zaključuje da faktori spoljašnje sredine, karakteristike herbicida i fizičko-hemijske karakteristike zemljišta imaju veoma značajnu ulogu u procjeni sudbine pesticida. Sa druge

strane, Cueff et al. (2021) su konstatovali da su tip zemljišta i dubina zemljišnog profila imali zanemarljiv uticaj na intenzitet sorpcije nikosulfurona, dok je značajna razlika utvrđena pri poređenju vrijednosti po dubini zemljišnog profila. Ovo ukazuje na kompleksnost zemljišnog ekosistema u pogledu procjene sorpcije nikosulfurona na čestice poljoprivrednih zemljišta.

2.6. Degradacija pesticida u zemljištu

2.6.1. Degradacija pesticida u zemljištu- degradacioni putevi i rezidue

Prije ili kasnije, pesticidi će se razgraditi u životnoj sredini zahvaljujući procesu degradacije. U zavisnosti od prirode pesticida i ekoloških uslova, degradacija može biti brz ili spor proces (Riyaz et al., 2021). Ključnu ulogu u procesu degradacije imaju zemljišni mikroorganizmi, hemijske reakcije i sunčeva svjetlost. Sa druge strane, molekuli pesticida mogu biti izvor hrane za mnoge mikroorganizme i oni transformišu pesticid u CO₂ i H₂O. Međutim, neki pesticidi (npr. DDT) su perzistentni, odnosno ne mogu se brzo razgraditi. Perzistencija pesticida je izraženija u teškim glinovitim zemljištima u odnosu na pjeskovita. Postoje i pesticidi koji se, nakon dospjevanja u vazduh, vodu ili hranu, akumuliraju u tkivima ili vezuju za masti kod ljudi i životinja; ovaj proces je poznat pod imenom bioakumulacija. Kada se masti iskoriste kao izvor energije, pesticidi se oslobađaju i, ukoliko organizam nije sposoban da ih eliminiše, izazivaju trovanje (Vighi et al., 2017). Sa druge strane, kada dospiju u vazduh, pesticidi se, u procesu volatilizacije, transformišu u paru, dok u zemljištu podliježu već opisanom procesu sorpcije, pogotovo u glinovitim i zemljištima sa visokim sadržajem organske materije. U ovakvim zemljištima njihova mobilnost je minimalna, tako da uglavnom ne dolazi do njihovog oticanja u dublje slojeve zemljišta i podzemne vode. Molekule pesticida mogu da usvoje biljne i životinjske vrste u procesu apsorpcije.

Treba napomenuti da ponašanje i sudbina pesticida u životnoj sredini ne zavisi samo od jednog faktora. S obzirom na kompleksnost životne sredine, mnogi pesticidi nakon primjene postaju mobilni kroz prirodne procese kao što su oticanje, ispiranje, erozija itd. (Arias-Estevez et al., 2008).

Rezidue pesticida mogu nakon primjene u vazduhu da opstanu i do 7 dana, na visini od 6 km, rezidue opstaju do 30 dana, a na visini od 30 km i do dvije godine (Miller, 1990). Iako bi u idealnom slučaju pesticidi trebalo da unište ili redukuju ciljne organizme bez izazivanja posljedica po kvalitet životne sredine, često se dešava da njihove rezidue djeluju štetno na neciljne organizme i izazivaju posljedice po životnu sredinu, što zavisi od prirode pesticida, tipa formulacije, primjenjene koncentracije, učestalosti primjene itd. (Kosikowska i Biziuk,

2010; Breidenbach, 1965). Oni mijenjaju svoje agregatno stanje od tečnog do gasovitog i dospijevaju u atmosferu volatilizacijom, pogotovo u uslovima visoke temperature, vlažnosti i brzine vjetra. Mnogi pesticidi su svrstani u grupu isparljivih organskih jedinjenja, pri čemu tokom reakcije sa azotnim oksidima iz atmosfere, dolazi do nastanka ozona, koji izaziva smog, respiratorne infekcije i povrede na biljkama. Osim toga, rezidue pesticida volatilizacijom dospijevaju u prizemne slojeve atmosfere, gdje, nakon kondenzacije, postaju sastavni dio oblaka, te kiše koje dospijevaju do površine Zemlje mogu da izazovu kontaminaciju površinskih i podzemnih voda.

Rezidue pesticida podliježu velikom broju reakcija (hidroliza, fotodegradacija, oksidacija i redukcija), čime dolazi do njihove razgradnje. Mnoga istraživanja ukazuju da rezidue pesticida remete biljno-mikrobne interakcije u zemljištu, kao i funkcionisanje zemljišnih enzima kao indikatora opšteg zdravstvenog stanja zemljišta (Hussain et al., 2009; Ataikiru et al., 2019; Chowdhury et al., 2008). Takođe, rezidue nekih pesticida se u zemljištu veoma teško razgrađuju, tako da kontaminiraju široko područje primjene (Butler, 1969) i mogu da dovedu do trovanja i oboljenja ljudske populacije (Nicolopoulou-Stamati et al., 2016), kao i domaćih i divljih životinja, kućnih ljubimaca, korisnih insekata i polinatora (Sanchez-Bayo i Goka, 2016).

2.6.2. Rezidue herbicida iz klase sulfonilurea i tehnike detekcije

Iako su rezidue herbicida iz klase sulfonilurea detektovane u uzorcima različitog porijekla (Wu i sar., 2010), literaturni podaci se uglavnom odnose na njihove ostatke u zemljištu (Ye i sar., 2006), površinskim vodama (Polati i sar., 2006) i nekim usjevima (Qi i sar., 2005; Sui i sar., 2006). Za detekciju ostataka pesticida neophodna je pravilna priprema uzorka. Literatura navodi različite postupke koji se odnose na određivanje ostataka sulfonilurea herbicida u zemljištu (Grahovac i sar., 2017), kao što su tečno-tečna ekstrakcija (Zhou i sar., 2003), superkritična fluidna ekstrakcija (Howard i Taylor, 1992), ekstrakcija na čvrstoj fazi (Gervais i sar., 2008), disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija (Wu i sar., 2009), mikrotalasna ekstrakcija (Degelmann i sar., 2004) itd.

Danas se intenzivno primjenjuje QuEChERS metoda za pripremu uzoraka. Ova metoda je uvedena 2003. godine za brzu i efikasnu analizu ostataka pesticida u voću i povrću (Anastassiades i Lehotay, 2003). Vremenom je našla primjenu i u analizi proizvoda životinjskog porijekla (meso, jaja, mlijeko itd.), meda i uzoraka iz životne sredine, poput zemljišta, sedimenta i vode (Tasić i Nešić, 2021). Tehnika se zasniva na brzom uklanjanju vode

pomoću $MgSO_4$ i primarnog - sekundarnog amina (PSA) (Core, 2003), a postupak podrazumijeva ekstrakciju na čvrstoj fazi u sistemu voda/acetoni-tril.

Prva primjena QuEChERS metode u analizi zemljišta opisana je 2008. godine (Lesueur et al.). Do danas, ova tehnika je, uz manje ili veće modifikacije, primijenjena za određivanje ostataka velikog broja pesticidnih jedinjenja (Pszczolińska and Michel, 2021), . Značajnije promjene originalne metode, kao što je eliminacija d-SPE (Rigi et al., 2015; Caldas et al., 2011) i modifikacija postupka prečišćavanja (Rashid et al., 2010; Santalad et al., 2010), određene su za različite klase i koncentracije pesticida u zemljištu.

Većina publikacija uglavnom uključuje optimizaciju ekstrakcije, koja se odnosi na hidrataciju uzoraka zemljišta, izbor veličine uzorka, rastvarača za ekstrakciju i njegovu zapreminu, količinu $NaCl$ i $MgSO_4$ i upotrebu različitih adsorbenata u d-SPE.

U cilju determinacije rezidua herbicida iz klase sulfonilurea, primjenjene su različite instrumentalne tehnike. Fang i sar. (2010) i Fu i sar. (2012) smatraju da je tečna hromatografija visokih performansi (HPLC) sa UV detekcijom ili DAD detektorom sa nizom dioda najčešće korištena metoda za analizu polarnih i termolabilnih herbicida kao što su predstavnici klase sulfonilurea, ali u primjeni su takođe i enzimaska imuno metoda (Font i sar., 1998), gasna hromatografija (Rouchaud i sar., 2001) i HPLC metoda sa tandem masenom spektrometrijom, odnosno HPLC-MS/MS (Kang i sar., 2011).

HPLC-MS/MS metoda je pogodna za detekciju rezidua pesticida iz različitih matriksa. Ova metoda obuhvata jednu separacionu i jednu spektroskopsku tehniku. Tandem masena spektrometrija koristi dvije faze masene analize, izolovanje jona od interesa i analiza fragmenata nastalih pri sudaru jona sa inertnim gasom (argonom ili helijumom). Ova dvostepena analiza može se izvršiti tandemom u vremenu ili tandemom u prostoru. Kombinovanjem tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom dobijena je visoko selektivna i osjetljiva tehnika za analizu velikog broja pesticida, na nivou tragova (Antić, 2018). S obzirom da u uzorcima iz životne sredine mogu biti prisutna jedinjenja koja imaju slične hromatografske karakteristike, njihova detekcija može biti otežana; međutim, masena spektrometrija ima za cilj dobijanje masenog spektra ciljnog jedinjenja, tako da sparivanje ove dvije metode omogućava preciznu identifikaciju i selektivnost detekcije. Adekvatnom selekcijom mobilne faze i rastvarača za ekstrakciju, moguća je precizna i pouzdana detekcija veoma niskih koncentracija analita u zemljištu.

Na ovaj način, mogu se dobiti kvantitativne i kvalitativne informacije najvišeg stepena, tako da je metoda primjenjiva za detekciju velikog broja supstanci u različitim uzorcima (Grahovac, 2016).

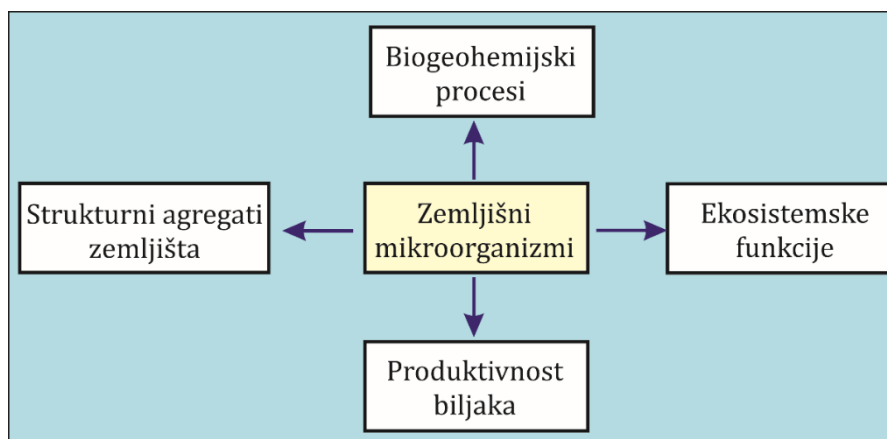
2.7. Zemljište i uloga mikroorganizama u zemljišnom ekosistemu

2.7.1. Zemljište kao životna sredina za mikroorganizme

Zemljište je spoljašnji sloj litosfere i pokriva površinu naše planete. U zemljištu se obavljaju kruženje hranljivih supstanci i mnogi biotički i abiotički procesi. Zemljište je ključni element životne sredine (Furtak i Gajda, 2018), koje ima nekoliko značajnih funkcija (Degorsky, 2004):

- ono učestvuje u formiranju životne sredine, oblikujući lokalne klimatske uslove, reljef i prirodna izvorišta voda;
- predstavlja sredinu gdje se obavlja kruženje biogenih elemenata i organske materije;
- stvara uslove za opstanak živog svijeta;
- doprinosi zaštiti i poboljšanju kvaliteta životne sredine kroz procese sorpcije i
- predstavlja područje aktivnosti čovjeka, odnosno poljoprivrednika, kao i drugih djelatnosti koje se, na određeni način, bave upravljanjem zemljišta.

Iako mnoge nauke zemljište smatraju prostim izvorom supstanci koje biljka koristi za svoju ishranu, ono predstavlja jedan veoma živ i dinamičan sistem koji omogućava opstanak i predstavlja životnu sredinu za aktivnost bakterija, gljiva i životinja (Bonkowski et al., 2009; Muller et al., 2016). Svi ovi, ali i drugi organizmi stupaju u svojevrzne interakcije u zemljištu (kompeticija, komensalizam, mutualizam, parazitizam itd.). Mnoga istraživanja početkom XXI vijeka usmjerena su prema ublažavanju infekcija biljaka od strane patogena (Zhang et al., 2013) i posljedica stresa (Yaish et al., 2016; Meena et al., 2017). Primjena bioloških metoda, zasnovanih na upotrebi mikroorganizama (posebno rizosfernih), doprinijela je rješavanju mnogih problema u savremenoj poljoprivrednoj biljnoj proizvodnji, naročito u pogledu stimulacije rasta i razvoja odbrambenih mehanizama u uslovima stresa (Busby et al., 2017; Bulgarelli et al., 2013). Ovakav značaj mikroorganizama proističe iz njihove svestrane uloge u mnogim biohemijskim procesima. Mikroorganizmi obavljaju mineralizaciju organske materije, doprinose kruženju biogenih elemenata, sintezi proteina i nukleinskih kiselina, i transformaciji fosfora u zemljištu; oni utiču na strukturu zemljišta, poboljšavaju karakteristike zemljišta i time utiču i na produktivnost biljaka (slika 5). Osim toga, rizosferni mikroorganizmi imaju veoma važnu ulogu u održavanju stabilnog zdravstvenog stanja biljaka i zaštiti od patogenih vrsta (Abigail et al., 2005; Nannipieri et al., 2003).



Slika 5. Funkcije mikroorganizama u zemljištu

Zemljište je sredina sa enormnim mikrobnim diverzitetom. Ritz et al. (2003) smatraju da je ukupna svježa masa organizama ispod travnjaka u umjerenom klimatskom pojasu veća od 45 t/ha, što je ili identično masi organizama iznad površine zemljišta ili je veća od nje. Najveću masu organizama ispod površine zemljišta čine bakterije, dok je udio ostalih grupa mikroorganizama mnogo manji. Procjenjuje se da ukupan broj bakterijskih vrsta po gramu zemljišta iznosi između 2.000 i 18.000 (Aislabie i Deslippe, 2013). I pored najveće brojnosti, najveći udio biomase mikroorganizama ne čine bakterije, ova titula pripada gljivama. U zemljišnim ekosistemima, gljive su glavni učesnici u dekompoziciji organske materije, jer sintetišu veliki broj ekstracelularnih enzima, kojima razlažu kompleksne polimere (celulozu, lignin i hitin) do prostih oblika (Tugel i Lewandowski, 2001). Saprofitne gljive su poznati razlagači širokog spektra polutanata u životnoj sredini, tako *Aureobasidium pullulans* razgrađuje PVC (Webb et al., 2000), dok *Penicillium* i *Stachybotrys* imaju sposobnost razgradnje aromatičnih ugljovodonika i hemikalija koje se koriste u zaštiti bilja (Boonchan et al., 2000; Annibale et al., 2006). Međutim, i gljive i bakterije istovremeno obavljaju degradaciju kompleksnih organskih molekula, što viši organizmi nisu u stanju da obave. Od bakterija, ova sposobnost je posebno izražena kod predstavnika klasa *Actinobacteria* i *Proteobacteria*, one obavljaju razlaganje organskih kiselina, aminokiselina i šećera (Eilers et al., 2010). Neke druge bakterije, naročito predstavnici klase *Bacteroidetes*, mogu da transformišu mnogo perzistentnija jedinjenja ugljenika, kao što su celuloza, lignin i hitin. Ove bakterije, koje učestvuju u degradaciji kompleksnijih organskih jedinjenja, mogu da imaju visoke zahtjeve prema pristupačnim formama azota kako bi proizvele ekstracelularne i transportne enzime (Treseder et al., 2011). Sa druge strane, ukoliko se bakterije nađu u sredinama koje su siromašne pristupačnim azotom, metabolički put će biti usmjeren ka transformaciji aminokiselina. Fierer et al. (2007) su konstatovali da je mineralizacija organskih

jedinjenja ugljenika u pozitivnoj korelaciji sa prisustvom β -*Proteobacteria* i *Bacteroidetes*, a u negativnoj korelaciji sa klasom *Acidobacteria*.

Diverzitet poljoprivrednih zemljišta je veoma izražen; u njemu se, osim autohtonih “stanovnika”, kao što su bakterije, gljive, protisti, biljke i životinje, nalaze i organizmi koje je čovjek unio i njihova populacija zavisi od strukture zemljišta i načina korištenja (Arias et al., 2005). Torsvik et al. (1996) smatraju da se iz 1 g zemljišta može izolovati 4.000-6.000 bakterijskih genoma. Klasične mikrobiološke analize omogućavaju da se izoluje svega 0,1-10% od ukupne mikrobne populacije u zemljištu (Furtak i Gajda, 2018). Ova činjenica nameće potrebu da se primjene druge tehnike koje bi omogućile izolaciju vrsta sa potencijalnom primjenom u tehnikama koje doprinose uspješnijoj biljnoj proizvodnji, ali i kvalitetu životne sredine. Mnoga prethodna istraživanja ukazuju da je biogeografska distribucija zemljišnih mikroorganizama u velikoj mjeri zavisna od “filtera” u životnoj sredini; ovi “filteri” se uglavnom odnose na karakteristike zemljišta, biljni pokrivač, topografiju i klimatske uslove (Griffiths et al., 2011; Terrat et al., 2017; Prevost-Boure et al., 2014). Međutim, svi faktori ne utiču podjednako na distribuciju mikrobnih populacija. Tako su Dequiedt et al. (2009) konstatovali da je prostorna distribucija bakterijskih zajednica znatno više vezana za karakteristike zemljišta i biljni pokrivač u odnosu na topografiju i klimatske karakteristike nekih regiona u Francuskoj. Sa druge strane, neki autori ukazuju da su biogeografske varijacije zemljišnih mikroorganizama uslovljenije padavinama i karakteristikama zemljišta u odnosu na druge faktore (Chen et al., 2015). Svemu navedenom svakako treba dodati i faktore stresa biotičke i/ili abiotičke prirode koji značajno mogu da izazovu promjene u strukturi i brojnosti mikrobnih populacija u zemljištu.

Kao i većina organizama u zemljištu, mikroorganizmi prokariotske građe, među kojima su i bakterije, zahtjevaju ugljenik za izgradnju gradivnih elemenata ćelijskog materijala. Osim ugljenika, potrebna im je i energija koja se koristi za sintezu ćelije i metabolizam. Neke bakterije zahtjevaju i prisustvo kiseonika, dok druge traže prisustvo alternativnih akceptora elektrona, kao što su nitrati i sulfati (Aislabie i Deslippe, 2013). Osim ovih grupa bakterija, postoje i one koje mogu da koriste prosta jedinjenja ugljenika, dok druge koriste složena jedinjenja, koja su svrstana u grupu zagađivača životne sredine. Tu se uglavnom ubrajaju hemikalije koje nastaju kao proizvodi različitih industrija, kao što su hemijska, petrohemijska, poljoprivredna itd. Dakle, mikroorganizmi imaju važnu ulogu u regulaciji ekosistemskih procesa, počevši od mineralizacije organske materije i kruženja biogenih elemenata, preko

skladištenja ugljenika i razmjene gasova do transformacije polutanata u zemljištu (Cairney, 2000; Ovreas, 2000).

2.7.2. Agrotehničke mjere i mikrobiološka aktivnost zemljišta

Aktivnost čovjeka u prirodnim ekosistemima, koja se, prije svega, ogleda u intenzifikaciji poljoprivredne proizvodnje i primjeni sredstava za zaštitu bilja, značajno utiče na promjene aktivnosti i diverziteta organizama u zemljištu. Ove izmjene dovode do promjena u funkcionisanju i održivosti ekosistema u celini (Nannipieri et al., 2003; Gajda, 2015), kvalitetu zemljišta i diverzitetu i produktivnosti biljaka (Wagg et al., 2014). Zbog toga, kada se radi o pravilnom upravljanju zemljištem, mora se voditi računa i o mikrobiološkim, fizičkim i hemijskim parametrima kvaliteta zemljišta. Aktivnost mikroorganizama i njihov diverzitet je osjetljivi indikator kvaliteta zemljišta, pogotovo kada je u pitanju poljoprivredno zemljište (Kuffner et al., 2004).

Mnoga istraživanja ukazuju da poljoprivredne aktivnosti drastično mijenjaju hemijske (Wolinska et al., 2016; Wolinska et al., 2017) i fizičke karakteristike zemljišta (Ozgoz et al., 2013, Singh et al., 2016); ove promjene utiču i na mikrobne populacije (Kheyrodin et al., 2012; Tintor et al., 2009). U nekim istraživanjima konstatovana je redukcija mikrobiološke aktivnosti (Palmer i Young, 2000), dok u drugim nema značajnijih promjena u brojnosti i aktivnosti mikroorganizama (Girvan et al., 2003). Isti autori zaključuju da hemijske karakteristike i struktura zemljišta imaju značajan uticaj na aktivnost mikrobnih populacija u zemljištu.

Kvalitet zemljišta je jedan od glavnih parametara kvantiteta i kvaliteta prinosa, ali je takođe i važan indikator zdravstvenog stanja ekosistema (Furtak i Gajda, 2018). Zemljište je stanište za mnoge organizme i lokacija gdje se obavlja veliki broj biohemijskih procesa, na koje utiču biotički i abiotički faktori. Jedan od faktora sa značajnim uticajem na kvalitet zemljišta jeste i poljoprivreda, koja podrazumijeva primjenu velikog broja agrotehničkih i agromeliracionih mjera u cilju obezbjeđivanja visokih i stabilnih prinosa; ovi postupci imaju različito djelovanje na karakteristike zemljišta. Zbog toga se kvalitet zemljišta ne procjenjuje samo na osnovu fizičkih i hemijskih parametara, već se u obzir uzimaju i mikrobiološke osobine zemljišta. U tabeli 7 prikazani su najvažniji mikrobiološki pokazatelji zdravstvenog stanja zemljišta.

Tab. 7. Najvažniji mikrobiološki pokazatelji zdravstvenog stanja zemljišta

Parametar	Metoda
Ukupan broj bakterija	Zemljišni agar ili tripton soja agar se koriste kao supstrat za rast mikroorganizama
<i>Azotobacter sp.</i>	Fertilne kapi na Fjodorovoj podlozi
Gljive	Csapek-ov agar, Roze bengal streptomycin agar, krompir dekstrozni agar
Amonifikatori	Hranljivi agar
Aktinomicete	Skrobno-amonijačni agar
Dehidrogenazna aktivnost	Trifeniltetrazolijum hlorid (TTC) se koristi kao supstrat
Aktivnost kisele i alkalne fosfataze	P-nitrofenil fosfat se koristi kao supstrat
Ureaza	Mjerenje koncentracije amonijaka
Hidroliza fluorescein diacetata	Mjerenje koncentracije fluorescein diacetata

Enzimska aktivnost se smatra jednim od glavnih parametara opšte mikrobiološke aktivnosti u zemljištu. Ova aktivnost obično podrazumijeva aktivnost dehidrogenaze, peroksidaze, fosfataze, proteaze, ureaze, katalaze, celulaze, invertaze i β -glukozidaze. Ovi enzimi učestvuju u velikom broju biohemijskih reakcija u zemljištu, kao što su sinteza i razgradnja humusa, azotifikacija, nitrifikacija, denitrifikacija, transformacija fosfornih jedinjenja, razgradnja ksenobiotika itd. Prisustvo enzima u jednom biološkom sistemu je dokaz metabolizma zemljišta, koji je veoma osjetljiv na promjene uslova u životnoj sredini (Furtak i Gajda, 2018). Aktivnost dehidrogenaze, koja katališe veliki broj reakcija oksidacije i redukcije, značajno je veća u zemljištima bez obrade ili u uslovima redukovane obrade u odnosu na konvencionalnu obradu (Marinari et al., 2006; Majchrzak et al., 2014). Fosfataza katališe hidrolizu organskih jedinjenja fosfora i svojom aktivnošću obezbjeđuje pristupačni fosfor za ishranu biljaka. Zbog toga se ovaj enzim koristi kao indikator stepena mineralizacije fosfornih jedinjenja. U sistemima bez primjene obrade i sa minimalnim antropogenim uticajem, aktivnost alkalne fosfataze je veća, dok je kiselna fosfataza veća u uslovima konvencionalne obrade i monokulture (Galazka et al., 2017).

Poljoprivredna aktivnost koja se obavlja pod uticajem čovjeka ima veliki uticaj na fizičke i hemijske a samim tim i na mikrobiološke karakteristike zemljišta. U zavisnosti od načina iskorištavanja zemljišta, postoje razlike u sastavu mikrobnih populacija. Tako su Bikhofer et al. (2012) zaključili da diverzitet vrsta zemljišnih mikroorganizama prvenstveno zavisi od abiotičkih faktora nezavisno od lokacije ili načina korištenja. Isti autori su konstatovali da lokacija i način korištenja zemljišta imaju znatan uticaj (33%) na varijacije u sastavu zemljišnih organizama. Međutim, Bevivino et al. (2014) su ukazali da se zemljišta koja nisu pod direktnim uticajem čovjeka (šume i pašnjaci) karakterišu stabilnim sastavom bakterijskih populacija u odnosu na zemljišta pod antropogenim djelovanjem (vinogradi i livade). Istraživanja koja su

obavili Wolinska et al. (2016a) i Wolinska et al. (2016b) su pokazala da su, u odnosu na neobrađena, poljoprivredna zemljišta uglavnom degradirana, što se odražava i na smanjenje mikrobiološke aktivnosti. Zbog toga se smatra da promjene u sastavu mikrobnih populacija i gubitak biodiverziteta predstavljaju prijetnju za multifunkcionalnost i održivost ekosistema (Wagg et al., 2014). Wolinska et al. (2016a) i Wolinska et al. (2016b) ukazuju na značajno smanjenje brojnosti amonifikatora u poljoprivrednim zemljištima u poređenju sa nepoljoprivrednim. Do sličnih rezultata došli su i Bhuyan et al. (2014) i Liu et al. (2014), koji su ustanovili smanjenje brojnosti gljiva u sistemima sa intenzivnim antropogenim uticajem. Međutim, ukoliko se obrada zemljišta ne sprovodi a površina zemljišta prekrije biljnim ostacima, dolazi do povećanja brojnosti patogenih gljiva iz roda *Fusarium* sp. U isto vrijeme, povećava se i fungalna biomasa u površinskom sloju zemljišta, čime se intenziviraju procesi kruženja biogenih elemenata i povećava njihova pristupačnost za biljke, uz drastično redukovanje troškova proizvodnje (Sipila et al., 2012). Sa druge strane, Bissett et al. (2011) su ukazali da antropogeni uticaj izražen kroz kultivisanje zemljišta ima veoma mali uticaj na diverzitet mikrobnih populacija u zemljištu.

Primjena fertilizacije azotnim đubrivima ima uticaj na brojnost i aktivnost individualnih grupa mikroorganizama. Visoke doze đubriva mogu da izazovu akumulaciju toksičnih supstanci, npr. amonijaka, koji ima nepovoljno djelovanje na aktinomicete (Natywa et al., 2010). Promjene u sastavu organskih đubriva izazivaju i promjene u sastavu mikrobnih populacija koje učestvuju u razgradnji celuloze i hemiceluloze (Dumontet et al., 2017). Konstantna primjena mineralnih đubriva utiče na smanjenje brojnosti i aktivnosti mikroorganizama u zemljištu, dok primjena stajnjaka povećava intenzitet ovih parametara (Mahajan et al., 2016). Međutim, Geisseler et al. (2017) ističu da primjena većih doza mineralnih đubriva dovodi do povećanja biomase bakterija, gljiva i aktinomiceta. Ova đubriva, takođe, utiču na promjenu odnosa bakterijskih i fungalnih populacija u zemljištu i povećavaju odnos Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija. Isti autori zaključuju da efekat primjene đubriva na aktivnost mikroorganizama zavisi i od ekoloških činilaca i karakteristika lokacije.

Mnoge poljoprivredne prakse koje se sprovode u cilju regulacije vlažnosti i temperature, imaju uticaj na karakteristike zemljišta. Te prakse, koje se odnose na pokrivanje zemljišta folijama i primjenu navodnjavanja, povećale su efikasnost biljne proizvodnje (Tilman et al., 2002). Međutim, njihova intenzifikacija može dovesti do narušavanja karakteristika zemljišta (Bajsa et al., 2013). Primjena polietilenskih folija ili gajenje u staklenicima, pri čemu se djelimično dozvoljava protok sunčevih zraka do biljaka, omogućava dobijanje ranih, visokih

i kvalitetnih prinosa (Kang et al., 2013), što ima pozitivnih efekata na karakteristike zemljišta. Ukoliko se u ovakvim uslovima gajenja obavlja navodnjavanje velikom količinom vode, dolazi do povećanja saliniteta u površinskom sloju zemljišta. Sa druge strane, optimalna temperatura i optimalni sadržaj vode stimulišu mikrobiološku razgradnju organske materije u zemljištu, što dovodi do smanjenja sadržaja ugljenika i negativnog uticaja na brojnost i aktivnost zemljišnih mikroorganizama (Bonanomi et al., 2016).

Sve navedene činjenice ukazuju da je zemljište veoma kompleksan i složen sistem i da se antropogeni uticaj reflektuje na njegove fizičke, hemijske i biološke karakteristike. Promjene u sastavu populacija zemljišnih organizama imaju dugotrajni uticaj na rast biljaka, kvalitet i kvantitet prinosa.

2.7.3. Primjena pesticida i mikrobni diverzitet zemljišta

Današnji svijet je suočen sa krizom usljed porasta svjetske populacije, tako da je neophodno uvećati proizvodnju hrane kako bi se prehranila rastuća populacija. S obzirom da je oko 75% naše planete pokriveno vodom, površine pod kopnom su vrlo ograničene i nisu dovoljne da podmiru potrebe rastuće populacije u hrani. Poljoprivredni proizvođači su prepoznali intenzifikaciju poljoprivrede kao jedini način za rješavanje ovog problema. Intenzifikacija podrazumijeva primjenu različitih mjera koje dovode do povećanja prinosa poljoprivrednih kultura. Ovo se prvenstveno odnosi na primjenu agrohemikalija, gdje đubriva i sredstva za zaštitu bilja imaju glavnu ulogu. Njihova racionalna primjena ne može da ugrozi kvalitet životne sredine, međutim, konstantni pritisci na poljoprivredne proizvođače da što više intenziviraju proizvodnju i uvećaju kvantitet prinosa, doveli su do neselektivne primjene agrohemikalija (Devi et al., 2018), što je za posljedicu imalo promjenu kvaliteta zdravstvenog stanja zemljišta i ekosistema (Ejaz et al., 2004).

I pored benefita za biljnu proizvodnju i uništavanja velikog broja prouzrokovaca oboljenja, štetočina i korova, pesticidi mogu imati nepovoljno djelovanje na zdravstveno stanje zemljišta. Dakle, promjene kvaliteta zemljišta i ekosistema u cjelini izazvane su nekontrolisanom primjenom đubriva i sredstava za zaštitu bilja (Wilson, 2000). Pesticidi se široko primjenjuju u cilju uništavanja štetnih agenasa u poljoprivrednoj proizvodnji (Hussain et al., 2009). Na globalnom i godišnjem nivou, utroši se oko 3×10^9 kg pesticida, čija je vrijednost oko 40 milijardi dolara (Pan-UK, 2003). Međutim, samo 0,1% od primjenjenih pesticida dopijeva do ciljanog organizma, dok ostatak ispari ili podliježe spiranju sa površine biljaka i dopijeva do zemljišta (Carriger et al., 2006). U zemljištu, pesticidi mogu da utiču na strukturu, brojnost i aktivnost populacija mikroorganizama, koji su jedni od činilaca

zdravstvenog stanja zemljišta (Mahia et al., 2008). Enzimska aktivnost je, takođe, jedna od najvažnijih ključnih komponenti životne sredine i predstavlja „okidač“ za mnoge hemijske reakcije koje se dešavaju u prirodi. S obzirom da su enzimi direktno povezani sa mikrobnim populacijama u zemljištu, enzimska aktivnost i biološki procesi mogu da budu narušeni primjenom pesticida (Antonious, 2003). Dakle, kontaminacija pesticidima je jedan od važnijih aspekata u današnje vrijeme. Da bi se smanjio efekat pesticida na životnu sredinu, predložena je primjena biopesticida. Iako se dugo smatralo da to nisu hemijski već prirodni pesticidi i da su bezbjedniji i manje opasni od hemijskih, Gupta i sar. (2013) su ukazali na njihovo nepovoljno djelovanje. Gopal et al. (2007) su ustanovili da je primjena azadirachtina izazvala smanjenje fungalne i populacije nitrifikatora, što se može povezati sa potencijalnim antagonističkim interakcijama između prirodnih mikrobnih populacija u zemljištu i populacija u biopreparatu. Zbog toga je uticaj, kako hemijskih, tako i bio-pesticida, podjednako važan za diverzitet mikrobnih populacija u zemljištu.

Pesticidi podliježu različitim procesima u zemljištu (degradacija, transport, adsorpcija, desorpcija), što zavisi od njihove prirode, odnosno hemijske strukture (Laabs et al., 2007) i osobina zemljišta (Weber et al., 2004). Pesticidi stupaju u interakcije sa zemljišnim organizmima i njihovom metaboličkom aktivnošću (Singh i Walker, 2006), čime mogu da izmjene fiziološke i biohemijske osobine mikroorganizama (Hussain et al., 2009). Mikrobnna biomasa je važan indikator mikrobiološke aktivnosti i omogućava direktnu procjenu povezanosti između mikrobiološke aktivnosti i transformacije hranljivih supstanci i drugih ekosistemskih procesa (Schultz i Urban, 2008).

Mnoga istraživanja ukazuju na različit uticaj pesticida na mikrobnu biomasu i respiraciju zemljišta (Pampulha i Oliveira, 2006; Zhou et al., 2006). Smanjenje respiracije se najčešće reflektuje kroz redukciju mikrobne biomase (Klose i Ajwa, 2004), dok je povećanje respiracije povezano sa povećanjem mikrobne aktivnosti (Haney et al., 2000; Wardle et al., 1994). Neke grupe mikroorganizama su sposobne da koriste pesticide kao izvor energije i hranljivih supstanci, dok su za druge populacije pesticidi toksični (Johnsen et al., 2001). Wang et al. (2006) ukazuju da pesticidi redukuju mikrobni diverzitet zemljišta, ali povećavaju funkcionalni diverzitet mikrobnih zajednica, tako da se za pesticide može reći da imaju reverzibilno stimulatивно-inhibitorno djelovanje na mikroorganizme u zemljištu (Pampulha i Oliveira, 2006).

Primjena pesticida u biljnoj proizvodnji može da inhibira razvoj ili uništi određene grupe mikroorganizama, a da stimuliše razvoj drugih grupa, koje se nalaze u kompeticijskom

odnosu sa prvom grupom. Chen et al. (2001) ukazuju da je aplikacija fungicida dovela do uništavanja ili inhibicije nekih grupa gljiva, što je uslovalo porast broja bakterija. Lopez et al. (2006) su ustanovili da se u uzorcima jezerskih voda brojnost populacija heterotrofnih mezofilnih i psihrofilnih akvatičnih bakterija, kao i fosfat-solubilizirajućih mikroorganizama povećava nakon primjene simazina. Ponekad se dešava da pesticidi ispoljavaju samo inicijalno djelovanje na mikrobne populacije, a kasnije, nakon izvjesnog vremena, brojnost mikroorganizama se vraća u prvobitno stanje, ili se čak i povećava (Fließbach i Mader, 2004; Niewiadomska, 2004). Pesticidi mogu da utiču na proces stvaranja kvržica (nodula) i na njihovu sposobnost azotofiksacije ili putem narušavanja procesa infekcije korjenove dlake ili deformacijom korjenskih vlakana gdje se dešava infekcija i formiranje kvržica (Meena et al., 2020). Oni takođe utiču na fitohemijske signale bakterija iz roda *Rhizobium* sp., koji su potrebni za koordinaciju i regulaciju ključnih procesa u azotofiksaciji (Hussain et al., 2009). Neki herbicidi utiču i na morfološke osobine ćelije, tako da dolazi do formacije pleomorfnih ćelija (Hussain et al., 2009). Herbicidi redukuju nodulaciju korijena, formiranje bakteroida, nitrogenaznu aktivnost i sintezu ATP-a bakterija iz roda *Rhizobium* sp. (Milošević i Govedarica, 2002). Primjena herbicida kod soje može da supresivno deluje na rast i aktivnost *Bradyrhizobium* sp. Rast ove bakterije je, ipak, postignut u eksperimentu u laboratorijskim uslovima, dok su, pri ogledu u plasteniku, herbicidi imali značajan uticaj na nodulaciju (Powell et al., 2007). Međutim, na nodulaciju utiče hemijski sastav herbicida i njegove koncentracije, tako da na rast *B. japonicum* nije uticala primjena hlorimuron etila, čak ni u koncentracijama koje su bile i do 150 puta veće od preporučenih (Zawoznik i Tomaro, 2005).

Triazinski herbicidi (terbutrin, simazin, prometrin i bentazon) redukuju funkcionalnost kvržičnih bakterija u koncentracijama većim od preporučenih (Singh i Write, 2002). Nasuprot tome, alahlor, setoksidim i metolahlor u preporučenim koncentracijama nisu pokazali štetni uticaj na intenzitet azotofiksacije i prinos soje. Strandberg i Scott-Fordsman (2004) navode da pendimetalin u koncentraciji od 0,5-1,0 kg/ha usporava proces vezivanja bakterija iz roda *Rhizobium* sp. za biljke. Herbicid 2,4-D ima tendenciju redukcije rasta i aktivnosti cijanobakterija, inhibicije nitrifikacije, a utiče i na proces fiksacije azota. U ćelijskom zidu i citosolu bakterija *Rhizobium* sp. detektovane su rezidue ovog herbicida u značajnim količinama, što predstavlja dokaz uticaja ovog herbicida na stvaranje kvržica (Fabra et al., 1997).

Vrste iz roda *Azotobacter* sp. imaju značajnu ulogu u kruženju azota u prirodi i procesu biološke fiksacije azota (Meena et al., 2020). Ove bakterije su veoma osjetljive na prisustvo

herbicida, čak i pri kratkom izlaganju herbicidima (Milošević i Govedarica, 2002). Inhibicija aktivnosti i rasta i razvoja populacije je uslovljena vrstom i koncentracijom herbicidnih molekula (dos Santos et al., 2005). Nakon 28 dana, biološka aktivnost *Azotobacter* sp. i drugih bakterija je drastično redukovana primjenom prometrina u usjevu soje i suncokreta (Govedarica i sar., 2001). Primjenom herbicida 2,4-D, atraneksa i agroksona, inhibirana je pojava i gustina populacije bakterija *Azotobacter vinelandii*, pri čemu je povećanje koncentracije herbicida uticalo na dalje smanjenje populacije bakterije. Populacija *Azotobacter* sp. je redukovana i primjenom dimetenamida i metolahlora u usjevu šećerne repe (Govedarica i sar., 2001).

Herbicidi redukuju intenzitet nekih biohemijskih procesa, koje katališu zemljišni mikroorganizmi, i enzimskih reakcija, koje su ključne za održavanje ili povećanje zemljišne plodnosti (Kinney et al., 2005). U ove procese ubrajaju se mineralizacija, transformacije hranljivih supstanci, kao što su nitrifikacija, amonifikacija i denitrifikacija (Kinney et al., 2005), redoks reakcije, metanogeneza (Mahia et al., 2008) itd. Acetohlor i njegovi derivati su ispoljili toksično dejstvo na bakterije *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* i *Mycobacterium phlei*, koje obavljaju transformacije azota (Virag et al., 2007). Atrazin i simazin u koncentraciji od 10 mg/L u potpunosti usporavaju rast i biološku aktivnost bakterije *Xanthobacter autrophicus* (Saez et al., 2005). Alahlor i atrazin su se negativno odrazili na funkcionisanje bakterija, koje su odgovorne za amonifikaciju, i dehidrogenaznu aktivnost (Demanou et al., 2006). Detaljan opis uticaja različitih pesticida na mikrobne zajednice u zemljištu prikazan je u tabeli 8.

Tab. 8. Efekat pesticida na aktivnost mikroorganizama (Hussain et al., 2009, modifikovano)

Pesticid	Mikroorganizmi	Uticao
Atrazin, isoproturon, metribuzin i sulfosulfuron	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	Različit uticaj
Metsulfuron metil	Zemljišni mikroorganizmi	Inhibira sumporne bakterije i povećava brojnost gljiva
Metalaksil	Mikrobna biomasa	Smanjenje mikrobne biomase
Karbofuran	Zemljišni mikroorganizmi	Različit uticaj
Malation	Zemljišni mikroorganizmi, nitrifikatori i denitrifikatori	Povećanje broja denitrifikatora, bez uticaja na nitrifikatore i gljive
Kaptan	<i>Rhizobium ciceri</i>	Smanjenje brojnosti
2,4-D	<i>Rhizobium</i> sp.	Smanjenje brojnosti
Atrazin	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> , <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Smanjenje brojnosti algi

-nastavak tabele 8

Pesticid	Mikroorganizmi	Utica
Butahlor	Anaerobne bakterije	Stimulacija anaerobnih fermentativnih i sulfat-redukujućih bakterija i inhibicija acetogenih bakterija
Metilpirimifos Hlorpirifos Profenofos	Aerobni azotofiksatori, denitrifikatori, nitrifikatori, gljive	Smanjenje brojnosti mikroorganizama
Glufosinat amonijum	Bakterije i gljive	Značajno smanjenje brojnosti bakterijskih i fungálnih populacija

2.7.4. Faktori koji utiču na efekat pesticida na zemljišne mikroorganizme

Efekat pesticida na zemljišne mikroorganizme uslovljen je, osim karakteristika pesticida, (perzistentnost, koncentracija, toksičnost i td.) i nizom ekoloških činilaca (Abdel-Mallek et al., 1994). Jedan od glavnih faktora koji doprinosi uticaju primjene pesticida na mikroorganizme u zemljištu je njegova biodostupnost. Procesi adsorpcije i desorpcije regulišu koncentraciju polutanata u zemljišnom rastvoru (Bonczek i Nkedi-Kizza, 2007; Katagi, 2008), a samim tim i njegovu bioaktivnost i mogućnost degradacije u zemljišnom ekosistemu. Menon et al. (2004) su utvrdili da primjena hlorpirifosa i kvinalfosa djeluje znatno inhibitornije u pjeskušama u odnosu na ilovače zbog veće biodostupnosti u pjeskušama, što se može povezati sa manjim sadržajem gline i organskog ugljenika. Gundi et al. (2005) su ispitivali uticaj tri insekticida (monohrotofos, kvinalfos i cipermetrin) na mikrobne populacije. Pri nižim koncentracijama ovih insekticida, utvrdili su sinergistički efekat primjene, dok pri visokim koncentracijama zabilježili su različit efekat na različite mikrobne populacije. Sa druge strane, ustanovljen je toksični efekat primjene kaptana, deltametrina, izoproturona i pirimikarba na akvatične mikrobne populacije, iako su se primjenjene koncentracije smatrale bezopasnim po životnu sredinu (Widenfalk et al., 2004).

Prisustvo organske materije i biljnog pokrivača takođe su važni faktori koji utiču na toksičnost pesticida za mikrobne populacije u zemljištu. Dodavanje izvora ugljenika (glukoze, acetata ili nekih aminokiselina – glutamina, arginina, serina i triptofana) povećavaju rezistentnost nekih gljiva prema toksičnosti pesticida (Mishra i Pandey, 1989). Ovaj efekat je podložan promjenama, u zavisnosti od prisustva ili odsustva obrade zemljišta. U neobrađenim zemljištima agregacija mehaničkih frakcija je veća (Murage et al., 2007), što utiče na promjene organske materije, koje su direktno vezane za mikrobiološku aktivnost i diverzitet. Santos et al. (2006) su ispitivali efekat primjene herbicida fluazifop-*p*-butila i fomesafena i njihovih

komercijalnih mješavina na mikrobiološku aktivnost neobrađenog i obrađenog zemljišta. Ovi autori su ustanovili visok stepen mikrobne respiracije u neobrađenom zemljištu. Fomesafen i mješavina herbicida su negativno uticali na mikrobnu biomasu. Mikrobna biomasa bila je izraženija u neobrađenom zemljištu u odnosu na obrađeno.

U prirodi, obično se veći broj pesticida ili drugih polutanata nalazi u zemljištu. Prisustvo većeg broja polutanata zajedno sa pesticidima na jednoj lokaciji može imati različito djelovanje na mikrobiološku aktivnost i diverzitet mikrobnih populacija. Wang et al. (2006) su ispitivali efekat metamidofosa i uree na mikrobni diverzitet zemljišta i ustanovili da primjena agrohemijskih smanjuje mikrobnu biomasu, ali povećava funkcionalni diverzitet mikrobnih zajednica u zemljištu. Slična istraživanja obavili su i Demanou et al. (2006), koji su ispitivali kombinovanu primjenu bakra i mefenoksama na funkcionalni diverzitet mikrobnih zajednica i ustanovili povećanje nitrifikacione aktivnosti. Ovi autori smatraju da efekat simultane primjene različitih vrsta pesticida na mikrobni diverzitet može da značajno varira. Tako su Saez et al. (2006) pratili efekat nekih pesticida (aldrin, lindan, dimetoat, metil paration, metidation, atrazin, simazin, kaptan i diflubenzuron) na rast i denitrifikacionu aktivnost bakterije *Xanthobacter autotrophicus* CECT 7064. Primjena herbicida atrazina i insekticida dimetoata u koncentraciji od 10 mg/L kompletno je inhibirala rast i aktivnost ove bakterije, dok su ostale koncentracije usporile njen rast; pri tome, nakon 96h inkubacije autori nisu ustanovili drastičan efekat na bakterijski rast. Svi primjenjeni pesticidi imali su nepovoljno djelovanje na denitrifikacionu aktivnost, osim fungicida kaptana. Stepenn inhibicije denitrifikacione aktivnosti je bio veoma visok nakon tretmana aldrinom, lindanom, metil parationom, metidationom i diflubenzuronom, dok su dimetoat, atrazin i simazin potpuno inhibirale denitrifikacionu sposobnost ovog bakterijskog soja. Wang et al. (2007) su ispitivali efekat primjene kadmijuma i butahlora na mikrobnu aktivnost i zaključili da visoka koncentracija butahlora primjenjenog u kombinaciji sa kadmijumom značajno utiče na diverzitet mikrobnih zajednica.

Također, prisustvo drugih pesticida i đubriva može da ima posljedice po mikrobni diverzitet i aktivnost u zemljištu. Chen et al. (2007) i Lin et al. (2007) su ispitivali kombinovani uticaj neorganskih đubriva, teških metala i pesticida na mikrobne populacije u zemljištu. Nakon aplikacije, pesticidi podliježu mnogobrojnim biohemijskim, fizičkim i hemijskim transformacijama i formiraju različite metabolite, od kojih su neki još perzistentniji ili toksičniji, dok su drugi bezazleni za živi svijet u zemljištu, što, prije svega, zavisi od vrste organizama i karakteristika metabolita. Virag et al. (2007) su ispitivali uticaj fotosenzitivnih

pesticida i njihovih produkata degradacije na mikrobiološku aktivnost. Ustanovili su da su acetohlor i produkti njegove degradacije imali toksičnije djelovanje na bakterije nego na gljive i da su sve bakterije bile osjetljive na herbicide i njihove produkte degradacije. Produkti degradacije karbendazima bili su srednje toksični za *Pseudomonas fluorescens* i *Bacillus subtilis* i vrlo toksični za *Trichoderma harzianum*. Hlorpirifos i njegovi produkti degradacije nisu inhibirali rast test organizama. Autori zaključuju da fotodegradacija herbicida izaziva značajne promjene u strukturi mikrobnih zajednica, jer dolazi do nastanka biološki štetnih degradacionih produkata. Smith i Beadle (2008) takođe ukazuju na toksičnost herbicida 2,4-D i njegovih metabolita za bakteriju *Burkholderia cepacia*.

2.7.5. Primjena nikosulfurona u biljnoj proizvodnji i uticaj na mikrobni diverzitet zemljišta

Nikosulfuron pripada grupi sulfonil urea. Široko je rasprostranjen u biljnoj proizvodnji i koristi se za uništavanje širokog spektra širokolisnih korova (Šantrić et al., 2018), posebno u proizvodnji kukuruza (Huang et al., 2007; Xu et al., 2009). Karakteriše se dobrom selektivnošću (Šantrić et al., 2014) i inhibiranjem aktivnosti enzima acetolaktat sintaze, koja predstavlja ključni enzim biosinteze razgranatih lanaca aminokiselina (Schloss, 1990), kao što su valin, leucin i izoleucin, što ima za posljedicu inhibiciju biljnog rasta (Carles et al., 2018). Herbicidi koji sadrže nikosulfuron egzistiraju u čvrstim (Green i Hale, 2005) i tečnim formulacijama (Waligora i Szpurka, 2009). Može se primjenjivati folijarno i preko korijena. Nikosulfuron predstavlja slabu kiselinu sa konstantnom disocijacije pKa 4,3 (Green i Hale, 2005; Regitano i Koskinen, 2008). Zbog toga se herbicidi iz grupe sulfonil urea slabo absorbuju u zemljištu, posebno ukoliko je pKa veća (Martins i Mermoud, 1999). Nikosulfuron se često koristi zajedno sa nejonskim surfaktantima, uljima, estrima i mineralnim đubrivima (Extoxnet, 2010). Korovi ga usvajaju preko lista i korijena i translociraju ga floemom i ksilemom. Primjenjuje se u usjevu kukuruza poslije nicanja (postemergence), i to za suzbijanje jednogodišnjih travnih korova kao što su *Setaria viridis*, *Echinochloa crus-galii*, *Digitaria sanguinalis*, *Panicum* sp., *Lolium* i *Avena fatua*, višegodišnjih korova uključujući *Sorghum halepense* i *Agropyron repens* (Janjić, 2002) i širokolisnih korova (*Amaranthus* spp., *Chenopodium album*, *Matricaria chamomilla*, *Solanum nigrum*, *Sinapis* spp., *Stellaria media*, *Galium aparine*, *Polygonum* spp, *Sonchus arvensis* i dr.).

Njegova hemijska degradacija se uglavnom obavlja kroz procese oksidacije, redukcije i hidrolize (Green i Hale, 2005). Istraživanja koja su obavili Benzi et al. (2011) ukazuju da je hidroliza glavni put degradacije herbicida iz grupe sulfonil urea, pri čemu se odigravaju reakcije supstitucije radikala pomoću hidroksilne grupe molekula vode.

Vrijeme potrebno za degradaciju nikosulfurona zavisi u velikoj mjeri od prisustva ili odsustva kiseonika. Vrijeme poluraspada nikosulfurona prema jednim istraživanjima u aerobnim uslovima u zemljištu je iznosilo 24-43 dana, a u vodi je iznosilo 15 dana (McBean, 2012), a prema drugim istraživanjima, u aerobnim uslovima degradacije, vrijeme poluraspada (DT_{50}) iznosi oko 26 dana, dok u anaerobnim uslovima, oko 6 mjeseci (Roberts, 1998). Vrijeme poluraspada nikosulfurona zavisi, između ostalog, i od fizičkih karakteristika zemljišta. U glinovitim zemljištima, vrijeme poluraspada iznosi do 63 dana, dok u ilovačama je nikosulfuron mobilan i dopijeva u dublje slojeve zemljišta. Soltani et al. (2005) ističu da je vrijeme raspada sulfonilurea herbicida u zemljištu od nekoliko nedelja do tri ili više godina.

Nikosulfuron se može klasifikovati kao nisko do umjereno perzistentan u zemljištu ($DT_{50} = 7-46,3$ dana) (EFSA, 2007). Rezidue nikosulfurona se često detektuju u zemljištu, površinskoj vodi i pojedinim usjevima (Liu et al., 2012; Wu et al., 2010).

I pored niskih preporučenih koncentracija za primjenu u biljnoj proizvodnji u evropskim zemljama od oko 60 g aktivne materije/ha (CE 1107/2009), molekuli nikosulfurona su često detektovani u površinskim i podzemnim vodama (Carles et al., 2018), industrijskim otpadnim vodama i zemljištu (Feng et al., 2017). Ovakva rasprostranjenost nikosulfurona u životnoj sredini je, prije svega, vezana za mobilnost (Carles et al., 2018), koja proističe iz njegove dobre rastvorljivosti (Regitano i Koskinen, 2008; Trigo et al., 2014; Azcarate et al., 2015). Nikosulfuron, zbog svoje mobilnosti, ima sposobnost prodiranja u dublje slojeve zemljišta (Ahmadi et al., 2016).

Koncentracije nikosulfurona u različitim podzemnim vodama Kanade, SAD-a i Evrope značajno variraju; u prosjeku iznose 0,3-0,5 (de Lafontaine et al., 2014; Moschet et al., 2014) do 3,29 $\mu\text{g/l}$ (Battaglin et al., 2009). Zbog toga, česta detekcija nikosulfurona u podzemnim vodama dovela je do njegove hronične izloženosti akvatičnim mikrobnim zajednicama, koje imaju mogućnost razvoja niza adaptacionih mehanizama na prisustvo nikosulfurona u njihovom okruženju (Carles et al., 2018). Tako reakcija akvatičnih gljiva na prisustvo organskih polutanata zavisi od trajanja prisustva polutanta u životnoj sredini. Akutno prisustvo pesticida uslovljava početnu reakciju gljiva u vidu oksidativnog „napada“ u intraćelijskim (pomoću citohrom monooksigenaze P-450) i ekstraćelijskim (pomoću peroksidaza i lakaza) prostorima. Slijedi metilacija ili konjugacija, pri čemu se povećava rastvorljivost molekula i njegovo oslobađanje iz ćelija (Krauss et al., 2011). Poslije hroničnog izlaganja, gljive mogu da mineralizuju polutant više ili manje efikasno.

Najveći broj istraživanja u vezi sa osjetljivošću gljiva prema djelovanju nikosulfurona obavljeno je u zemljištu. Zemljišne gljive su posebno osjetljive ukoliko se nikosulfuron često primjenjuje u većim koncentracijama od preporučenih, što se može povezati sa prisustvom enzima acetolaktat sintaze u mnogim vrstama gljiva (Karpouzas et al., 2014). Sa druge strane, Petric et al. (2016) su konstatovali da povećane doze nikosulfurona utiču na povećanje brojnosti bakterija u zemljištu. Ova tolerantnost je raširena kod zemljišnih bakterija, posebno u okviru kola *Firmicutes* i *Actinobacteria*. Carles et al. (2017) ukazuju na veću raznovrsnost reakcije akvatičnih mikrobnih zajednica na prisustvo nikosulfurona u odnosu na kopnene. Dok hronična izloženost nikosulfurona povećava diverzitet gljiva u akvatičnim mikrobnim zajednicama povezanih sa prisustvom razložene organske mase, diverzitet bakterija je slabije izražen. Sposobnost mikrobnih populacija da obave degradaciju nikosulfurona svakako je uslovljena i dužinom trajanja prisustva ovog polutanta na određenom lokalitetu (Carles et al., 2017). Za degradaciju nikosulfurona u prirodnim akvatičnim sredinama potrebno je oko 70 dana (Cessna et al., 2015).

Mnogi autori su opisali i biotičku i abiotičku degradaciju nikosulfurona. Sarmah i Sabadie (2002) su konstatovali hemijsku hidrolizu u biotičkom degradacionom procesu, pri čemu se stepen degradacije povećava sa smanjenjem pH vrijednosti (Berger i Wolfe, 1996). Ova pojava je potvrđena kod vrste *Penicillium oxalicum* YC-WM1, gdje je do degradacije nikosulfurona došlo usljed umjerene acidifikacije, koja je posljedica sekrecije oksalne kiseline od strane gljive (Feng et al., 2017). Jedinjenja 2-amino-4,6-dimetoksipirimidin (ADMP) i 2-(aminosulfonil)-*N,N*-dimetil-3-piridinkarboksamid (ASDP) su označena kao krajnji produkti degradacije (Sarmah i Sabadie, 2002). Biotičku degradaciju nikosulfurona obavljaju i drugi mikroorganizmi, kao što su *Ochrobactrum* sp. ZWS16 (Zhao et al., 2015), *Klebsiella* sp. Y1 (Wang et al., 2016), *Serratia marcescens* N80 (Zhang et al., 2012), *Aspergillus niger* YF1 (Yang et al., 2008; Lu et al., 2012) itd. U najvećem broju istraživanja, ADMP i ASDP su detektovani kao produkti degradacije. Svi sojevi su izolovani sa lokacija koje su bile pod direktnim uticajem čovjeka (postrojenje za preradu otpadnih voda, poljoprivredna zemljišta), mada sposobnost degradacije nikosulfurona u krajnjim receptorima (npr. rijekama) pomoću sojeva mikroorganizama nije dovoljno ispitana (Carles et al., 2018). Što se tiče abiotičke degradacije, pet različitih foto-produkata degradacije nikosulfurona je detektovano u vodenoj sredini (Benzi et al., 2011), mada se smatra da je ovakav način degradacije manje značajan (EFSA, 2007).

3. RADNA HIPOTEZA

Doktorska disertacija pod naslovom "**Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu**" ima za cilj istraživanje sorpcije, tj. adsorpcije i desorpcije nikosulfurona u zemljištu, njegove degradacije u zemljištu i uticaja nikosulfurona na aktivnost mikroorganizama u zemljištu. U ovoj doktorskoj disertaciji utvrdit će se zakonomjernosti adsorpcije i desorpcije nikosulfurona, a što je uslov za dobijanje potrebnih informacija o pokretljivosti herbicida i raspodjeli herbicida u zemljištu i kasnijoj degradaciji istog. Ovako utvrđena zakonomjernost bi se mogla koristiti za procjenu ispiranja herbicida kroz profil zemljišta, ali i za procjenu raspoloživosti hemikalija za razgradnju, isparavanje iz zemljišta, ispiranje u podzemne vode, kao i površinskog oticanja. Doktorska disertacija sastoji se od 3 uzajamno povezane hipoteze:

- Adsorpcija primijenjenog nikosulfurona zavisi od mehaničkog sastava zemljišta, sadržaja humusa, pH zemljišta i kapaciteta razmjene kationa (CEC);
- Degradacija nikosulfurona zavisi od početne količine herbicida, vremena koje protekne od aplikacije herbicida, mikrobioloških osobina zemljišta i fizičko- hemijskih osobina zemljišta;
- Mikrobiološka aktivnost zemljišta je smanjena nakon aplikacije nikosulfurona, a u kasnijim fazama tokom razlaganja herbicida povećana.

Proučavanjem adsorpcije i desorpcije nikosulfurona utvrđuje se zavisnosti sorpcije nikosulfurona od karakteristika zemljišta. Istraživanjem degradacije nikosulfurona, kroz praćenje sadržaja ostataka herbicida u zemljištu, od početne količine nikosulfurona i vremenskog intervala od primjene herbicida, moći će se utvrditi zakonomjernost degradacije nikosulfurona od posmatranih faktora (količina primjene i vrijeme). Primjenom ostvarenih rezultata odrediće se poluvrijeme razgradnje (DT_{50}) nikosulfurona u analiziranim tipovima zemljišta, čime će se utvrditi uticaj karakteristika zemljišta na perzistentnost nikosulfurona i njegovo potencijalno fitotoksično djelovanje na naredne usjeve u plodoredu.

Istraživanje uticaja nikosulfurona na brojnost i zastupljenost sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama u zemljištu radilo se paralelno sa adsorpcijom. Ispitana je povezanost između degradacije nikosulfurona u funkciji vremena i doze, sa promjenom mikrobne aktivnosti u zemljištu.

4. MATERIJAL I METODE RADA

4.1. Karakteristike primjenjenog nikosulfurona

Nikosulfuron (*Nicosulfuron*) koji je korišćen u istraživanju sorpcije herbicida je bio u obliku referentnog analitičkog standarda nikosulfurona (96%) dobijenog Dr. Ehrenstorfer™, Chemical Manufacturing, Augsburg, Bavaria, Njemačka. Osnovne fizičko-hemijske osobine aktivne supstance nikosulfuron prikazane su u tabeli 9.

Tab. 9. Karakteristike nikosulfurona (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm>, preuzeto 13. 12. 2021.)

Hemijske i fizičke osobine					
IUPAC naziv	2-[(4,6-dimetoksipirimidin-2-ilkarbamoil)sulfamoil]-N,N-dimetilnikotinamid				
CAS naziv	2-((((4,6-dimetoksi-2-pirimidinil)amino)karbonil)amino)sulfonil)-N,N-dimetil-3-piridinekarbokaamid				
Empirijska formula	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S		Molekulska masa	410,41 g·mol ⁻¹	
Rastvorljivost u vodi	7500 mg·L ⁻¹ =7,5 g·L ⁻¹ (na 20°C)				
Rastvorljivost u organskim rastvaračima (na 20°C)	Aceton		8900 mg·L ⁻¹		
	Dihlorometan		21300 mg·L ⁻¹		
	Metanol		400 mg·L ⁻¹		
	Etil acetat		2400 mg·L ⁻¹		
Tačka topljenja	145°C	Tačka ključanja	Degradira prije ključanja	Tačka degradacije	
K _{ow}	P= 4,7	Gustina	0,31 g·mL ⁻¹	Henrijeva konstanta	
	log P= 0,61	Napon pare		8,00×10 ⁻⁷ mPa (na 20°C)	Površinski napon
					150°C
					1,48×10 ⁻¹¹ Pa·m ³ ·mol ⁻¹
					71 mN·m

Herbicid korišten u istraživanju degradacije nikosulfurona u zemljištu je u obliku komercijalnog preparata pod nazivom Talisman, proizvođača „Galenika-Fitofarmacija“ d.d. iz Beograda. Osnovne karakteristike preparata, utvrđene su:

- Naziv preparata: Talisman
- Sadržaj aktivne supstance (deklarirano): 40 g/L
- Sadržaj aktivne supstance (utvrđeno): 43,7±0,2 g/L
- Formulacija: Koncentrovana uljna suspenzija (OD)
- Zapreminska masa: 0,956 g/cm³
- pH Vrijednost (za 1%-tnu suspenziju): 3,85±0,11
- Postojanost pjene:
 - Nakon 10 sekundi: 1 cm³
 - Poslije 1 minuta: bez pjene
 - Poslije 3 minuta: bez pjene
 - Poslije 12 minuta: bez pjene

4.2. Karakteristike zemljišta korištenog u istraživanju

Uzorci zemljišta za ispitivanje sorpcije uzeti su sa devet lokacija iz različitih područja Bosne i Hercegovine sa dubine 0-10 cm. Uzorci zemljišta su prije daljih analiza prosijani kroz sito (2 mm) i vazdušno osušeni prirodnim putem. Tekstura zemljišta je analizirana tradicionalnom metodom sa 0,1 mol/L Na-pirofosfata. Određivanje organskog ugljika u zemljištu zasniva se na metodi mokre oksidacije, korištenjem kalij-dihromata kao oksidanta (Predić i sar. 2019). Od hemijskih parametara, ispitani su pH vrijednost uzoraka zemljišta u H₂O i KCl metodom ISO 10390 (1994) i sadržaj humusa dihromatnom metodom (ISO 14235, 1998). Sadržaj humusa definisan je prema Gračaninu (1947). Kapacitet katjonske razmjene (engl. *Cation Exchange Capacity*) je izražen u mmoleq/100g zemljišta.

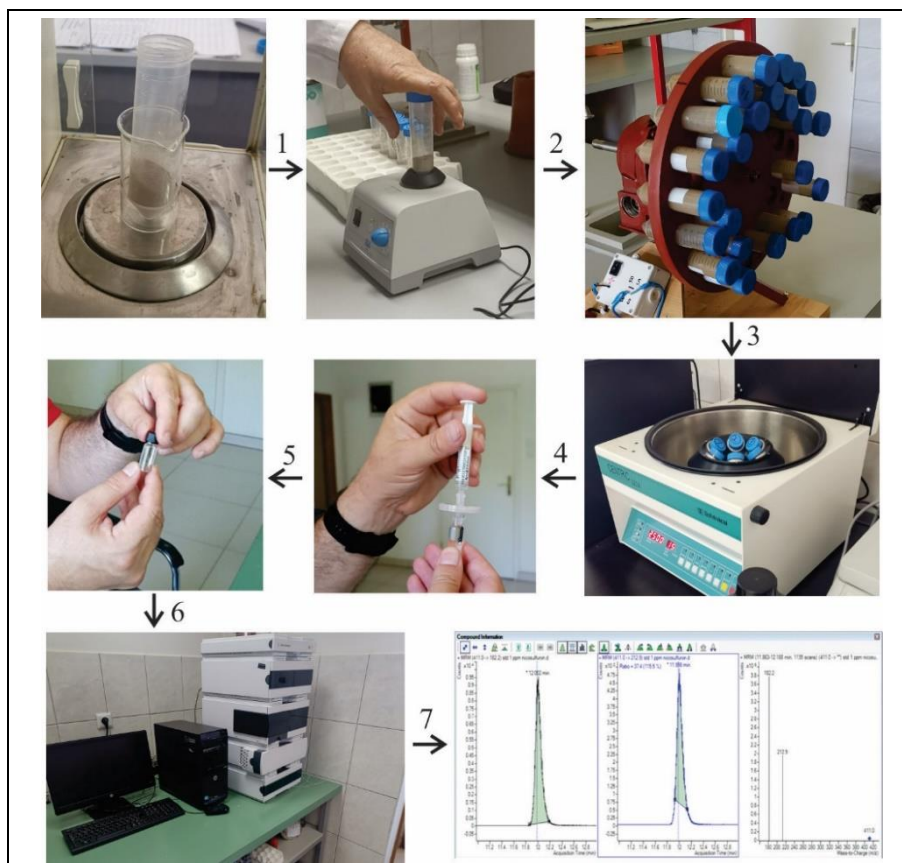
4.3. Metode istraživanja adsorpcije nikosulfurona u zemljištu

Adsorpcija nikosulfurona u zemljištu- Freundlich-ova adsorpciona izoterma.

Metoda za određivanje adsorpcije/desorpcije nikosulfurona u zemljištu je metoda šaržnog ispitivanja u ravnoteži i odgovara smjernici OECD TG 106. Freundlich-ova adsorpciona izoterma, tj. Freundlich-ovi adsorpcioni pokazatelji su urađeni za devet uzoraka zemljišta (n=9). Uzorci zemljišta su prvo vazdušno osušeni, usitnjeni i prosijani kroz sito 2 mm. U usitnjeni i pripremljeni uzorak zemljišta mase 3 grama dodato je po 6 mL rastvora nikosulfurona u 4 početne koncentracije (slika 6). Početna koncentracija nikosulfurona (C_i) u acetonitrilu (ACN) je bila u intervalu od 0,005415 do 0,04332 mg/mL (tabela 10).

Tab. 10. Pregled početnih koncentracija nikosulfurona rastvorenog u acetonitrilu (ACN)

Početna koncentracija nikosulfurona (C _i)	
Koncentracija nikosulfurona mg/mL	mg nikosulfurona u 6 mL ACN
0,005415	0,03249
0,01083	0,06498
0,02166	0,12996
0,04332	0,25992



Slika 6. Priprema uzorka za utvrđivanje adsorpcije nikosulfurona u zemljištu

Smješa zemljišta i rastvora nikosulfurona u ACN je homogenizovana u vorteksu 30 sekundi, a potom su uzorci stavljeni u horizontalnu mućalicu za ekvibraciju 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon mućkanja, uzorci su centrifugirani na 6000 rpm tokom 15 min. Supernatant je filtriran kroz najlonski filter sa prečnikom pora od 0,45 μm , nakon čega je određen sadržaj nikosulfurona u supernatantu. Sadržaj nikosulfurona je određen pomoću tečnog hromatografa visoke efikasnosti sa Diode Array Detector (HPLC- DAD, Agilent 1260 Infinity) koristeći EC-C18 kolonu (Poroshell-120, 4,6x50 mm, 2,7 μm) i mjereći apsorpciju na 245 nm. Mobilna faza se sastoji od 70% ACN i 30% zakišeljene vode (0,1% HAc). Injekcioni volumen bio je 10 μL , protok 0,55 mL/min, a temperatura kolone 25°C (slika 6).

Provjera učinka ekstrakcije nikosulfurona u zemljištu. Provjera učinka ekstrakcije urađena je sa ciljem da se utvrdi da li se sav prethodno dodani nikosulfuron nalazi u zemljištu. Provjera je rađena tako da je ostatku (talogu) zemljišta ponovo dodato 6 mL ACN i poslije kratkog vorteksovanja (30 s), sadržaj je ponovo mućkan 24 sata i ponovljen je isti postupak centrifugiranja, filtriranja i analize sa HPLC-DAD. Utvrđeno je da se cjelokupna količina

dotatog nikosulfurona zaista nalazi u zemljištu. Analiza je rađena u Laboratoriji za ekotoksikologiju i analitiku pesticida Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci.

Hemikalije i HPLC analiza. Analitički standard nikosulfurona (96%) je Dr. Ehrenstorfer, Njemačka. Acetonitril, HPLC kvaliteta, je "J. T. Baker" (Darmstadt, Njemačka), dok je ultračista voda proizvođača Merck (Milano, Italija).

4.4. Metode istraživanja degradacije nikosulfurona u zemljištu

Postavka ogleda za istraživanje degradacije nikosulfurona. Dinamika degradacije nikosulfurona praćena je u 3 tipa zemljišta. Netretirano zemljište uzorkovano je u proljeće 2020. godine, na lokalitetu Manjaća (laboratorijska oznaka MAN53), Kosjerovo (laboratorijska oznaka KOS77) i Tunjice (laboratorijska oznaka TUN65). Karakteristike zemljišta prikazane su tabelama 21 i 22.

Nakon uzorkovanja, zemljište je vazdušno osušeno, usitnjeno i prosijano kroz sito promjera 2 mm. Analiza je provedena u 4 vremenska intervala, 3 koncentracije i 3 ponavljanja, što je ukupno 36 uzoraka za jedan tip zemljišta, odnosno ukupno 108 uzoraka za sve tri tipa zemljišta.

Nikosulfuron (preparat Talisman, 40 g/L a.s., OD formulacije) je ravnomjerno primijenjen na 500 g zemljišta u masenim udjelima nikosulfurona od 0,075, 0,15, 0,30 mg a.s./kg zemljišta, uključujući kontrolu koja nije sadržavala nikosulfuron (tabela 11). Radni rastvor herbicida potrebne koncentracije da bi se ostvario početni maseni udio nikosulfurona u zemljištu je u zapremini od 70 mL pomiješan sa 500 g zemlje i stavljen u saksije. Zemljište je na ovaj način čuvano 40, 30, 10 i 0 (nula) dana na sobnoj temperaturi, a uzorkovanje je izvedeno na kraju planiranih vremenskih intervala tako što je zemljište dodatno promiješano i izdvojeno oko 100 grama zemljišta. Ovi uzorci su usitnjeni u avanu, nakon čega su formirani uzorci od 10 grama zemljišta za dalju analizu. Preostalo zemljišta iz saksija je korišteno za mikrobiološka istraživanja.

Tab. 11. Pregled početnih masenih udjela nikosulfurona i koncentracija radnih rastvora za istraživanje degradacije nikosulfurona u zemljištu.

Početni maseni udio nikosulfurona (mg a.s./kg zemlj.)	Zapremina r.r. po saksiji (mL r.r./500 g zemlj.)	Koncentracija mg a.s. u r.r.	
		mg a.s./70 mL r.r.	mg a.s./1 L r.r.
0,075	70	0,0375	0,535
0,15	70	0,075	1,071
0,30	70	0,15	2,142

Legenda: r.r.= radni rastvor

Priprema uzoraka za izdvajanje nikosulfurona iz zemljišta. Izdvajanje nikosulfurona iz zemljišta izvedeno je modifikovanom QuEChERS metodom. Količina od 10 g uzorka prenijeta je u polipropilensku kivetu od 50 ml. Ovako pripremljenom uzorku dodato je 3 mL dejonizovane vode i 10 mL acetonitrila zakišelnog sa CH_3COOH (1%), potom je ručno mućkano 1 min, a zatim na vorteksu 1 min. Poslije toga dodata je puferska smješa soli (QuEChERS Extract Pouches, EN Method Cat. No. 5982/5650; 4 g MgSO_4 , 1 g NaCl , 1 g trisodium citrata dihidrata, 0,5 g disodium hidrogencitrata seskvhidrata), još jednom je ručno mućkano u vremenu od 1 minute i na vortexu u trajanju od 1 minute. Zatim su kivete prenijete u ultrazvučno vodeno kupatilo u vremenu od 10 minuta, a nakon toga na centrifugiranje pri 4000 obrtaja/min u vremenu od 5 minuta. Na ovaj način, od čvrstog dijela odvojen je tečni dio – supernatant, koji je špricom (od 2 mL) prenijet i profiltriran ($0,45 \mu\text{m}$) u obilježene viala, pažljivo, da ne bi došlo do zamućenja izdvojenog dijela ostatkom, odnosno talogom zemljišta. Do analize tečnom hromatografijom, viala se odlažu u frižider (slika 7).



Slika 7. Priprema uzoraka za izdvajanje nikosulfurona iz zemljišta radi utvrđivanja degradacije

Analiza ostataka nikosulfurona. Količina nikosulfurona prisutnog u zemljištu analizirana je primjenom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom (LC-MS/MS Agilent 1260 Infinity II sa Triple Quadrupole sistemom 6420), na Institutu za vode u Bijeljini.

Validacija metode ekstrakcije i određivanja nikosulfurona u zemljištu izvedena je u skladu sa SANTE/2020/12830, Rev.1 24. February 2021 standardima za ovaj tip analize. Standard zahtjeva provjeru linearnosti odziva detektora, ponovljivosti, prinos ekstrakcije i limita detekcije i kvantifikacije. Linearnost se utvrđuje kroz opseg analitičkog postupka i predstavlja se regresionom jednačinom. Definiše se kao mogućnost da se u datom opsegu

detektuje signal koji je direktno proporcionalan koncentraciji ili količini analita. Opseg linearnosti zavisi od prirode analita i tipa detektora. U linearnom opsegu regresioni koeficijent r treba da bude $r > 0,999$, a odsječak na ordinate y_0 ne treba značajno da odstupa od nule. Parametar r predstavlja stepen rasturanja tačaka oko idealne prave linije $0 \leq r \leq 1,000$, dok y_0 vrijednost predstavlja indikator postojanja problema uticaja matriksa ili gubitka analita adsorpcijom na zidovima sudova ili degradacijom (Onjia i sar., 2002). Linearnost se utvrđuje kroz opseg analitičkog postupka i predstavlja se regresionom jednačinom.

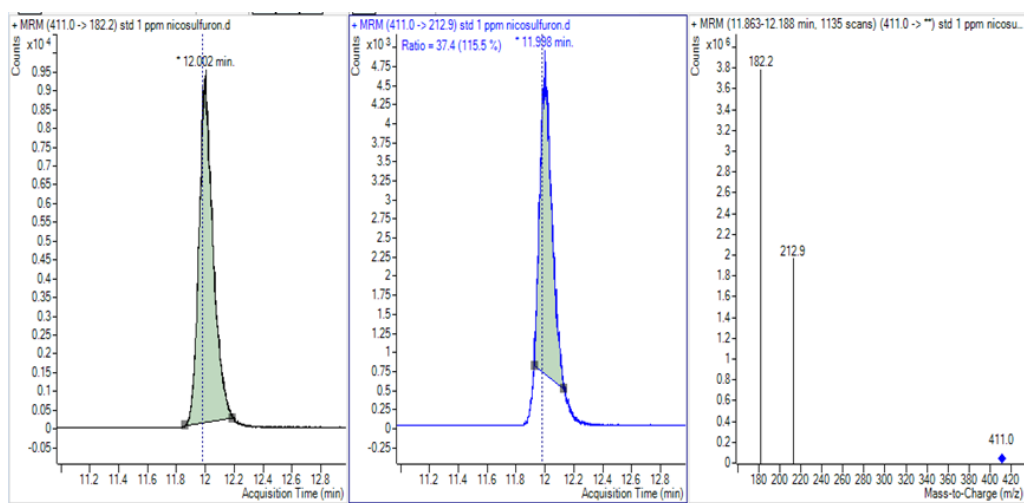
Preciznost analitičke metode izražava blizinu slaganja (stepen rasipanja) između vrijednosti niza mjerenja dobijenih iz višestrukih uzorkovanja istog homogenog uzorka pod propisanim uslovima. Preciznost se najčešće izražava kao standardna devijacija ili koeficijent varijacije. Za određivanje preciznosti treba uraditi najmanje pet analiza, sa RSD vrijednosti $\leq 20\%$ (SANCO/3029/99).

Određivanje prinosa ekstrakcije podrazumijeva provjeru tačnosti metode, odnosno stepena saglasnosti između vrijednosti dobijene u postupku i stvarne vrijednosti. Određivanje se vrši poređenjem dobijenih rezultata sa rezultatima postignutim primjenom sertifikovanog referentnog materijala (SRM), odnosno netretiranog uzorka. Tačnost se najčešće izražava kao procenat analitičkog postupka „*recovery*“ za poznatu dodatnu količinu analita u uzorcima.

Limit detekcije (LOD = *limit of detection*) predstavlja najmanju koncentraciju ispitivane supstance u uzorku koja može biti registrovana (detektovana), ali nije potrebno da bude i određena, dok je limit kvantifikacije (LOQ = *limit of quantification*) najmanja koncentracija ispitivane supstance u uzorku koja može biti određena sa prihvatljivom preciznošću i tačnošću. Limiti detekcije i kvantifikacije određuju se na osnovu odnosa signal/šum, S/N, bazne linije. S/N se određuje mjerenjem signala analita koji se nalazi u niskoj koncentraciji i uzorka bez analita, pri čemu se utvrđuje najniža koncentracija analita koju je moguće detektovati. Limit detekcije je vrijednost koncentracija koja daje S/N=3. Limit kvantifikacije određuje se analogno određivanju LOD, prema S/N=10.

Metoda određivanje ostataka nikosulfurona u zemljištu. Za analizu ostataka nikosulfurona u zemljištu korišten je instrument LC-MS/MS Agilent 1260 Infinity II sa Triple Quadropole sistemom 6420. Mobilna faza je bila A: voda, mravlja kiselina, amonijum formijat i B: metanol, mravlja kiselina, amonijum formijat. Kolona je InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (2,1×150 mm, 4 microns). Metoda je interna, QuEChERS metoda za određivanje pesticida u zemljištu (QuEChERS Extract Pouches, EN Method Cat. No. 5982/5650; 4g MgSO₄, 1 g NaCl, 1g trisodium citrata dihidrata, 0,5 g disodium hidrogencitrata seksvhidrata). Najbolje

LC/MS/MS određivanje nikosulfurona ostvareno je pod uslovima datim u tabeli 12. Na slici 8 su hromatogrami nikosulfurona pod navedenim uslovima.

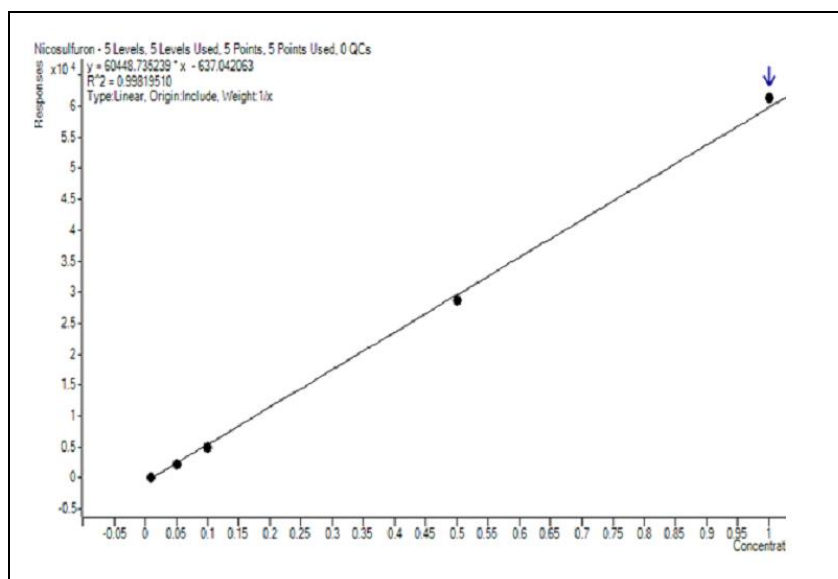


Slika 8. Hromatogrami analitičkog standarda nikosulfurona pod uslovima u Tabeli 12

Validacija metode ekstrakcije i određivanja nikosulfurona u zemljištu izvedena je u skladu sa SANTE/2020/12830, Rev.1 24., optimizacijom uslova ekstrakcije i hromatografskog određivanja provjerom linearnosti odziva detektora, ponovljivosti, prinosa ekstrakcije i limita detekcije i kvantifikacije.

Linearnost odziva detektora. Linearnost odziva detektora određena je na pet nivoa koncentracija, injektovanjem standardnog rastvora nikosulfurona u acetonitrilu. Zavisnost veličine analitičkog signala (površine pika) od masene koncentracije standardnog rastvora prikazana je na slici 9. Kalibraciona kriva je definisana kao zavisnost površine pika od koncentracije i izražena jednačinom regresije ($y=a \times x-b$) sa koeficijentom determinacije (R^2).

U opsegu ispitivanih masenih koncentracija nikosulfurona (0,01-1,0 $\mu\text{g/ml}$) postignuta je dobra linearnost odgovora detektora. Dobijena vrijednost ukazuje da povećanje sadržaja unijetog jedinjenja linearno prati povećanje površine pika. Za regresionu jednačinu $y=60448,735239x-637,042063$, koeficijent determinacije pravolinijske regresione zavisnosti za analizirano jedinjenje iznosi $R^2=0,9982$, što ukazuje na veliku osjetljivost određivanja nikosulfurona ovom metodom.



Slika 9. Određivanje linearnosti odziva detektora

Preciznost. Preciznost može da se razmatra na tri nivoa: ponovljivost, srednja preciznost i reproduktivnost. U ovom radu preciznost određivanja nikosulfurona u matriksu zemljišta određena je injektovanjem rastvora analitičkog standarda u acetonitrilu šest puta. Vrijednost relativne standardne devijacije (RSD %) od 2,34% za površinu pika ukazuje da je postignuta izuzetno visoka reproduktivnost određivanja nikosulfurona primijenjenom metodom ($RSD \leq 20$).

Prinos ekstrakcije- recovery. Prinos ekstrakcije određen je dodavanjem poznate količine standarda nikosulfurona u netretirano zemljište i izračunavanjem procenta izdvojenog nikosulfurona nakon ekstrakcije (Tabela 11). Visoka saglasnost između vrijednosti dobijene u postupku i stvarne vrijednosti (91,1-102,7%), potvrđuje tačnost primijenjene metode za određivanje nikosulfurona u zemljištu (80-100%).

Tab. 12. Tačnost određivanja nikosulfurona u zemljištu

Količina dodatog standard nikosulfurona	Recovery (%)
0,01	117,5
0,05	91,9
0,1	91,1
0,5	96,8
1,0	102,7

Limiti detekcije i kvantifikacije. Za limit detekcije uzeta je vrijednost koncentracija koja daje $S/N=3$. Limit kvantifikacije određen je analogno određivanju LOD, prema $S/N=10$. Rezultati LOD (0,01 mg/kg) i LOQ (0,03 mg/kg) postignuti ovom metodom iznose u potpunosti zadovoljavaju kriterijume standarda (SANTE/2020/12830, Rev.1).

4.5. Uticaj nikosulfurona na mikrobiološke osobine zemljišta

4.5.1. Postavka ogleda za istraživanje djelovanja nikosulfurona na mikrobiološku aktivnost zemljišta

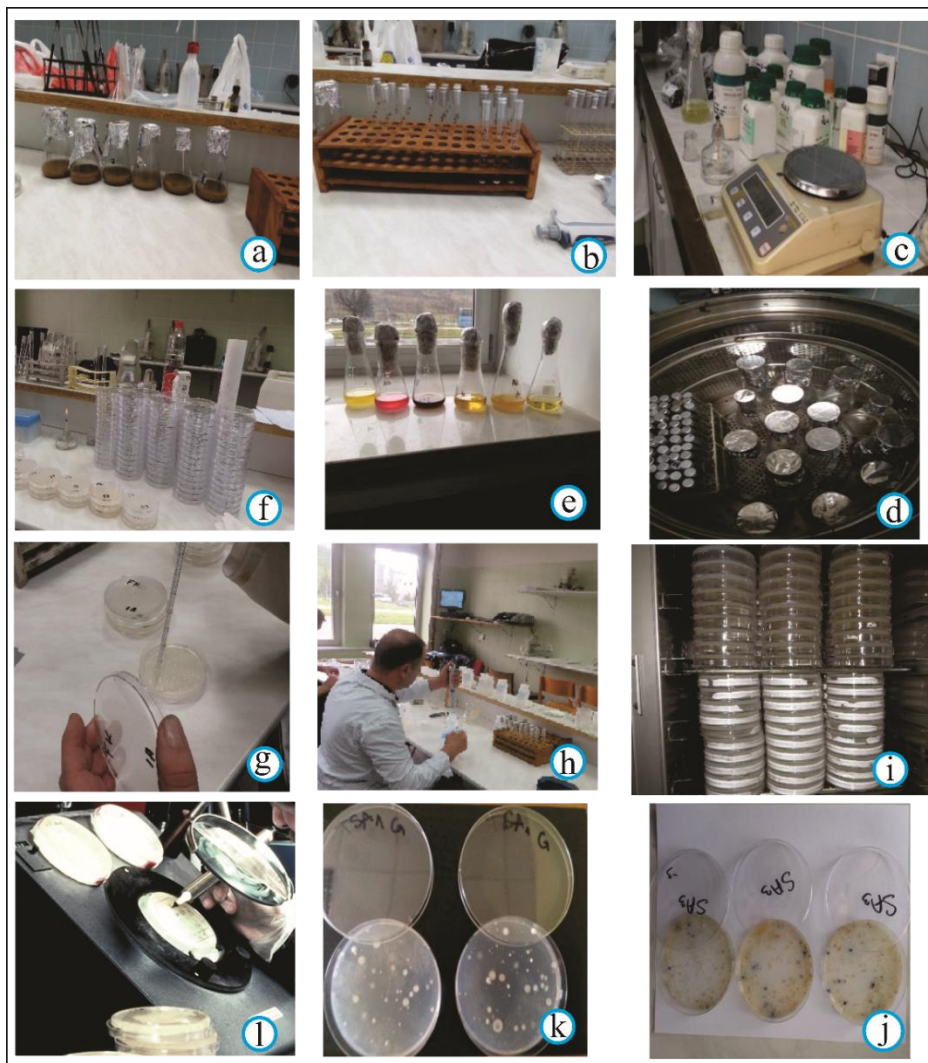
Mikrobiološka karakterizacija zemljišta. Za istraživanja korištena su tri tipa zemljišta različitih hemijskih i mikrobioloških karakteristika, sa različitih lokaliteta u opštini Banja Luka, lokalitet Manjača (laboratorijska oznaka MAN53) i lokalitet Tunjice (laboratorijska oznaka TUN65), opština Laktaši, lokalitet Kosjerovo (laboratorijska oznaka KOS77). Uzorci poljoprivrednog zemljišta uzeti su u maju 2020. godine iz površinskog sloja (0-10 cm) sondom za uzimanje uzoraka, stavljeni u PVC vrećice i u najkraćem roku, pomoću ručnih rashladnih torbi ($<4^{\circ}\text{C}$) transportovani do laboratorije, gdje su obavljene mikrobiološke analize.

Uzorkovanje zemljišta za mikrobiološke analize. Za ispitivanje mikrobnog diverziteta zemljišta, uzorci su pripremljeni na isti način kao i za agrohemijske analize. Nakon usitnjavanja u porculanskom avanu, sušenja i prosijavanja kroz sito ($< 2\text{mm}$), po 500 g svakog uzorka je dodato u plastične saksije zapremine 1000 mL. Sva tri tipa zemljišta su tretirana različitim koncentracijama nikosulfurona 0,075, 0,15, 0,30 mg a.s./kg zemljišta (tabela 11). Uzorci zemljišta koji su korišćeni za analizu ostataka su korišćeni i za mikrobiološka istraživanja. Pored saksija sa nikosulfuronom, korištena je i kontrolna varijanta u kojoj nikosulfuron nije dodat, već su se u saksijama nalazili samo uzorci zemljišta, koji su inkubirani na isti način kao i uzorci gdje je korišten nikosulfuron. U kontrolnoj varijanti, dodavana je samo destilovana voda, i to na isti način u istoj vremenskoj dinamici i u istoj zapremini kao ostali uzorci. Sva istraživanja su rađena u tri ponavljanja. Nakon tretmana nikosulfuronom, izvršena je homogenizacija sadržaja korištenih saksija. Inkubacija plastičnih saksija obavljena je u plateniku, na konstantnoj temperaturi od $25\text{-}27^{\circ}\text{C}$ u trajanju od 40 dana za prvi tretman, 30 dana za drugi tretman i 10 dana za treći tretman. Vlažnost uzoraka zemljišta je održavana tokom inkubacije na 60-80% od maksimalnog vodnog kapaciteta.

4.5.2. Ispitivanje mikrobnog diverziteta zemljišta tretiranog nikosulfuronom

Mikrobni diverzitet zemljišta tretiranog nikosulfuronom ispitan je na kraju ogleda (slika 10). Iz svake saksije je uzeto po 10 g zemljišta i formiran je kompozitni uzorak, koji je korišten za mikrobiološku analizu. Uzorci su uzeti sterilnom laboratorijskom kašikom i prenijeti u erlenmajer kolbe zapremine 300 mL, u kojima se nalazi 90 mL fiziološkog rastvora (sterilna

vodovodska voda). Nakon homogenizacije u orbitalnom šejkeru, uzorci su metodom razrijeđivanja pripremljeni za mikrobiološke analize.



Slika 10. Mikrobiološka analiza uzorka zemljišta (a. i b. Priprema osnovnih i decimalnih razblaženja, c. Priprema hranjivih podloga, d. Sterilizacija, e. Sterilisane hranjive podloge, f.,g. i h. Inokulacija hranjivih podloga, i. Inkubacija u termostatu, j. i k. Izrasle kolonije aktinomiceta i bakterija, l. Brojanje izraslih kolonija)

U ovim eksperimentima, praćen je diverzitet najvažnijih sistematski i fizioloških grupa mikroorganizama koje žive u zemljištu. Takođe, ispitano je i prisustvo mikroorganizama tolerantnih na prisustvo nikosulfurona, odnosno mikroorganizama koji potencijalno mogu da koriste ovaj herbicid kao jedinstveni izvor ugljenika i energije.

Ukupan broj mikroorganizama ispitano je na podlozi $10 \times$ razblaženi tripton soja agar (tabela 13).

Tab. 13. Sastav podloge 10 × razblaženi tripton soja agar

Naziv hemikalije	Količina
Tripton	1,5 g
Soja pepton	0,5 g
NaCl	0,5 g
Agar	1,5 g
Destilovana voda	1000 mL
pH poslije sterilizacije 7,3	

Broj gljiva određen je na podlozi roze bengal streptomycin agar (Peper et al., 1995). Ovoj podlozi je nakon sterilizacije dodat streptomycin sulfat u količini od 0,03 mg/kg (tabela 14).

Tab. 14. Sastav podloge roze bengal streptomycin agar

Naziv hemikalije	Količina
Pepton	5,0 g
MgSO₄ × 7 H₂O	0,5 g
Glukoza	10,0 g
K₂HPO₄	1,0 g
Roze Bengal	0,033 g
Agar	15,0 g
Destilovana voda	1000 mL

Zastupljenost aktinomiceta određena je na skrobno-amonijačnom agaru, a što je prikazano u tabeli 15.

Prisustvo amonifikatora (ukupnih i sporogenih) određeno je na podlozi mesopeptonski agar (tabela 16). Sporogeni amonifikatori su određeni nakon pasterizacije određenog razrijeđenja uzoraka na temperaturi od 70-80°C u trajanju od 10 min.

Tab. 15. Sastav podloge skrobno-amonijačni agar

Naziv hemikalije	Količina
Skrob	10,0 g
MgSO₄ x 7 H₂O	1,0 g
NaCl	1,0 g
KNO₃	1,0 g
CaCO₃	3,0 g
Agar	20,0 g
Destilovana voda	1000 mL

Tab. 16. Sastav podloge mesopeptonski agar

Naziv hemikalije	Količina
Pepton	15,0 g
Mesni ekstrakt	3,0 g
NaCl	5,0 g
K₃PO₄	0,3 g
Agar	18,0 g
Destilovana voda	1000 mL
pH poslije sterilizacije 7,3	

Oligonitrofilni i predstavnici roda *Azotobacter* sp. su određeni na podlozi Fjodorov agar, a što je prikazano u tabeli 17.

Tab. 17. Sastav podloge Fjodorov agar

Naziv hemikalije	Količina
K₂HPO₄	0,3 g
CaHPO₄	0,2 g
MgSO₄ × 7 H₂O	0,3 g
NaCl	0,5 g
FeCl₃	0,1 g
CaCO₃	2,5 g
Manit	20,0
Agar	16,0 g
Mikroelementi	1,0
Destilovana voda	1000 mL
pH poslije sterilizacije 7,0	
Mikroelementi:	
H₃BO₄	5,0 g
(NH₄)₂MoO₄	5,0 g
KJ	0,5 g
NaBr	0,5 g
ZnSO₄	0,2 g
Al₂(SO₄)₃	0,3 g

Sve hranljive podloge su sterilisane vlažnom sterilizacijom pod pritiskom u autoklavu, na temperaturi od 120°C i pritisku od 1,5 atm u trajanju od 20 min. Vlažnost uzoraka određena je nakon sušenja u sušnici (Binder, Nemačka) na temperaturi od 105°C u trajanju od 2 h. Brojnost mikroorganizama izražena je kao CFU (*Colony Forming Units*)/g apsolutno suvog zemljišta.

4.5.3. Ispitivanje tolerantnosti mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona

Mikroorganizmi tolerantni na prisustvo nikosulfurona izolovani su primjenom modifikovane metode Talaie et al. (2010), gdje je nikosulfuron dodat tečnoj mineralnoj podlozi (tabela 18) kao jedinstven izvor ugljenika i energije u koncentracijama od 0,075, 0,15 i 0,30 mg a.s./kg zemljišta. Ova metoda obogaćenja izvršena je inokulacijom tečne mineralne podloge suspenzijom zemljišta (5% v/v) uz dodatak rastvora nikosulfurona u vodi (1%, v/v) do navedenih finalnih koncentracija.

Tab. 18. Tečna mineralna podloga (Talaie et al., 2010)

Naziv hemikalije	Količina
MgSO₄	0,1 g
FeSO₄	0,001 g
CaCl₂	0,01 g
KH₂PO₄	0,5 g
NaNO₃	1,0 g
K₂HPO₄	0,5 g
Destilovana voda	1000 mL

Za izolaciju mikroorganizama su korištene podloge mesopeptonski agar (za izolaciju bakterija, nakon 48h inkubacije na temperaturi od 30°C) i roze bengal streptomycin agar (za izolaciju gljiva nakon 24h inkubacije na temperaturi od 25°C). Morfološki različiti izolati su izolovani i prečišćeni metodom iscrpljivanja na hranljivim podlogama na kojima su i detektovani. Za dalja istraživanja odabrani su izolati koji su pokazali najbolju sposobnost rasta na različitim koncentracijama nikosulfurona.

4.5.4. Morfološka ispitivanja izolata mikroorganizama

Svi izolati mikroorganizama koji su pokazali tolerantnost prema nikosulfuronu su okarakterisani morfološki. Ispitane su makromorfološke (oblik i veličina kolonija, boja kolonija, sjajnost kolonija) i mikromorfološke (oblik i veličina ćelija, bojenje po Gramu, stvaranje spora) karakteristike bakterija. Izolati gljiva su presijani na hranljive podloge roze bengal streptomycin agar (RBSA) i Csapek-ov agar (tabela 19) i praćene su karakteristike rasta (boja, septiranost hifa, razgranatost hifa). Za morfološka ispitivanja svih izolata tolerantnih na prisustvo nikosulfurona korišten je mikroskop Leica (Njemačka).

Tab. 19. Sastav podloge Czapek-ov agar

Naziv hemikalije	Količina
Saharoza	30 g
NaNO ₃	3 g
KH ₂ PO ₄	1 g
KCl	0,5 g
MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,5 g
FeSO ₄	u tragovima
Agar-agar	15 g
Kvašćev ekstrakt	0,5-1 g
Destilovana voda	1000 mL

Rast mikrobnih populacija u prisustvu nikosulfurona u agarizovanoj hranljivoj podlozi. Izolati koji su pokazali najizraženiju tolerantnost prema različitim koncentracijama nikosulfurona, korišteni su u ovim istraživanjima. Čvrsta agarizovana hranljiva LB podloga (tabela 20) je inokulisana prekonoćnim kulturama bakterija metodom uboda. Koncentracije nikosulfurona u hranljivoj podlozi bile su 25, 50, 100, 200, 500 i 1000 mg/L.

Tab. 20. Sastav agarizovane Lauria-Bertani (LB) podloge

Naziv hemikalije	Količina
Trypton	10 g
Agar	20 g
NaCl	10 g
Kvašćev ekstrakt	5 g
Glukoza	0,002 g
Destilovana voda	1000 mL

Inkubacija je obavljena u inkubatoru (Binder, Nemačka) na temperaturi od 30°C u trajanju od 5 dana. U kontroli je korištena agarizovana LB podloga bez dodatog nikosulfurona. Eksperiment je postavljen u tri ponavljanja. Rast bakterija je okarakterisan vizuelno na bazi pokrivenosti podloge bakterijskim kolonijama (- bez rasta, + slab rast do 25% površine hranljive podloge, ++ umjeren rast do 50% površine hranljive podloge, +++ dobar rast do 75% površine hranljive podloge, ++++ veoma dobar rast do 90% površine hranljive podloge i maksimalan rast preko 90% površine hranljive podloge).

Hranljiva podloga roze bengal streptomycin agar je takođe metodom uboda inokulisana kulturama gljiva koje su pokazale najveću tolerantnost prema prisustvu nikosulfurona. Koncentracije nikosulfurona u ovoj hranljivoj podlozi bile su 25, 50, 100, 200, 500 i 1000 mg/L. Inkubacija je obavljena na temperaturi od 25°C u trajanju od 5 dana. Rast gljiva je okarakterisan na identičan način kao za bakterije.

Najrezistentniji izolati su presijani i čuvani u frižideru (+4°C) do ogleda gdje je ispitivana optička gustina tečnih kultura mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona.

4.5.5. Identifikacija izolata mikroorganizama

Čiste kulture bakterijskih izolata koje su pokazale najveću tolerantnost i rezistentnost na prisustvo nikosulfurona identifikovane su primjenom API i APIWEB tehnike (BioMerieux, Francuska) i čuvane u frižideru (na temperaturi 4°C) do momenta primjene za dalja istraživanja.

Najtolerantnije i najrezistentnije gljive su identifikovane na osnovu karakteristika rasta opisanih u poglavlju 4.5.4. pomoću ključa za identifikaciju gljiva (Samson et al., 2004).

4.5.6. Ispitivanje rasta mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije

Za određivanje sposobnosti rasta mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona kao jedinstvenog izvora ugljenika i energije korišteni su izolati koji su pokazali najveću rezistentnost na ovaj pesticid. Sterilna tečna mineralna podloga (Talaie et al., 2010), kojoj su dodate različite koncentracije nikosulfurona, inokulisana je 20-časovnim bakterijskim inokulumom (10%, v/v). Finalne koncentracije nikosulfurona u tečnom mineralnoj podlozi bile su 10, 25, 50, 100 i 200 mg/L. Inkubacija je obavljena u orbitalnom šejkeru na temperaturi od 30°C u trajanju od 72h pri 150 rpm. U kontroli, tečna mineralna podloga, kojoj je dodato 10% glukoze, inokulisana je bakterijskim inokulumom na isti način kao i u eksperimentu sa pesticidom kao jedinstvenim izvorom ugljenika i energije. Veličina bakterijskog inokuluma određena je zasijavanjem inokuluma na podlogu hranljivi agar i izražena kao CFU/mL. Optička

gustina tečnih bakterijskih kultura (OD_{550}) mjerena je spektrofotometrijski na početku ogleda a zatim nakon 12, 24, 48 h i na kraju inkubacionog perioda.

Na identičan način obavljen je i ogled sa ispitivanjem optične gustine tečnih kultura gljiva, samo što je korišten 30-očasovni inokulum gljiva, kojim je inokulisana tečna roze bengal streptomycin podloga. Pomoću hemocitometra je određen broj spora gljiva po mililitru inokuluma. Uslovi inkubacije i intervali mjerenja optičke gustine bili su isto kao i kod ogleda sa bakterijskim inokulumom.

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

5.1. Mehanički sastav i hemijske osobine zemljišta

Dobijeni rezultati ukazuju na variranja u mehaničkom sastavu i hemijskim osobinama ispitivanih uzoraka. U većini uzoraka dominira frakcija praha (tabela 21). Ispitivani uzorci su na osnovu rezultata mehaničkog sastava uglavnom svrstani u kategoriju praškastih ilovača. Zemljišta su srednje do visoko obezbijedena humusom i sadržajem organskog ugljenika. pH vrijednost u H₂O varira u rasponu od 4,31 do 8,20 a u KCl od 3,85 do 7,50 (tabela 22).

Tab. 21. Mehanički sastav i tekstura zemljišta

Oznaka uzorka zemljišta	Mehanički sastav			Klasifikacija teksture
	Čestice pijeska 2,0–0,06 mm (%)	Čestice praha 0,06–0,002 mm (%)	Čestice gline <0,002 mm (%)	
PC67SC	10,70	49,00	40,30	Prašasta ilovača
SS59SCL	1,90	60,50	37,60	Prašasta glinovita ilovača
GTL43SL	25,00	61,20	13,80	Prašasta ilovača
CEL76SL	10,10	70,09	19,81	Prašasta ilovača
SNJ51SL	9,90	71,90	18,20	Prašasta ilovača
TMP82SL	68,20	16,30	15,50	Pjeskovita ilovača
MAN53	18,60	67,10	14,30	Prašasta ilovača
KOS77	17,80	59,50	22,70	Prašasta ilovača
TUN65	22,90	62,40	14,70	Prašasta ilovača

Tab. 22. Hemijske osobine zemljišta

Oznaka uzorka zemljišta		CEC (mmoleq/100g zemlj.)	pH		Humus (%)	OC (%)
			(u H ₂ O)	(u KCl)		
1	PC67SC		6,70	5,40	3,8	2,21
2	SS59SCL	43,55	5,91	4,33	3,4	1,98
3	GTL43SL	27,90	4,31	3,85	3,9	2,27
4	CEL76SL	32,65	7,60	6,70	3,2	1,86
5	SNJ51SL	24,80	5,13	4,01	3,2	1,86
6	TMP82SL	15,00	8,20	7,50	3,2	1,86
7	MAN53	2,12	5,14	4,24	7,3	4,24
8	KOS77	2,82	7,70	7,00	6,0	3,49
9	TUN65	2,20	6,50	5,50	6,1	3,55

5.2. Sorpcija nikosulfurona u zemljištu

5.2.1. Adsorpcija nikosulfurona u zemljištu u stanju ravnoteže

Sorpcija nikosulfurona je posmatrana preko raspodjele početne mase nikosulfurona nakon miješanja od 24 sata i uravnoteženja na masu koja je adsorbovana na zemljište i koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži. Masa adsorbovanog nikosulfurona- x (μg) na masu zemljišta- m (g) prikazana je u tabeli 23, a prateća analiza varijanse u tabeli 24.

Tab. 23. Masa adsorbovanog nikosulfurona- x (μg) na masu zemljišta- m (g)

K_0	Oznaka uzorka zemljišta	x/m ($\mu\text{g/g}$) \pm SD	P_v	Oznaka uzorka zemljišta	x/m ($\mu\text{g/g}$) \pm SD	P_v
K1	1 PC67SC	5,650 \pm 0,143	2,53	6 TMP82SL	0,467 \pm 0,133	28,43
K2		9,029 \pm 0,409	4,53		2,577 \pm 0,743	28,84
K3		10,5144 \pm 1,632	15,53		14,323 \pm 0,033	0,23
K4		42,196 \pm 29,286	2,27		15,147 \pm 0,314	2,08
K1	2 SS59SCL	7,259 \pm 0,389	5,35	7 MAN53	2,589 \pm 0,112	4,31
K2		14,848 \pm 0,357	2,40		6,591 \pm 1,966	29,83
K3		21,061 \pm 0,478	2,27		12,512 \pm 0,824	6,59
K4		23,881 \pm 3,292	13,78		17,940 \pm 4,515	25,17
K1	3 GTL43SL	4,885 \pm 0,132	2,70	8 KOS77	3,589 \pm 0,046	1,29
K2		9,233 \pm 1,096	11,87		6,951 \pm 0,498	7,17
K3		11,550 \pm 1,656	14,33		18,064 \pm 0,887	4,91
K4		10,712 \pm 0,743	6,94		45,011 \pm 0,915	2,03
K1	4 CEL76SL	5,769 \pm 0,127	2,19	9 TUN65	4,683 \pm 0,092	1,95
K2		12,301 \pm 0,263	2,14		8,878 \pm 1,059	11,93
K3		16,537 \pm 0,754	4,56		20,772 \pm 0,451	2,171
K4		21,638 \pm 0,478	2,21		39,009 \pm 1,683	4,313
K1	5 SNJ51SL	6,137 \pm 0,109	1,78			
K2		12,283 \pm 0,090	0,73			
K3		16,619 \pm 0,786	4,73			
K4		12,675 \pm 0,939	7,41			
Masa adsorbovanog nikosulfurona- x (μg) na masu zemljišta- m (g) bez obzira na tip zemljišta, zavisno od koncentracije						
K1		4,560		K3		15,773
K2		9,188		K4		28,233
Masa adsorbovanog nikosulfurona- x (μg) na masu zemljišta- m (g) bez obzira na početnu koncentraciju (K_0), zavisno od tipa zemljišta						
Oznaka uzorka zemljišta		x/m ($\mu\text{g/g}$)	Oznaka uzorka zemljišta		x/m ($\mu\text{g/g}$)	
1	PC67SC	21,070	6	TMP82SL	8,129	
2	SS59SCL	16,766	7	MAN53	9,908	
3	GTL43SL	9,095	8	KOS77	18,403	
4	CEL76SL	14,062	9	TUN65	18,335	
5	SNJ51SL	11,928				

Legenda: K_0 = početna koncentracija; x/m -srednja vrijednost mase adsorbovanog nikosulfurona ($\mu\text{g/g}$); SD= standardna devijacija; P_v = procenat variranja

Tab. 24. Analiza varijanse za uticaj tipa zemljišta i početne koncentracije nikosulfurona na masu adsorbovanog nikosulfurona na zemljište

Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Tip zemljišta (A)	2100,91	8	262,61	173,24***	<0,001
Koncentracija (B)	7840,42	3	2613,47	1724,06***	<0,001
Tip zemljišta × Koncentracija (A×B)	5363,36	24	223,47	147,42***	<0,001
Pogreška	109,14	72	1,52		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***= statistički visoko značajan uticaj

Koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži prikazana je u tabeli 25, a prateća analiza varijanse u tabeli 26.

Tab. 25 Koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži- Caq (µg/mL)

K ₀	Oznaka uzorka zemljišta		Caq (µg/mL)±SD	P _v	Oznaka uzorka zemljišta		Caq (µg/mL)±SD	P _v
K1	1	PC67SC	2,577±0,069	2,66	6	TMP82SL	5,763±0,690	11,97
K2			6,272±0,153	2,45			9,540±0,374	3,92
K3			16,363±0,802	4,90			16,936±4,235	25,01
K4			13,562±0,802	6,04			35,730±0,158	0,44
K1	2	SS59SCL	1,770±0,197	11,15	7	MAN53	4,120±0,056	1,35
K2			3,370±0,182	5,39			7,534±0,983	13,05
K3			11,085±0,231	2,09			15,404±0,412	2,68
K4			31,294±1,631	5,21			34,350±2,257	6,57
K1	3	GTL43SL	2,958±0,076	2,55	8	KOS77	3,621±0,023	0,64
K2			6,182±0,560	9,05			7,355±0,249	3,39
K3			15,856±0,817	5,15			12,628±0,443	3,51
K4			37,941±0,356	0,94			20,815±0,458	2,20
K1	4	CEL76SL	2,520±0,066	2,62	9	TUN65	3,074±0,046	1,49
K2			4,628±0,14374	3,10			6,391±0,530	8,29
K3			13,343±0,373	2,80			11,274±0,225	2,00
K4			32,465±0,221	0,68			23,815±0,841	3,53
K1	5	SNJ51SL	2,326±,059	2,54				
K2			4,639±,059	0,71				
K3			13,301±0,403	3,03				
K4			36,962±0,452	1,22				
Koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži (µg/mL) bez obzira na tip zemljišta, zavisno od početne koncentracije								
K1	3,192			K3	14,023			
K2	6,213			K4	29,663			
Koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži bez obzira na početnu koncentraciju (K₀), zavisno od tipa zemljišta								
Oznaka uzorka zemljišta		Caq (µg/mL)±SD		Oznaka uzorka zemljišta		Caq (µg/mL)±SD		
1	PC67SC	9,693		6	TMP82SL	16,992		
2	SS59SCL	11,888		7	MAN53	15,352		
3	GTL43SL	15,738		8	KOS77	11,104		
4	CEL76SL	13,240		9	TUN65	11,138		
5	SNJ51SL	14,307						

Legenda: K₀= početna koncentracija; Caq (µg/mL)= koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži; SD= standardna devijacija; P_v= procenat variranja

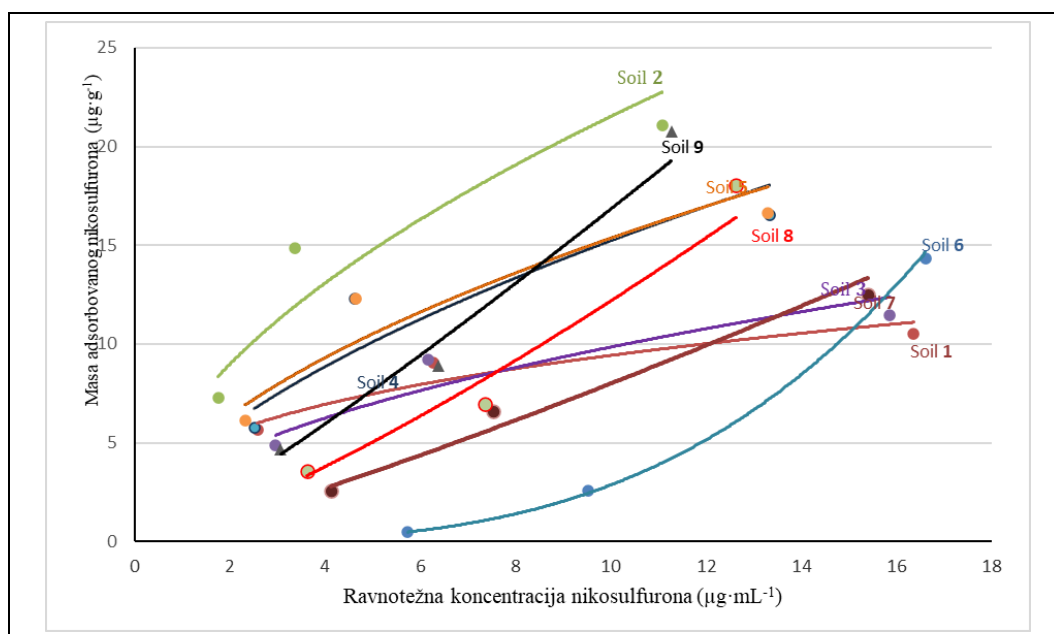
Tab. 26. Analiza varijanse za uticaj tipa zemljišta i početne koncentracije nikosulfurona na koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži

Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Tip zemljišta (A)	591,53	8	73,94	82,80***	<0,001
Koncentracija (B)	11357,68	3	3785,89	4239,50***	<0,001
Tip zemljišta×Koncentracija (A×B)	1328,07	24	55,34	61,97***	<0,001
Pogreška	64,30	72	0,89		

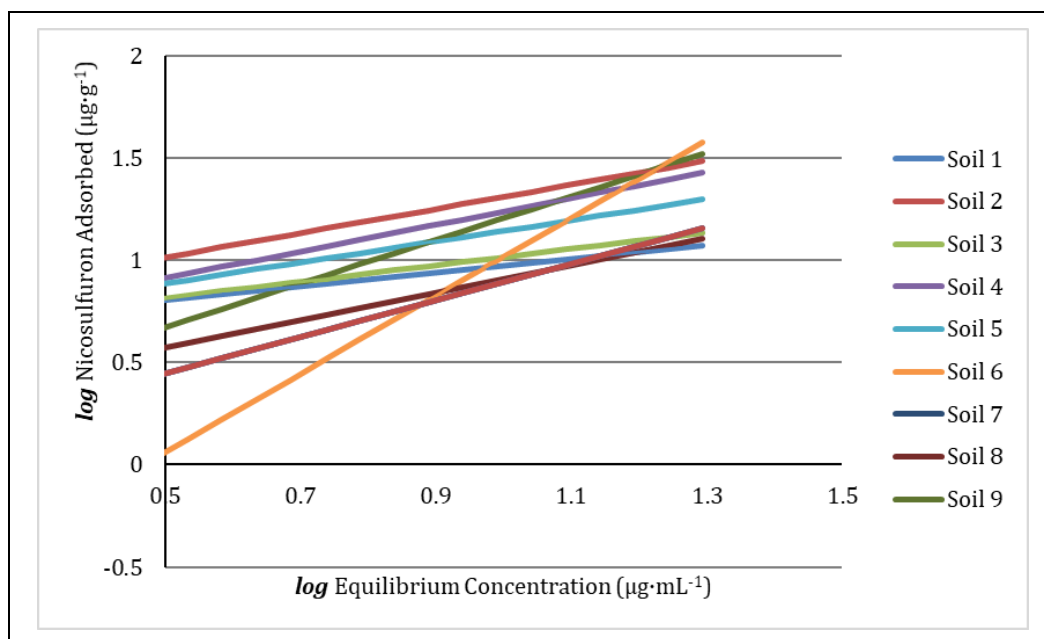
Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***= statistički visoko značajan uticaj; nz= nije značajan uticaj

5.2.2. Freundlich-ova adsorpciona izoterma nikosulfurona u zemljištu

Freundlich-ova adsorpciona izoterma opisuje adsorpciju pesticida za zemljište, organsku materiju i minerale gline i može se predstaviti u obliku $\frac{X}{M} = K_f \cdot (C)^{1/n}$ ili u logaritamskom obliku $\log \frac{X}{M} = \log K_f + \frac{1}{n} \log C_{aq}$, gdje X/M predstavlja masu adsorbovanog herbicida na zemljište, dok C_{aq} predstavlja koncentraciju pesticida u rastvoru pri ravnoteži. Pri tome je zemljište adsorbent, dok je herbicid adsorbat. Koeficijent K_f je Freundlich-ov koeficijent i $1/n$ pokazatelji stepene regresije, kojom se opisuje zavisnost adsorbovane mase herbicida na zemljište u zavisnosti od koncentracije herbicida u rastvoru u ravnoteži. Freundlich-ova adsorpciona izoterma je predstavljena na grafikonima 1 i 2, a u tabeli 27 pokazatelji Freundlich-ovih koeficijenata.



Graf. 1 . Freundlich-ova adsorpciona izoterma zavisnosti adsorpcije nikosulfurona na zemljište u zavisnosti od koncentracije nikosulfurona u rastvoru



Graf. 2. Linearizovana Freundlich-ova adsorpciona izoterma zavisnosti adsorpcije nicosulfurona na zemljište u zavisnosti od koncentracije nicosulfurona u rastvoru, predstavljena u logaritamskom obliku

Tab. 27 Pokazatelji konstanti Freundlich-ove adsorpcione izoterme za adsorpciju nicosulfurona u istraživanim zemljištima

Oznaka uzorka zemljišta	Kf ($\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$)	1/n	log Kf	R ²
1 PC67SC	4,369	0,337	0,640	0,908
2 SS59SCL	7,388	0,379	0,868	0,827
3 GTL43SL	4,374	0,291	0,641	0,692
4 CEL76SL	4,625	0,471	0,665	0,873
5 SNJ51SL	4,355	0,547	0,639	0,887
6 TMP82SL	0,027	1,927	-1,569	0,834
7 MAN53	0,894	0,896	-0,0487	0,934
8 KOS77	0,475	1,457	-0,323	0,975
9 TUN65	1,373	1,068	0,138	0,996

Legenda: R²= koeficijent determinacije Freundlich-ove adsorpcione izoterme koja nije linearizovana

Vrijednosti Freundlich-ovih parametara adsorpcije nicosulfurona u poljoprivrednim zemljištima kreću se u intervalu od 0,027 do 7,388 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$, dok se vrijednosti 1/n kreću se u intervalu od 0,291 do 1,927. U zemljištima kisele do blago alkalne pH vrijednosti, vrijednosti parametra 1/n bile su niže od 1, što ukazuje da se adsorpciona izoterma nicosulfurona u ovim zemljištima karakteriše L-tipom krive. Međutim, u zemljištu alkalne reakcije, vrijednost parametra 1/n iznosila je 1,927, što ukazuje na izotermu S-tipa, koja predstavlja konkavnu krivu.

5.2.3. Koeficijent distribucije i procenat adsorbovanog nikosulfurona u zemljištu

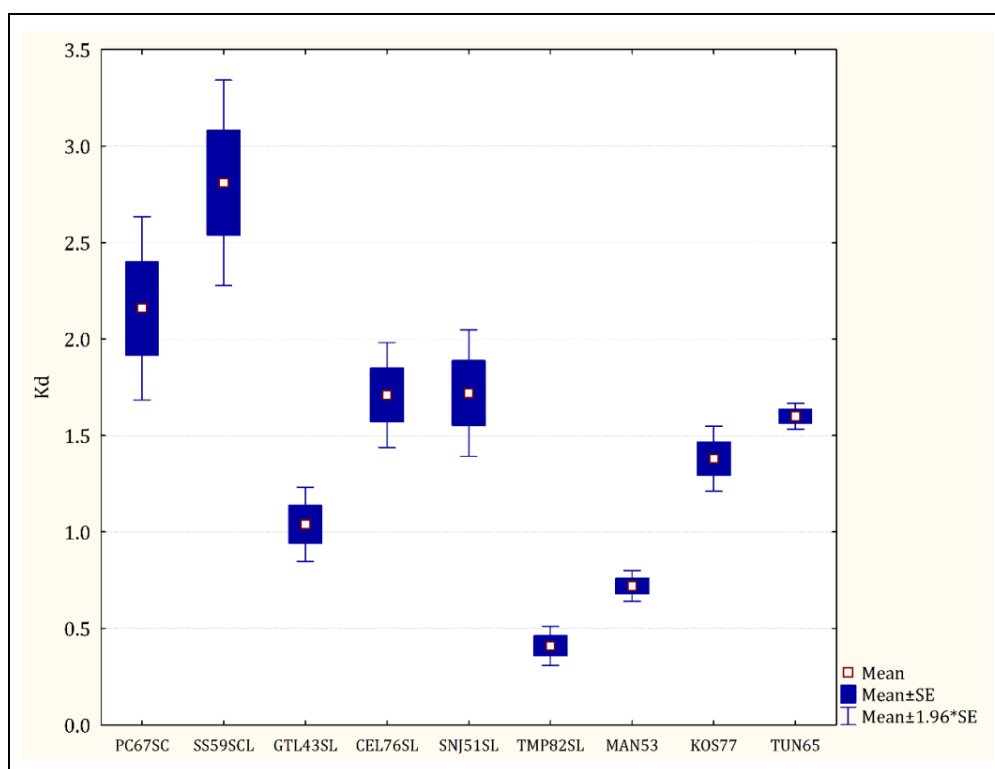
Adsorpcija pesticida na čvrstu fazu zemljišta je preovlađujući mehanizam pokretljivosti i pristupačnosti pesticida u zemljištu. Adsorpcija pesticida iz zemljišnog rastvora na zemljišne koloide dovodi do umanjena njegove koncentracije u zemljištu.

Adsorpcija je između ostalog okarakterisana distribucionim koeficijentom K_d , koji predstavlja omjer između mase herbicida adsorbovanog na zemljište i koncentracije herbicida u rastvoru u stanju ravnoteže i izražava se u $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$, a izračunava po obrascu:

$$K_d = \frac{X/M}{C_{aq}} \left(\frac{\text{mL}}{\text{g}} \right)$$

Koeficijent distribucije (K_d) se dobija iz odnosa mase herbicida koji je adsorbovan i koncentracije herbicida u stanju ravnoteže, dok su Freundlich-ov koeficijent (K_f) i $1/n$ konstante vrijednosti utvrđene iz stepene funkcije regresione zavisnosti adsorbovane količine herbicida od njegove koncentracije u rastvoru, pri ravnoteži. U ovim istraživanjima $1/n$ varira od 0,291 do 1,927, a K_f od 0,027 do 7,388 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{mL}^{1/n}/\text{g}$.

Koeficijent distribucije K_d je zavisio od početne koncentracije nikosulfurona te će se koeficijent distribucije uzeti kao srednja vrijednost koeficijenata distribucije utvrđenih za jedan tip zemljišta zavisno od koncentracije nikosulfurona u ravnoteži, a što je prikazano na grafikonu 3 i tabeli 28.



Graf. 3. Interval variranja vrijednosti K_d [mL/g] zavisno od tipa zemljišta

Tab. 28. Koeficijenti distribucije nikosulfurona (Kd) u ispitivanim zemljištima

Oznaka uzorka zemljišta		Kd±SE (mL/g)
1	PC67SC	2,16 ±0,42
2	SS59SCL	2,81 ±0,47
3	GTL43SL	1,04 ±0,17
4	CEL76SL	1,71 ±0,24
5	SNJ51SL	1,72 ±0,29
6	TMP82SL	0,41 ±0,09
7	MAN53	0,72 ±0,07
8	KOS77	1,38 ±0,15
9	TUN65	1,60 ±0,06

Legenda: SE= standardna greška

5.2.4. Procenat adsorbovanog nikosulfurona u zemljištu

Zakonomjernost adsorpcije nikosulfurona u zemljištu može se sagledati i kao procenat adsorbovanog nikosulfurona na zemljište od ukupne količine nikosulfurona koja je bila u smješi zemljišta i rastvarača, pri određivanju adsorpcije nikosulfurona. Adsorpcija nikosulfurona je ispitivana u četiri koncentracije nikosulfurona, tj. na odvagano masu zemljišta moglo je da se adsorbuje od 32,9 do 259,92 µg nikosulfurona (tabela 29). Ako bi najmanju koncentraciju uzeli, kao 100%, onda usljed dvostrukog koraka u povećanju koncentracije, količina nikosulfurona koja se može adsorbovati na zemljište varira u intervalu 100 do 800%.

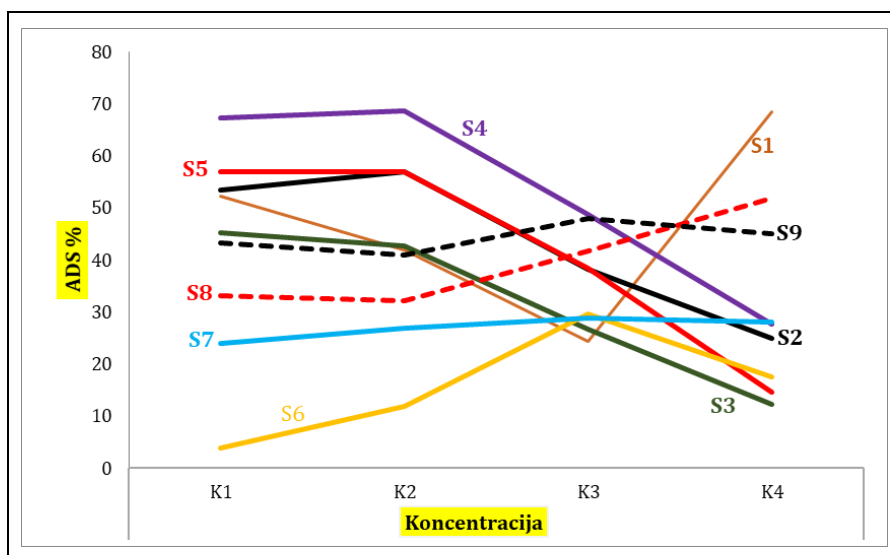
Tab. 29. Pregled koncentracija nikosulfurona u sistemu „zemljište-rastvarač“ u apsolutnim i relativnim brojevima

Početna koncentracija nikosulfurona (Ci)		Masa nikosulfurona u sistemu “zemljište-rastvarač”	Relativna masa nikosulfurona u rastvoru
Koncentracija nikosulfurona µg/mL	µg nikosulfurona u 6 mL ACN		
K1	5,415	32,49 µg	100%
K2	10,83	64,98 µg	200%
K3	21,66	129,96 µg	400%
K4	43,32	259,92 µg	800%

Procenat adsorbovanog nikosulfurona, zavisno od početne koncentracije i tipa zemljišta je prikazan u tabeli 30 i grafikonu 4.

Tab. 30. Masa adsorbovanog (μg) i procenat (%) adsorbovanog nikosulfurona u zavisnosti od koncentracije i tipa zemljišta

Oznaka uzorka zemljišta	Masa nikosulfurona			Srednja vrijednost procenata adsorbovanog (%) \pm SE
	Ukupna masa (μg)	Adsorbovana masa (μg)	Procenat adsorbovanog (%)	
1 PC67SC	32,49 μg	16,951	52,30	46,75 \pm 9,28
	64,98 μg	27,089	41,86	
	129,96 μg	31,543	24,32	
	259,92 μg	177,259	68,54	
2 SS59SCL	32,49 μg	21,809	67,25	53,08 \pm 9,64
	64,98 μg	44,552	68,76	
	129,96 μg	63,194	48,72	
	259,92 μg	71,643	27,60	
3 GTL43SL	32,49 μg	14,658	45,23	31,76 \pm 7,66
	64,98 μg	27,700	42,75	
	129,96 μg	34,650	26,68	
	259,92 μg	32,137	12,37	
4 CEL76SL	32,49 μg	17,311	53,38	43,42 \pm 7,36
	64,98 μg	36,904	57,05	
	129,96 μg	49,612	38,26	
	259,92 μg	64,915	25,00	
5 SNJ51SL	32,49 μg	18,410	56,88	41,73 \pm 10,03
	64,98 μg	36,850	56,97	
	129,96 μg	49,857	38,45	
	259,92 μg	38,024	14,64	
6 TMP82SL	32,49 μg	1,400	3,89	15,75 \pm 5,43
	64,98 μg	7,732	11,90	
	129,96 μg	42,970	29,72	
	259,92 μg	45,441	17,49	
7 MAN53	32,49 μg	7,768	23,91	26,97 \pm 1,09
	64,98 μg	16,679	26,95	
	129,96 μg	37,537	28,88	
	259,92 μg	80,674	28,13	
8 KOS77	32,49 μg	10,767	33,14	39,72 \pm 4,61
	64,98 μg	20,852	32,09	
	129,96 μg	54,192	41,70	
	259,92 μg	135,032	51,95	
9 TUN65	32,49 μg	14,048	43,24	44,30 \pm 1,47
	64,98 μg	26,633	40,99	
	129,96 μg	62,317	47,95	
	259,92 μg	117,028	45,02	



Graf. 4. Procenat adsorbovanog nikosulfurona zavisno od početne koncentracije i tipa zemljišta

5.3. Zavisnost adsorpcije nikosulfurona od karakteristika zemljišta

5.3.1. Korelacioni i regresioni odnosi između pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i hemijskih osobina zemljišta

Korelacioni odnosi su rađeni između adsorpcionih pokazatelja sa jedne strane i hemijskih karakteristika zemljišta, odnosno mehaničkog sastava zemljišta, sa druge strane i predstavljeni su u tabelama 31 i preko koeficijenta linearne regresije.

Tab. 31. Korelacioni matiks između pokazatelja adsorpcije i hemijskih karakteristika zemljišta

Adsorpcioni pokazatelji	r i p		Pokazatelji hemijskih karakteristika zemljišta				
	r	p	pH u H ₂ O	pH u KCl	H (%)	OC (%)	CEC (mmoleq/100g zemlj.)
Kf	r		-0,394	-0,526	-0,602	-0,601	0,862*
	p		p=0,294	p=0,146	p=0,086	p=0,087	p=0,003
1/n	r		0,6327	0,708*	0,2893	0,289	-0,696*
	p		p=0,067	p=0,033	p=,450	p=0,451	p=0,037
log Kf	r		-0,571	-0,664	-0,183	-0,183	0,5839
	p		p=0,108	p=0,051	p=0,637	p=0,638	p=0,099
Kd	r		-0,080	-0,280	-0,324	-0,323	0,668*
	p		p=0,838	p=0,466	p=0,395	p=0,397	p=0,049
ADS	r		-0,108	-0,276	-0,140	-0,139	0,4953
	p		p=0,782	p=0,472	p=0,720	p=0,722	p=0,175

Legenda: r= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno (p<0,05)

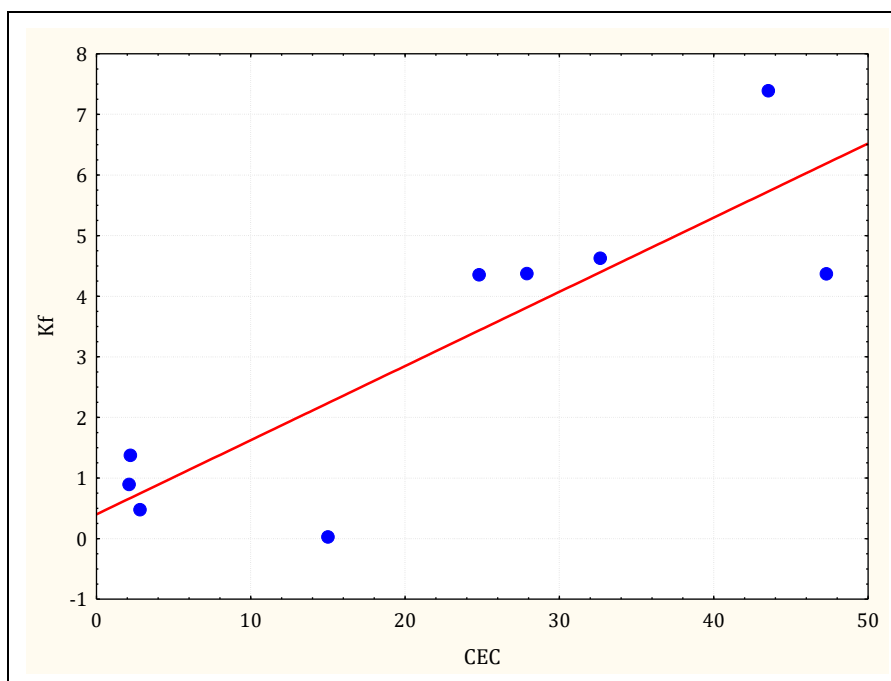
Dobijeni rezultati ukazuju da je statistički značajna korelaciona zavisnost utvrđena između Freundlich-ove adsorpcione konstante Kf i koeficijenta distribucije Kd i vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene (CEC). Ova korelacija je pozitivna i statistički značajna i iznosi za korelacionu zavisnost između Kf i CEC 0,832, a za korelacionu zavisnost između Kd i CEC

0,668. Međutim, korelacioni odnosi između pokazatelja adsorpcije (K_f i K_d) i kiselosti zemljišta (pH u H_2O i pH u KCl) su negativni, ali ne i statistički značajni i Pirsonov koeficijent linearne korelacije se kreće od -0,080 do -0,526. Između Freundlich-ove adsorpcione konstante K_f i koeficijenta distribucije K_d , kao pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i sadržaja humusa (H%), odnosno organskog uljenika (OC%) utvrđena je negativna korelacija, što odstupa od očekivanih korelacionih zavisnosti. Statistički značajna korelaciona zavisnost je utvrđena između vrijednosti Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$, sa jedne strane u vrijednosti pH u KCl, odnosno vrijednosti CEC, sa druge strane. Ti korelacioni odnosi su različiti, tj. korelaciona zavisnost između vrijednosti adsorpcione konstante $1/n$ i pH u KCl je pozitivna i iznosi 0,708* ($p=0,033$), dok je korelacija između adsorpcione konstante $1/n$ i CEC negativna i iznosi -0,696* ($p=0,037$).

Regresiona zavisnost između hemijskih karakteristika zemljišta, kao nezavisne veličine, i pokazatelja adsorpcije nikosulfurona, kao zavisne veličine je urađena za varijable za koje je prethodno utvrđeno da imaju statistički značajnu korelacionu vezu.

Korelaciona zavisnost između K_f i CEC je pozitivna i statistički značajna i iznosi 0,832**. Regresiona zavisnost između vrijednosti CEC, kao nezavisne veličine i vrijednosti K_f , kao zavisne veličine, odgovara lineranoj regresiji (grafikon 5), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

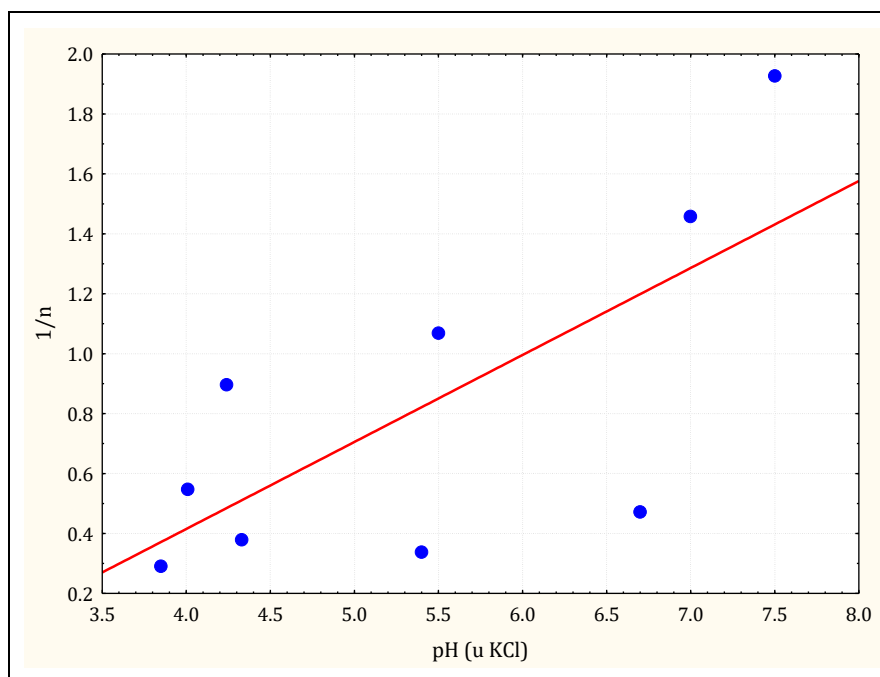
$$K_f = 0,4002 + 0,1224 \cdot CEC \quad (R^2=0,743, p=0,00284, F=20,235, d.f.=1, 7)$$



Graf. 5. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene- CEC, na vrijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante K_f za nikosulfuron

Korelaciona zavisnost između vrijednosti Frojndlihove adsorpcione konstante $1/n$ i vrijednosti pH u KCl je pozitivna i iznosi $0,708^*$ ($p=0,033$). Regresiona zavisnost između vrijednosti pH u KCl, kao nezavisne veličine i vrijednosti konstante $1/n$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 6), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

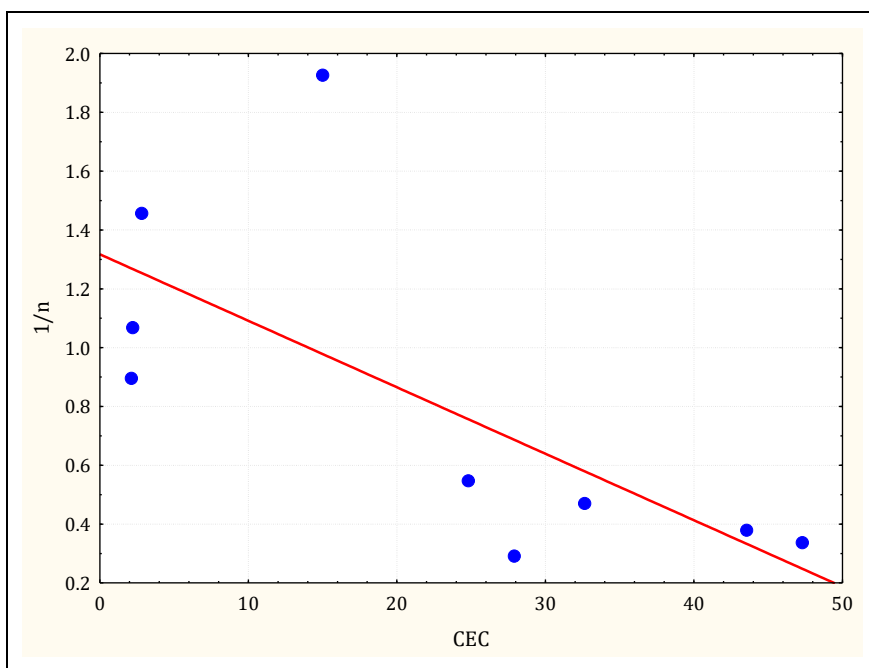
$$1/n = -0,461 + 0,2903 \cdot \text{pH (u KCl)} \quad (R^2=0,502, p=0,032, F=7,049, \text{d.f.}=1, 7)$$



Graf. 6. Uticaj vrijednosti pH zemljišta (pH u KCl), na vrijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$ za nikosulfuron

Korelaciona zavisnost između vrijednosti Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$ i vrijednosti CEC je negativna i iznosi $-0,696^*$ ($p=0,037$). Regresiona zavisnost između vrijednosti CEC, kao nezavisne veličine i vrijednosti Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 7), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

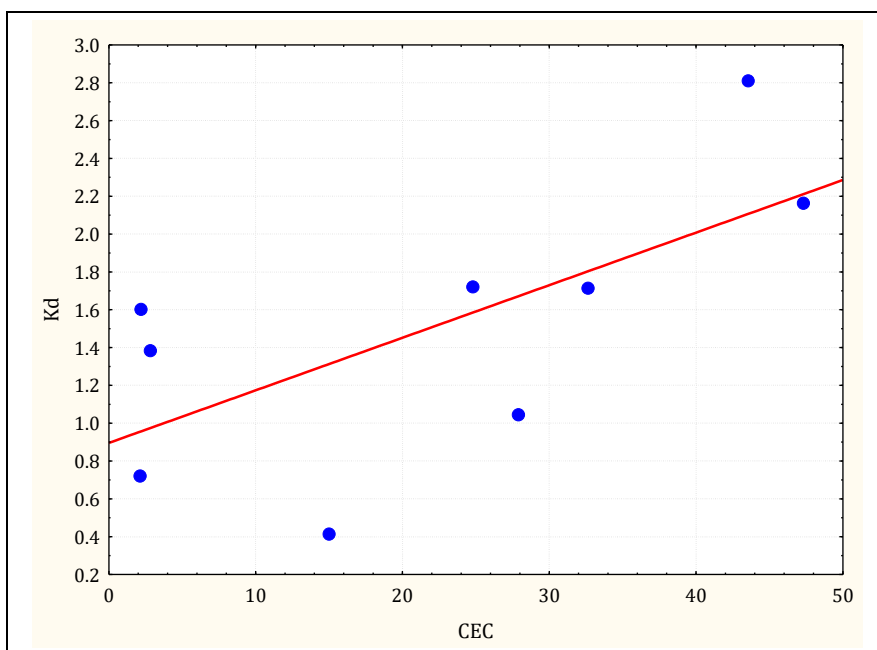
$$1/n = 1,3174 - 0,0226 \cdot \text{CEC} \quad (R^2=0,484, p=0,037, F=6,654, \text{d.f.}=1, 7)$$



Graf. 7. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene- CEC, na vrijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante 1/n za nikosulfuron

Korelaciona zavisnost između vrijednosti K_d i vrijednosti CEC je pozitivna i iznosi 0,668*. Regresiona zavisnost između vrijednosti CEC, kao nezavisne veličine i vrijednosti K_d , kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 8), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

$$K_d = 0,896 + 0,0278 \cdot CEC \quad (R^2=0,446, p=0,0492, F=5,641, d.f.=1, 7)$$



Graf. 8. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene - CEC, na vrijednost K_d za nikosulfuron

5.3.2. Korelacioni i regresioni odnosi između pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i mehaničkog sastava zemljišta

Korelacioni odnosi između pokazatelja adsorpcije nikosulfurona u zemljištu i mehaničkog sastava zemljišta prikazane su u tabeli 32.

Tab. 32. Korelacioni matriks između pokazatelja adsorpcije i mehaničkog sastava zemljišta

Adsorpcioni pokazatelji	r i p		Mehanički sastav zemljišta (%)		
	r		Čestice pijeska 2,0–0,06 mm (%)	Čestice praha 0,06–0,002 mm (%)	Čestice gline <0,002 mm (%)
	p				
Kf	r		-0,663	0,404	0,591
	p		<i>p</i> =0,051	<i>p</i> =0,282	<i>p</i> =0,094
1/n	r		0,780*	-0,648	-0,405
	p		<i>p</i> =0,013	<i>p</i> =0,059	<i>p</i> =0,279
log Kf	r		-0,903**	0,784*	0,413
	p		<i>p</i> =0,001	<i>p</i> =0,012	<i>p</i> =0,269
Kd	r		-0,774*	0,406	0,798*
	p		<i>p</i> =0,014	<i>p</i> =0,279	<i>p</i> =0,010
ADS%	r		-0,862*	0,593	0,654
	p		<i>p</i> =0,003	<i>p</i> =0,093	<i>p</i> =0,056

Legenda: *r*= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno (*p*<0,05); **= statistički visoko značajno (*p*<0,01)

Adsorpcija nikosulfurona u zemljištu izraženije zavisi od mehaničkog sastava zemljišta, nego od hemijskih karakteristika zemljišta, što je vidljivo iz tabele 31, a poredeći u odnosu na prethodnu tabelu 32.

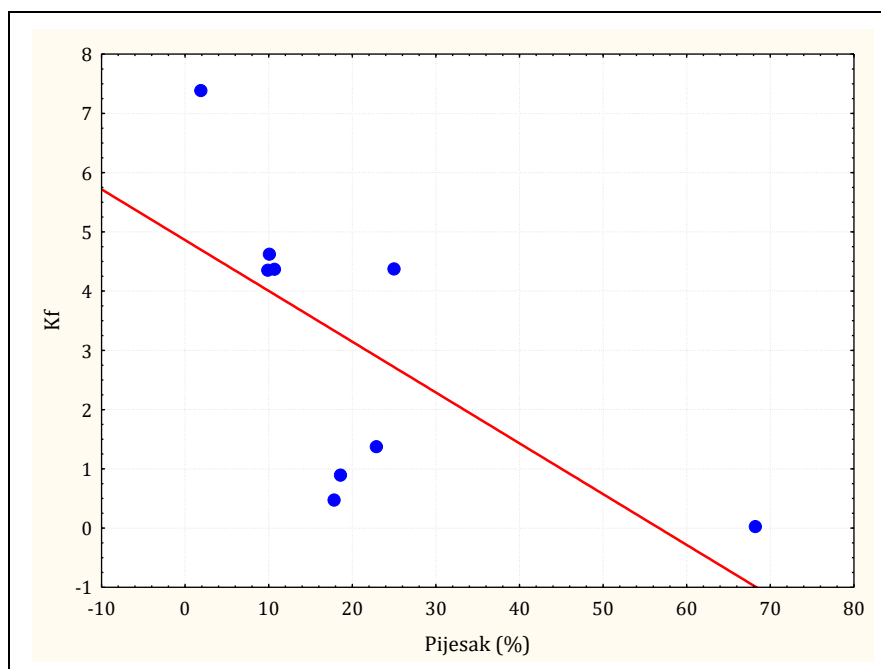
Sadržaj pijeska statistički visoko značajno utiče na adsorpciju nikosulfurona i to tako što se sa povećanjem sadržaja pijeska, smanjuje adsorpcija nikosulfurona, gledano preko adsorpcionih pokazatelja *log Kf*, *Kd* i procenta adsorbovanog nikosulfurona (ADS%). Kod ovih pokazatelja adsorpcije nikosulfurona (*log Kf*, *Kd* i ADS%) koeficijent linearne korelacije u odnosu na sadržaj pijeska je -0,903**, -0,774* i 0,862* respektivno. Negativna korelaciona zavisnost u odnosu na sadržaj pijeska je utvrđena i za vrijednost *Kf* i iznosi *r*=-0,663, ali je to na samoj granici statističke značajnosti, jer *p* vrijednost iznosi 0,051, što je veće od 0,05. Adsorpcija nikosulfurona se povećava sa povećanjem sadržaja praha u zemljištu, jer je korelacija između *Kf*, *log Kf*, *Kd* i ADS%, sa jedne strane i sadržaja praha sa druge strane u svim slučajevima pozitivna i koeficijent linearne korelacije se kreće od 0,403 do 0,784, pri tome je ona za korelacioni odnos između *log Kf* i sadržaja praha i statistički značajan i iznosi 0,784* (*p*=0,012). Slična pozitivna korelacija se ogleda i između vrijednosti adsorpcionih pokazatelja *Kf*, *log Kf*, *Kd* i ADS% i sadržaja gline. U svim slučajevima se radi o pozitivnoj

korelaciji kod koje se koeficijent linerne korelacije kreće od 0,412 do 0,798*, pri čemu je korelacija između Kd i sadržaja gline iznosi 0,798* (p=0,010).

Regresiona zavisnost između mehaničkog sastava zemljišta, kao nezavisne veličine, i pokazatelja adsorpcije nikosulfurona, kao zavisne veličine je urađena za one ove varijable za koje je predhodno utvrđeno da imaju statistički značajnu korelacionu vezu.

Korelaciona zavisnost između između sadržaja pijeska (%) i vrijednosti Kf je negativna i iznosi -0,6634 i na samom je “rubu” statističke značajnosti, jer je p= 0,051, a što je veće od 0,05. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti Freundlich-ove adsorpcione konstante Kf, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 9), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

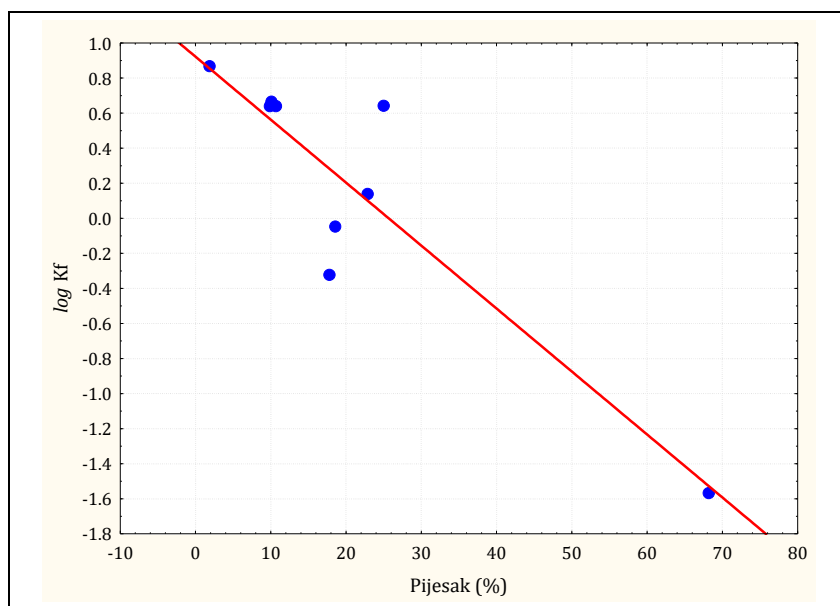
$$\mathbf{Kf = 4,8613 - 0,0857 \cdot Pijesak (\%)} \quad (R^2=0,440, p=0,051, F=5,501^{NZ}, d.f.=1, 7)$$



Graf. 9. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vrijednost Kf za nikosulfuron

Korelaciona zavisnost između sadržaja pijeska (%) i vrijednosti $\log Kf$ je negativna, visoko statistički značajna i iznosi -0,9030**. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti $\log Kf$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon10), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

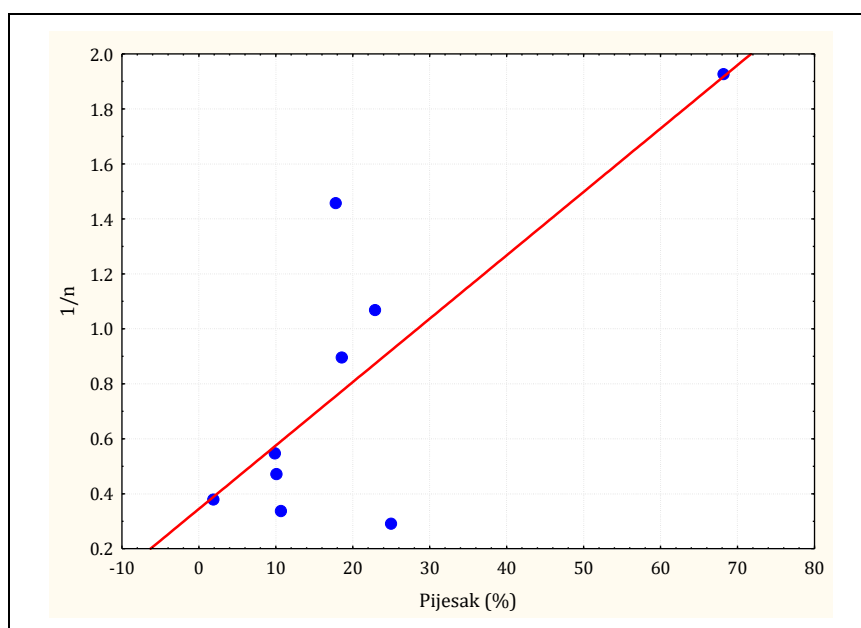
$$\mathbf{\log Kf = 0,9223 - 0,0359 \cdot Pijesak (\%)} \quad (R^2=0,815, p=0,00085, F=30,919^{***}, d.f.=1, 7)$$



Graf. 10. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vijednost log Kf za nikosulfuron

Sadržaj čestica pijeska u zemljištu, pored toga što utiče na prvu Freundlich-ovu adsorpcionu konstantu Kf, statistički značajno utiče i na drugu konstantu 1/n. Ta korelaciona veza je pozitivna, statistički značajna i koeficijent linearne regresije iznosi 0,7798*. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti 1/n, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 11), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

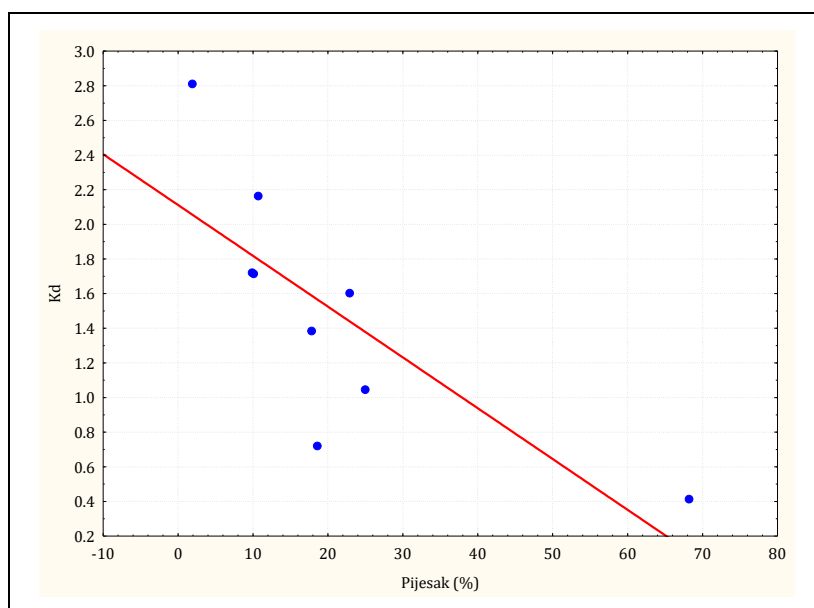
$$1/n = 0,3448 + 0,0231 \cdot \text{Pijesak (\%)} \quad (R^2=0,6081, p=0,0132, F=10,863^{**}, d.f.=1, 7)$$



Grafikon 11. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vijednost konstante 1/n za nikosulfuron

Koeficijent distribucije nikosulfurona u zemljištu - Kd je u statistički značajnoj korelacionoj vezi sa sadržajem čestica pijeska u zemljištu. Ta korelacija je negativna i koeficijent linearne regresije iznosi -0,7743*. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti koeficijenta distribucije Kd, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 12), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

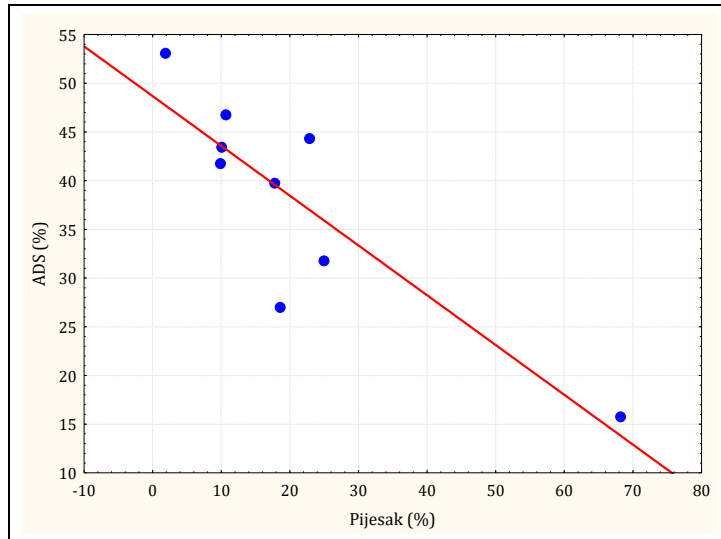
$$Kd = 2,1117 - 0,0293 \cdot \text{Pijesak (\%)} \quad (R^2=0,595, p=0,0143, F=10,480^{**}, d.f.=1, 7)$$



Graf. 12. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vrijednost koeficijenta distribucije (Kd) nikosulfurona

Procenat adsorbovanog nikosulfurona na čestice zemljišta je u statistički visokoznačajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem pijeska i koeficijent linearne regresije iznosi -0,8621** (p=0,003). Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i procenta adsorbovanog nikosulfurona, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 13), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

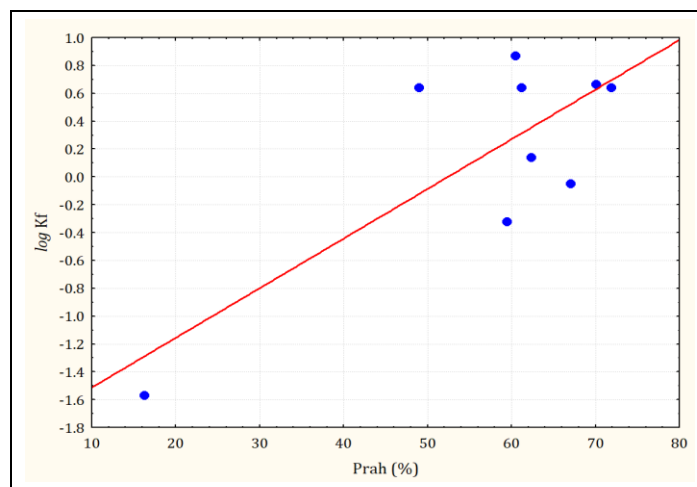
$$ADS (\%) = 48,676 - 0,5111 \cdot \text{Pijesak (\%)} \quad (R^2=0,743, p=0,0028, F=20,258^{**}, d.f.=1, 7)$$



Graf. 13. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na procenat adsorbovanog nikosulfurona (ADS %)

Adsorpcija nikosulfurona na čestice zemljišta, u statističkom smislu, manje zavisi od sadržaja čestica praha, nego što je to slučaj sa sadržajem čestica pijeska. Koeficijent linearne korelacije za sadržaj pijeska i pokazatelje adsorpcije (K_f , $\log K_f$, K_d i ADS%) u svim slučajevima je bio negativan, što znači da se sa povećanjem sadržaja pijeska u zemljištu smanjuje njegova adsorpcija na zemljište. Ovaj korelacioni odnos za uticaj praha na adsorpciju nikosulfurona je drugačiji, tj. koeficijent linearne regresije je pozitivan, a za uticaj sadržaja čestica praha na $\log K_f$ je statistički značajan i iznosi $0,7841^*$ ($p=0,012$). Regresiona zavisnost između sadržaja čestica praha u zemljištu, kao nezavisne veličine i $\log K_f$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 14), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

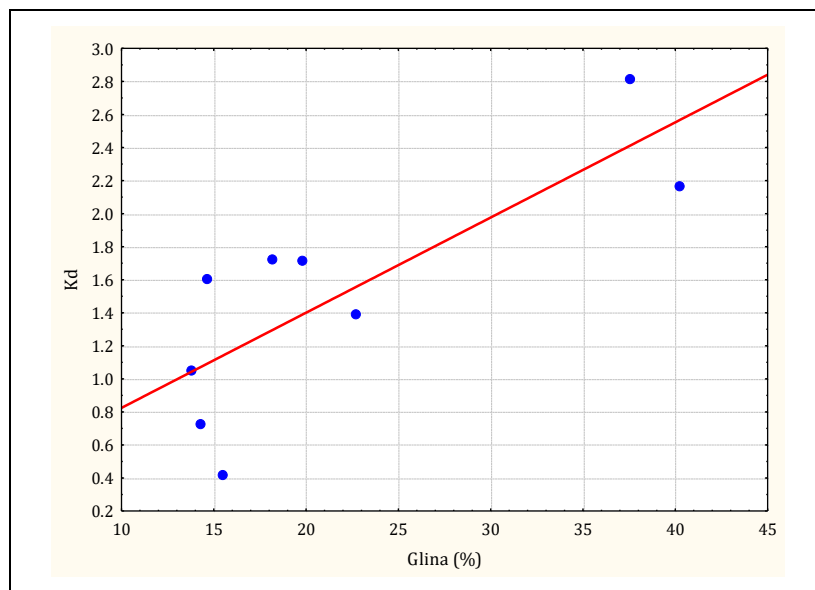
$$\log K_f = -1,868 + 0,0357 \cdot \text{Prah } (\%) \quad (R^2=0,614, p=0,0123, F=11,176^{**}, d.f.=1, 7)$$



Grafikon 14. Uticaj vrijednosti sadržaja praha u zemljištu (%) na $\log K_f$

Koeficijent distribucije (Kd) nikosulfurona u zemljištu je u statistički značajnom korelacionom odnosu sa sadržajem gline u tom zemljištu. Ta korelacija je pozitivna, što znači da se sa povećanjem sadržaja gline u zemljištu povećava i udio adsorbovanog nikosulfurona, jer sa povećanjem sadržaja gline, raste i vrijednost Kd, a što se vidi iz koeficijenta linearne regresije koji je pozitivan, statistički značajan i iznosi 0,7984*. Regresiona zavisnost između sadržaja gline u zemljištu, kao nezavisne veličine i Kd, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji (grafikon 15), a regresiona funkcija je predstavljena obrascem:

$$Kd = 0,248 + 0,0576 \cdot \text{Glina (\%)} \quad (R^2=0,6375, p=0,00988, F=12,310^{**}, d.f.=1, 7)$$



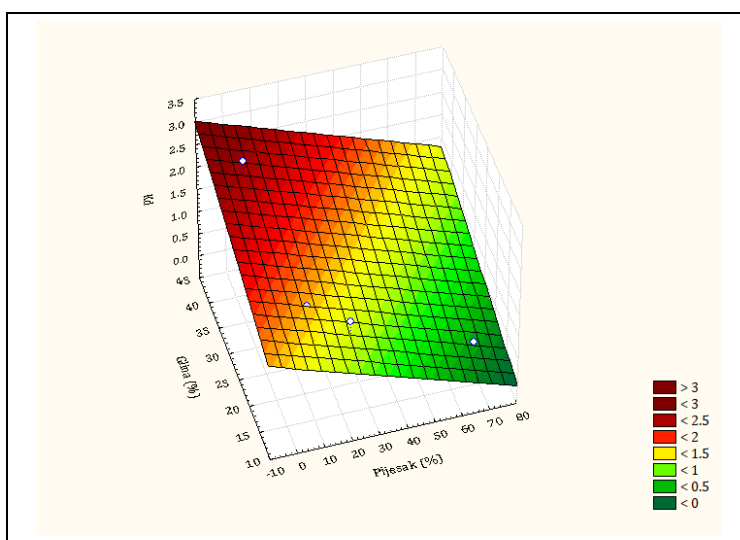
Grafikon 15. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na koeficijent distribucije nikosulfurona

Korelacioni odnosi između pokazatelja adsorpcije i mehaničkog sastava zemljišta (tabela 32) su pokazali da se sa povećanjem sadržaja pijeska u zemljištu smanjuje njegova adsorpcija, dok se sa povećanjem sadržaja gline njegova adsorpcija povećava. Utvrđeni korelacioni odnosi upućuju na utvrđivanje višestruke regresije između sadržaja pijeska i sadržaja gline, kako nezavisnih veličina i koeficijenta distribucije kao zavisne veličine. Višestruka regresija između ovih pokazatelja je predstavljena na grafikonu 16, a u tabeli 33 su dati statistički pokazatelji ove višestruke regresije, dok je sama regresija predstavljena obrascem:

$$Kd = 1,0299 - 0,0192 \cdot \text{Pijesak (\%)} + 0,0399 \cdot \text{Glina (\%)}$$

Tab. 33. Višestruka regresija zavisnosti koeficijenta distribucije nikosulfurona od sadržaja pijeska i gline u zemljištu, sa pripadajućom analizom varijanse i parcijalnim koeficijentima.

Kd= 1,0299 – 0,0192 · Pijesak (%) + 0,0399 · Glina (%)	
R=0,913**; R²=0,833**	p=0,00464; d.f.=2,6; F_{izr.}=14,981**
Parcijalni koeficijenti korelacije	
$r_{Kd \text{ Pijesak (\%)-Glina(\%)}} = -0,735^* (p=0,038)$	
$r_{Kd \text{ Glina (\%)-Pijesak(\%)}} = 0,764^* (p=0,027)$	



Graf. 16. Višestruka regresija zavisnosti koeficijenta distribucije nikosulfurona od sadržaja pijeska i gline u zemljištu

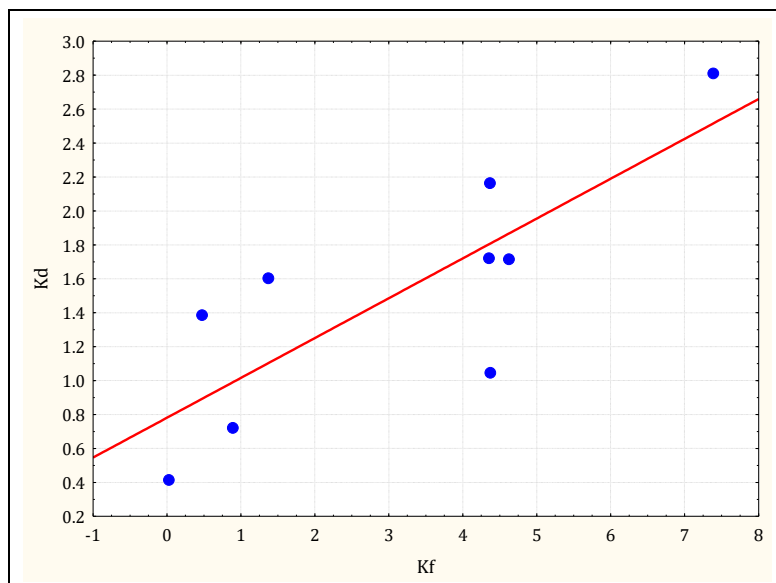
5.3.3. Korelacioni odnosi između adsorpcionih pokazatelja međusobno

Adsorpcija nikosulfurona u zemljištu je prikazana kroz različite adsorpcione pokazatelje, a što je iskorišteno za utvrđivanje korelacionih odnosa između ovih adsorpcionih pokazatelja (tabela 34).

Tab. 34. Korelacioni matriks između pokazatelja adsorpcije međusobno

ADP	\bar{x}	SD	r	1/n	log Kf	Kd	ADS
			p				
Kf	3,098	2,492	r	-0,855**	0,831**	0,801**	0,694*
			p				
1/n	0,819	0,570	r	-0,956**	-0,631	-0,638	-0,638
			p				
log Kf	0,183	0,767	r	0,744*	0,801*	0,801*	0,952***
			p				
Kd	1,508	0,730	r	0,952***	0,952***	0,952***	0,952***
			p				
ADS	38,165	11,432	r	-	-	-	-
			p				

Legenda: ADP= adsorpcioni pokazatelji; \bar{x} = srednja vrijednost; SD= standardna devijacija; r= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno ($p<0,05$); **= statistički visoko značajno ($p<0,01$); ***= statistički vrlo visoko značajno ($p<0,001$)



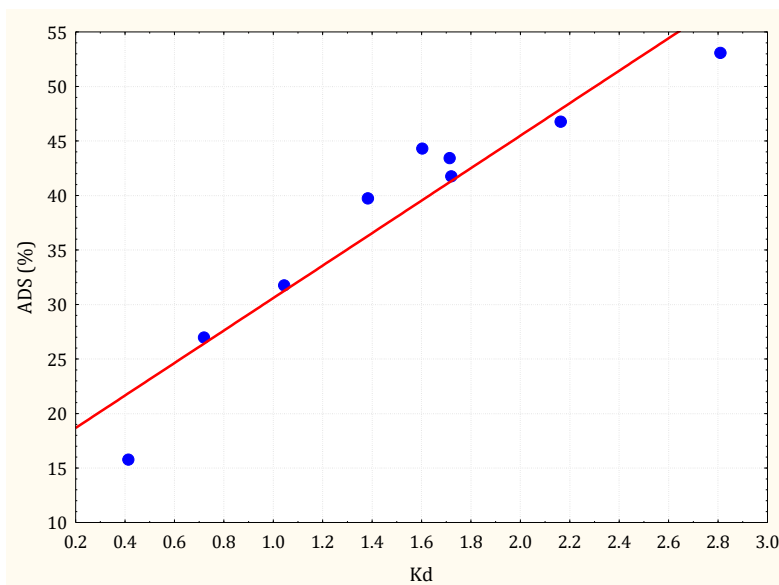
Graf. 17. Zavisnost koeficijenta distribucije nikosulfurona od konstante Frojndlihove adsorpcione izoterme (Kf)

Utvrđena je statistički značajna korelaciona zavisnosti između vrijednosti Kf, odnosno $\log Kf$, sa jedne strane i vrijednosti Kd sa druge strane. To bi značilo da utvrđivanjem jednog adsorpcionog pokazatelja se sa određenom statističkom sigurnošću može izračunati drugi adsorpcioni pokazatelj. To je posebno značajno za odnos između vrijednosti Kf i Kd, jer je Kd direktniji pokazatelj mobilnosti herbicida u zemljištu i stoga je korisno da se sa određenom pouzdanošću iz regresionog odnosa predstavljenog kroz Freundlich-ovu adsorpcionu izotermu, a preko konstanti Kf, odnosno $\log Kf$, može pouzdano procijeniti vrijednost koeficijenta distribucije Kd. Regresiona zavisnost između Kf i Kd je prikazana na grafikonu 18, a predstavljena obrascem:

$$Kd = 0,8712 + 0,2348 \cdot Kf \quad (R^2=0,6417, p=0,00946, F=12,538***, d.f.= 1, 7)$$

Regresiona zavisnost između procenta adsorbovanog nikosulfurona i vrijednosti Kd je prikazana na grafikonu 18, a predstavljena obrascem:

$$ADS (\%) = 15,693 + 14,897 \cdot Kd \quad (R^2=0,906, p=0,000077, F=67,567***, d.f.= 1, 7)$$



Graf. 18. Zavisnost procenta adsorbovanog nikosulfurona od koeficijenta distribucije (Kd)

5.4. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu

5.4.1. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu na lokaliteta Manjača

Praćenje dinamike degradacije nikosulfurona u zemljištu izvedeno je na tri nivoa koncentracija (0,075; 0,15 i 0,30 mg/kg) i tri tipa zemljišta, u periodu od 40 dana, uzorkovanjem neposredno po primjeni preparata, i nakon 10, 30 i 40 dana. Kriva razgradnje nikosulfurona u zemljištu predstavljena je kinetičkim modelom prvog reda i konstantom razgradnje. Poluvijek razgradnje je izračunat primjenom jednačine $C_t = C_0 e^{-kt}$, gdje C_t predstavlja koncentraciju ostataka pesticida za vrijeme t , C_0 početnu koncentraciju nakon aplikacije, i k predstavlja konstantu razgradnje (dani). Polu-vijek razgradnje nikosulfurona u zemljištu se računa primjenom vrijednosti k , $t_{1/2} = \ln 2/k$. Početni nivoi koncentracije nikosulfurona u zemljištu bili su na nivou primijenjenih koncentracija.

Izmjereni maseni udio nikosulfurona zavisno od početnog masenog udjela nikosulfurona, kao i vremena degradacije je prikazan u tabeli 13, a tabelama 35 i 36 prikazana je analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od faktora variranja.

Tab. 35. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije

Početni maseni udio (W)		Dana nakon tretiranja (D)		Izmjereni maseni udio
mg/kg	Oznaka faktora	Dana	Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)
0,075	W75	0	D0	0,174 \pm 0,0185
		10	D10	0,065 \pm 0,0041
		30	D30	0,049 \pm 0,0011
		40	D40	0,016 \pm 0,0010
0,15	W150	0	D0	0,109 \pm 0,0104
		10	D10	0,097 \pm 0,0015
		30	D30	0,063 \pm 0,0021
		40	D40	0,021 \pm 0,0010
0,30	W300	0	D0	0,325 \pm 0,0374
		10	D10	0,180 \pm 0,0010
		30	D30	0,095 \pm 0,0069
		40	D40	0,040 \pm 0,0023
Maseni udio bez obzira na početni maseni udio				Maseni udio bez obzira vrijeme degradacije
Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)	Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)	
D0	0,204 \pm 0,0972	W75	0,076 \pm 0,0626	
D10	0,114 \pm 0,0513	W150	0,074 \pm 0,0370	
D30	0,069 \pm 0,0208	W300	0,160 \pm 0,1137	
D40	0,026 \pm 0,0109			

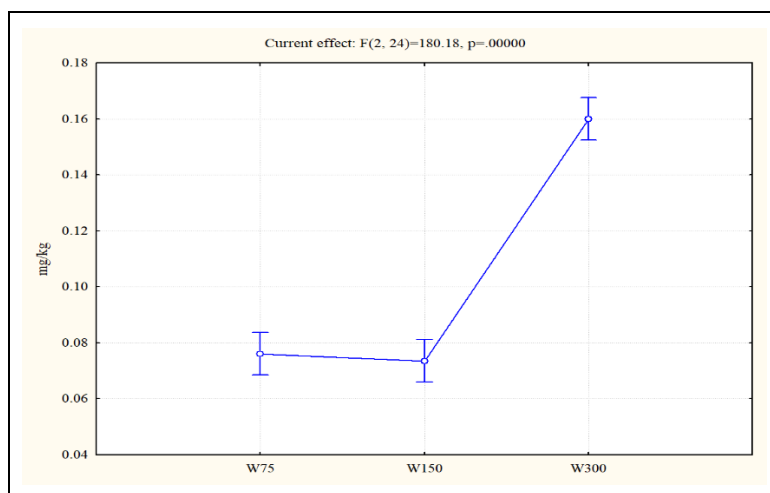
Legenda: \bar{x} = srednja vrijednost; SD = Standardna devijacija

Tab. 36. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od faktora variranja

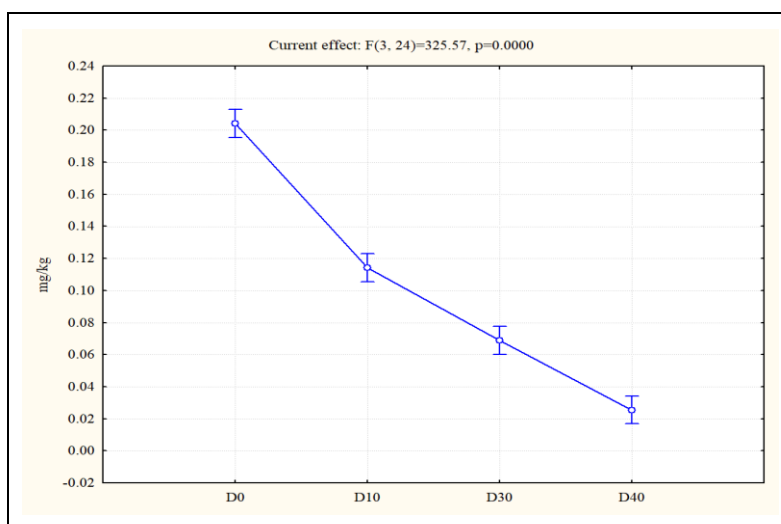
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Početni maseni udio (W)	0,058089	2	0,029044	180,182***	<0,0001
Dana nakon tretiranja (D)	0,157442	3	0,052481	325,573***	<0,0001
W \times D	0,039122	6	0,006520	40,450***	<0,0001
Pogreška	0,003869	24	0,000161		

Legenda: SS = suma kvadrata; d.f. = stepeni slobode; MS = sredina kvadrata; *** = statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,001$)

Grafikoni 19 i 20 prikazuju variranje masenog udjela nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača na nivou glavnih faktora variranja, početnog masenog udjela i vremena degradacije.



Graf. 19 . Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od početnog masenog udjela

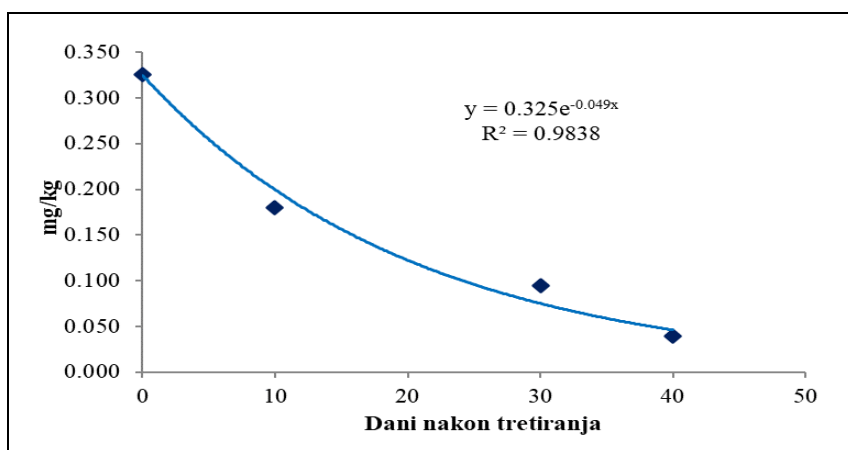


Graf. 20 . Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od broja dana od tretiranja

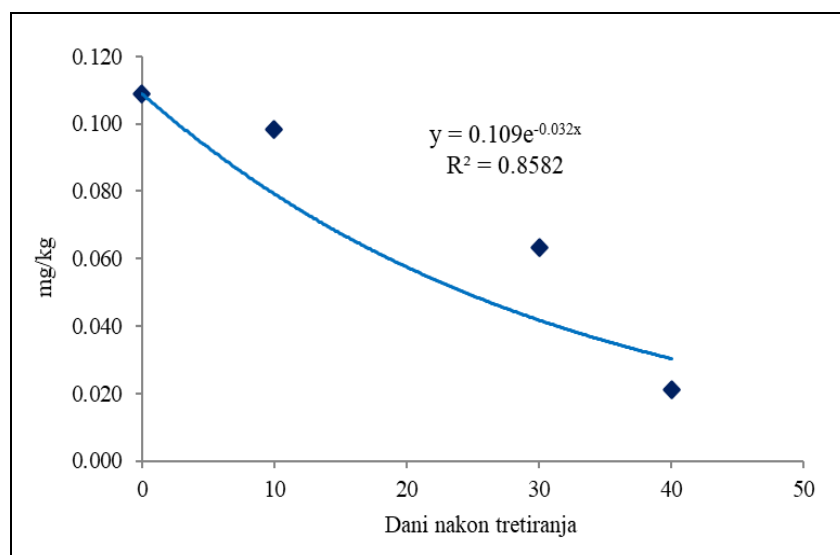
Kriva razgradnje nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača predstavljena je kinetičkim modelom prvog reda i konstantom razgradnje (tabela 37 i grafikoni 21, 22 i 23). Poluvijek razgradnje je izračunat primjenom jednačine $C_t = C_0 e^{-kt}$, gdje C_t predstavlja koncentraciju ostataka pesticida za vrijeme t , C_0 početnu koncentraciju nakon aplikacije, i k predstavlja konstantu razgradnje (dani).

Tab. 37. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača

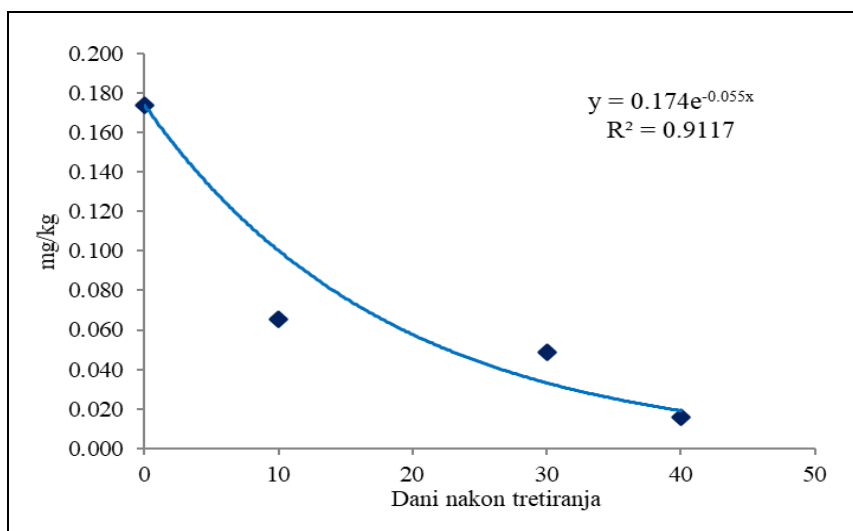
Početni maseni udio nikosulfurona (mg/kg)	Regresiona jednačina	Konstanta degradacije	R ²	DT ₅₀ (dan)
0,30	$y=0,325e^{-0,049x}$	0,049	0,9638	14,14
0,15	$y=0,109e^{-0,032x}$	0,032	0,7912	21,65
0,075	$y=0,174e^{-0,055x}$	0,055	0,8755	12,60
Prosjeak				16,13



Graf. 21. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg



Graf. 22. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg



Graf. 23 . Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg

5.4.2. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu na lokaliteta Kosjerevo

Izmjereni maseni udjeli nikosulfurona zavisno od početnog masenog udjela nikosulfurona, kao i vremena degradacije je prikazan u tabeli 11, a tabelama 38 i 39 prikazana je analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo od faktora variranja.

Tab. 38. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije

Početni maseni udio (W)		Dana nakon tretiranja (D)		Izmjereni maseni udio	
mg/kg	Oznaka faktora	Dana	Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)	
0,075	W75	0	D0	0,019 ± 0,0030	
		10	D10	0,016 ± 0,0014	
		30	D30	0,009 ± 0,0015	
		40	D40	0,031 ± 0,0025	
0,15	W150	0	D0	0,022 ± 0,0013	
		10	D10	0,008 ± 0,0003	
		30	D30	0,017 ± 0,0004	
		40	D40	0,029 ± 0,0036	
0,30	W300	0	D0	0,037 ± 0,0031	
		10	D10	0,034 ± 0,0023	
		30	D30	0,031 ± 0,0024	
		40	D40	0,015 ± 0,0025	
Maseni udio bez obzira na početni maseni udio				Maseni udio bez obzira vrijeme degradacije	
Oznaka faktora		$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)		Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)
D0		0,026 ± 0,0086		W75	0,019 ± 0,0085
D10		0,019 ± 0,0118		W150	0,019 ± 0,0083
D30		0,019 ± 0,0098		W300	0,029 ± 0,0093
D40		0,025 ± 0,0082			

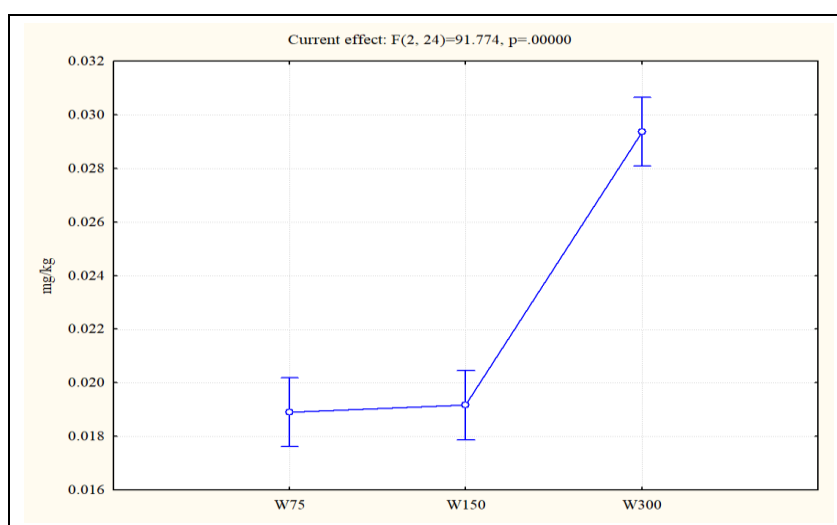
Legenda: \bar{x} = srednja vrijednost; SD = Standardna devijacija

Tab. 39. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo od faktora variranja

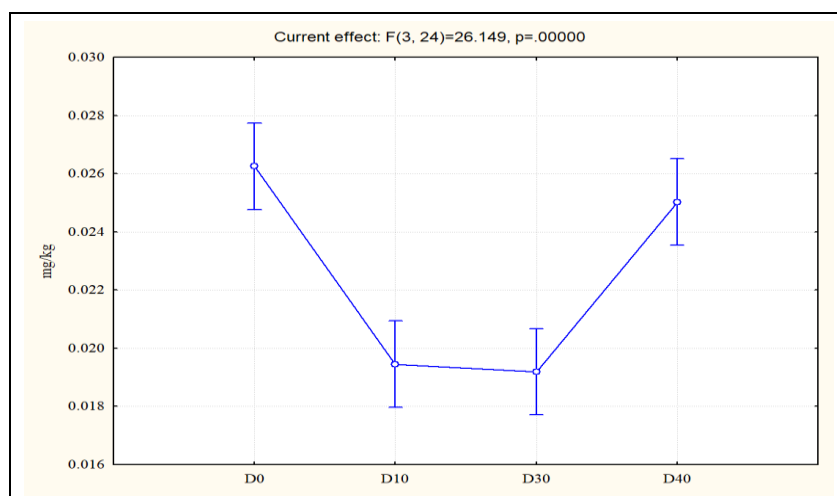
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Početni maseni udio (W)	0,000856	2	0,000428	91,774***	<0,0001
Dana nakon tretiranja (D)	0,000366	3	0,000122	26,149***	<0,0001
W × D	0,002033	6	0,000339	72,701***	<0,0001
Pogreška	0,000112	24	0,000005		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***= statistički visoko značajan uticaj ($p < 0,001$)

Grafikoni 24 i 25 prikazuju variranje masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo na nivou glavnih faktora variranja, početnog masenog udjela i vremena degradacije.



Graf. 24. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo od početnog masenog udjela

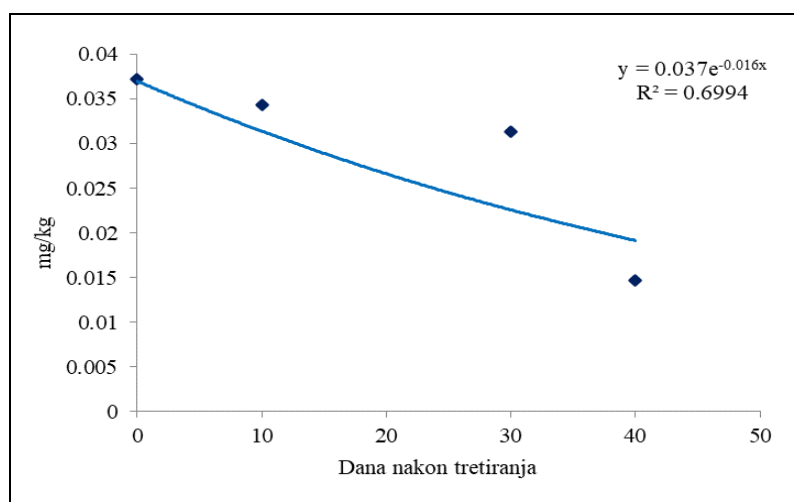


Graf. 25. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerevo od broja dana od tretiranja

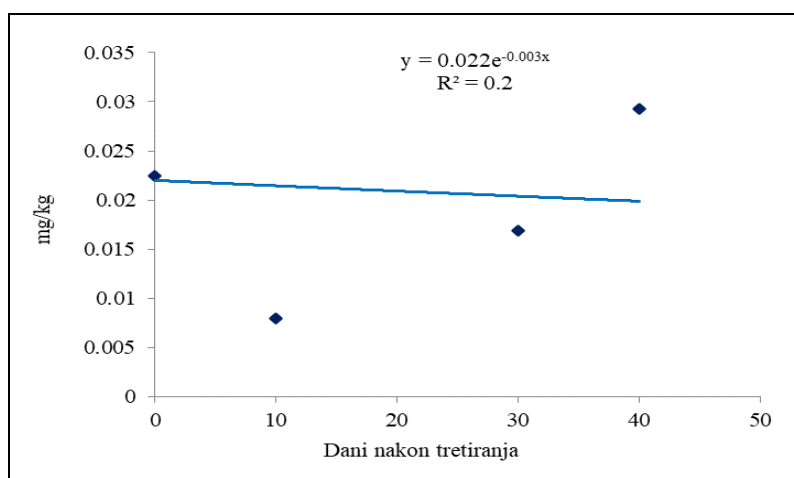
Kriva razgradnje nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo predstavljena je kinetičkim modelom prvog reda i konstantom razgradnje (tabela 40 i grafikoni 26, 27 i 28). Polu-vijek razgradnje je izračunat primjenom jednačine $C_t=C_0e^{-kt}$, gdje C_t predstavlja koncentraciju ostataka pesticida za vrijeme t , C_0 početnu koncentraciju nakon aplikacije, i k predstavlja konstantu razgradnje (dani).

Tab. 40. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo

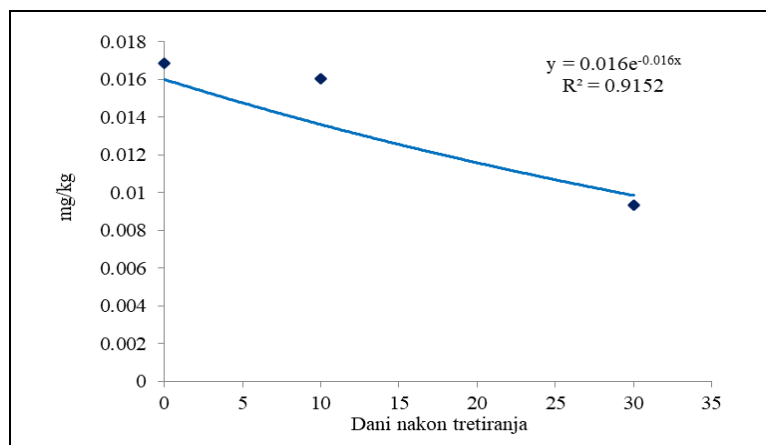
Početni maseni udio nikosulfurona (mg/kg)	Regresiona jednačina	Konstanta degradacije	R ²	DT ₅₀ (dan)
0,30	$y=0,337e^{-0,016x}$	0,016	0,6611	43,31
0,15	-	-	-	-
0,075	$y=0,016e^{-0,016x}$	0,016	0,8474	43,31
Prosjek				43,31



Graf. 26. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg



Graf. 27. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg



Graf. 28. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg

5.4.3. Praćenje razgradnje nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice

Početni nivo koncentracije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice bio je na nivou primijenjenih koncentracija. Izmjereni maseni udio nikosulfurona zavisno od početnog masenog udjela nikosulfurona, kao i vremena degradacije je prikazan u tabeli 11, a tabelama 41 i 42 prikazana je analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Tunjice od faktora variranja.

Tab. 41. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Tunjice, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije

Početni maseni udio (W)		Dana nakon tretiranja (D)		Izmjereni maseni udio	
mg/kg	Oznaka faktora	Dana	Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)	
0,075	W75	0	D0	0,110 \pm 0,0116	
		10	D10	0,013 \pm 0,0008	
		30	D30	0,015 \pm 0,0020	
		40	D40	0,005 \pm 0,0003	
0,15	W150	0	D0	0,124 \pm 0,0132	
		10	D10	0,031 \pm 0,0162	
		30	D30	0,009 \pm 0,0001	
		40	D40	0,012 \pm 0,0001	
0,30	W300	0	D0	0,150 \pm 0,0087	
		10	D10	0,049 \pm 0,0022	
		30	D30	0,020 \pm 0,0019	
		40	D40	0,095 \pm 0,0011	
Maseni udio bez obzira na početni maseni udio				Maseni udio bez obzira vrijeme degradacije	
Oznaka faktora		$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)		Oznaka faktora	$\bar{x} \pm SD$ (mg/kg)
D0		0,127 \pm 0,0200		W75	0,036 \pm 0,0453
D10		0,031 \pm 0,0178		W150	0,044 \pm 0,0498
D30		0,015 \pm 0,0048		W300	0,078 \pm 0,0514
D40		0,037 \pm 0,0434			

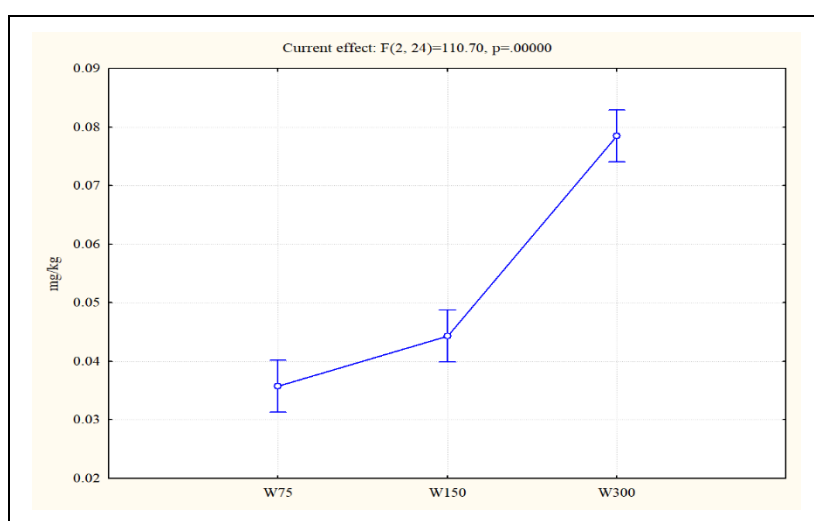
Legenda: \bar{x} = srednja vrijednost; SD= Standardna devijacija

Tab. 42. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Tunjice od faktora variranja

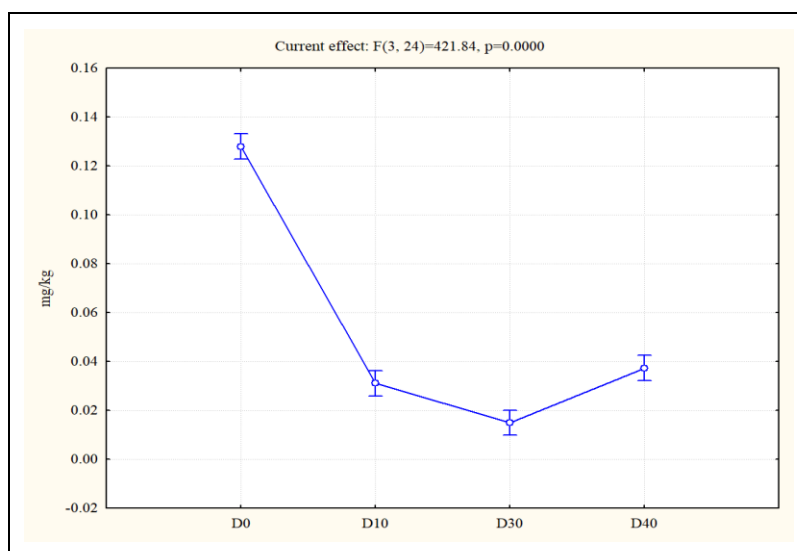
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Početni maseni udio (W)	0,012266	2	0,006133	110,71***	<0,0001
Dana nakon tretiranja (D)	0,070111	3	0,023370	421,84***	<0,0001
W × D	0,007382	6	0,001230	22,21***	<0,0001
Pogreška	0,001330	24	0,000055		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***= statistički visoko značajan uticaj

Grafikoni 29 i 30 prikazuju variranje masenog udjela nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice na nivou glavnih faktora variranja, početnog masenog udjela i vremena degradacije.



Graf. 29. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice od početnog masenog udjela

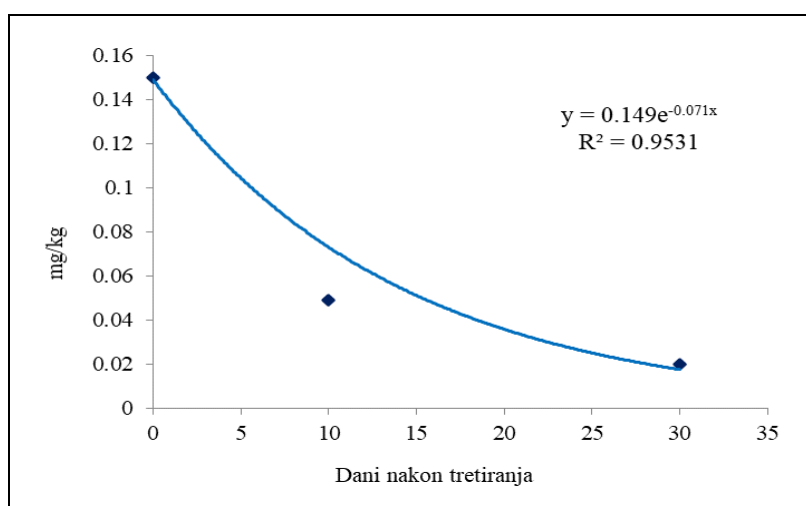


Graf. 30. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice od broja dana od tretiranja

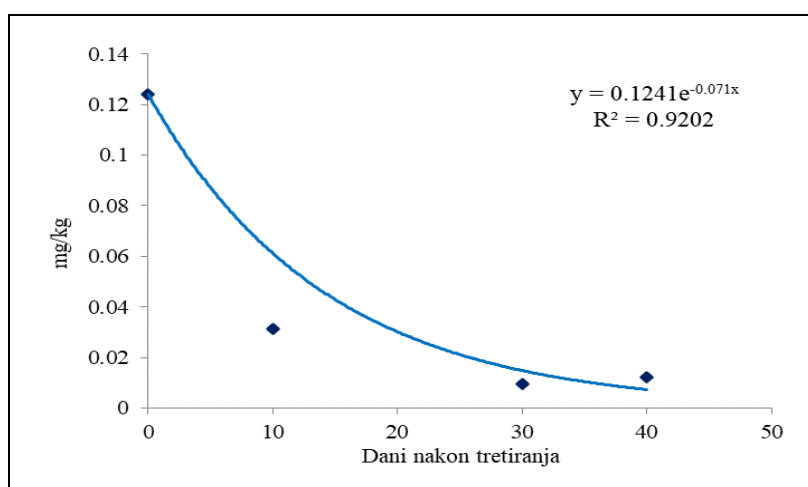
Kriva razgradnje nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice predstavljena je kinetičkim modelom prvog reda i konstantom razgradnje (tabela 43 i grafikoni 31, 32 i 33). Polu-vijek razgradnje je izračunat primjenom jednačine $C_t = C_0 e^{-kt}$, gdje C_t predstavlja koncentraciju ostataka pesticida za vrijeme t , C_0 početnu koncentraciju nakon aplikacije, i k predstavlja konstantu razgradnje (dani).

Tab. 43. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu- lokalitet Tunjice

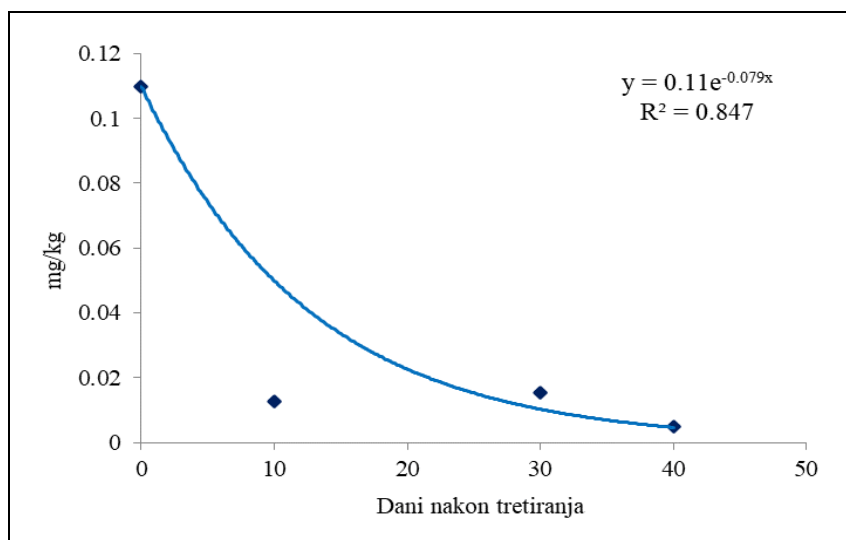
Početni maseni udio nikosulfurona (mg/kg)	Regresiona jednačina	Konstanta degradacije	R ²	DT ₅₀ (dan)
0,30	$y=0,149e^{-0,071x}$	0,071	0,9139	9,76
0,15	$y=0,124e^{-0,071x}$	0,071	0,7767	9,76
0,075	$y=0,11e^{-0,079x}$	0,079	0,7541	8,77
Prosjek				9,43



Graf. 31. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg



Graf. 32. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg



Graf. 33. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg

5.5. Mikrobni diverzitet zemljišta

Rezultati zastupljenosti mikroorganizama u uzorcima zemljišta pokazali su različitu brojnost sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama. Brojnost je zavisila od tipa analiziranog zemljišta, grupe mikroorganizama i koncentracije nikosulfurona (tabele 44-51).

Nakon 40 dana od tretmana različitim koncentracijama nikosulfurona, utvrđena je različita zastupljenost bakterija. Brojnost bakterijskih populacija je zavisila od lokacije i primijenjenih koncentracija nikosulfurona (tabela 44).

Tab. 44. Zastupljenost bakterijskih populacija u uzorcima zemljišta 40 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Ukupan broj bakterija ($\times 10^6$ CFU/g)	Amonifikatori		Oligonitrofilni ($\times 10^5$ CFU/g)	Azotobacter sp. ($\times 10^3$ CFU/g)
			ukupni ($\times 10^4$ CFU/g)	sporogeni		
Manjača	0,07	23,4	9,3	2,1	26,7	8,1
Tunjice	0,07	44,3	18,4	13,3	53,1	15,6
Kosjerovo	0,07	37,5	11,8	8,9	41,8	11,3
Manjača	0,15	22,5	10,2	2,5	24,1	4,3
Tunjice	0,15	47,8	17,4	14,8	33,2	11,2
Kosjerovo	0,15	40,2	15,5	10,6	27,8	8,8
Manjača	0,30	17,6	10,1	4,0	8,3	2,5
Tunjice	0,30	39,7	16,6	14,0	20,1	4,4
Kosjerovo	0,30	34,2	9,9	9,1	14,0	2,9

Pri tretmanu nikosulfuronom (finalna koncentracija 0,07 mg/kg), brojnost bakterija, ukupnih amonifikatora, oligonitrofila i *Azotobacter* sp. bila je najveća u uzorku zemljišta sa lokacije Tunjice a najmanja na lokaciji Manjača (tabela 44). Povećanje koncentracije nikosulfurona uglavnom je uticalo na smanjenje mikrobnog diverziteta u ispitivanim uzorcima. Međutim, ovo smanjenje broja mikroorganizama nije bilo izraženo kod ukupnog broja bakterija i ukupnih amonifikatora. I pri višim koncentracijama nikosulfurona, u većini uzoraka, mikrobn diverzitet bio je najizraženiji na lokaciji Tunjice a najmanji na lokaciji Manjača. Međutim, brojnost oligonitrofila i bakterija iz roda *Azotobacter* sp. je višestruko manja na svim lokacijama u odnosu na tretman nikosulfuronom čija je finalna koncentracija bila 0,07 mg/kg, posebno pri najvišoj koncentraciji nikosulfurona. Ovaj inhibitorski efekat se posebno zapaža kod bakterija iz roda *Azotobacter* sp. Njihova brojnost je drastično redukovana pri koncentraciji nikosulfurona od 0,30 mg/kg u odnosu na najnižu koncentraciju; stepen redukcije iznosi od 69 do 74%.

Tab. 45. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta 40 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Gljive	Aktinomicete
		(×10 ³ CFU/g)	
Manjača	0,07	18,8	6,7
Tunjice	0,07	9,2	13,5
Kosjerovo	0,07	13,2	11,2
Manjača	0,15	26,5	8,0
Tunjice	0,15	7,3	12,8
Kosjerovo	0,15	10,2	15,8
Manjača	0,30	17,0	3,1
Tunjice	0,30	5,5	4,2
Kosjerovo	0,30	11,3	3,9

Zastupljenost gljiva i aktinomiceta, nakon 40 dana od tretmana nikosulfuronom (0,07 mg/kg), nije bila velika. Na lokaciji Manjača zastupljenost gljiva bila je uglavnom najveća, dok su aktinomicete bile najzastupljenije u uzorku zemljišta sa lokacije Tunjice (tabela 45). Povećanje koncentracije nikosulfurona na 0,15 i 0,30 mg/kg uticalo je na smanjenje zastupljenosti gljiva i aktinomiceta u većini uzoraka. Zastupljenost aktinomiceta u svim ispitivanim uzorcima nije velika i konstantno se smanjuje sa povećanjem koncentracije nikosulfurona. Slično kao kod bakterija, njihov broj je drastično redukovana pri najvećoj koncentraciji nikosulfurona; u odnosu na najnižu koncentraciju (0,07 mg/kg), stepen redukcije iznosi od 54 do 69%.

Nakon 30 dana poslije tretmana pesticidom, brojnost mikroorganizama je takođe zavisila od lokacije i primijenjenih koncentracija nikosulfurona (tabele 45 i 46). I u ovom uzorkovanju, zastupljenost bakterija je u skoro svim tretmanima (pri koncentraciji nikosulfurona od 0,07 mg/kg) bila najveća u uzorcima sa lokacije Tunjice, dok je na lokaciji Manjača broj bakterija u većini uzoraka najmanji (tabela 47). Povećanje koncentracije nikosulfurona uglavnom je uticalo na smanjenje brojnosti mikrobnih populacija, što je posebno izraženo kod oligonitrofila i bakterija iz roda *Azotobacter* sp. Ukupan broj bakterija i broj ukupnih amonifikatora se u većini uzoraka takođe smanjuje sa povećanjem koncentracije nikosulfurona; međutim, razlike u brojnosti ovih grupa bakterija u svim tretmanima nisu izražene. Na lokaciji Tunjice, brojnost ovih grupa bakterija bila je najveća pri srednjoj koncentraciji nikosulfurona. Izraženo smanjenje brojnosti bakterijskih populacija primjetno je kod sporogenih amonifikatora, oligonitrofila i bakterija iz roda *Azotobacter* sp. pri najvećoj koncentraciji nikosulfurona.

Tab. 46. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta 30 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Ukupan broj bakterija ($\times 10^6$ CFU/g)	Amonifikatori		Oligonitrofilii ($\times 10^5$ CFU/g)	<i>Azotobacter</i> sp. ($\times 10^3$ CFU/g)
			ukupni ($\times 10^4$ CFU/g)	sporogeni		
Manjača	0,07	26,1	12,5	4,4	42,5	4,7
Tunjice	0,07	32,2	17,9	8,8	58,2	8,2
Kosjerovo	0,07	29,8	15,1	5,6	50,4	7,1
Manjača	0,15	37,2	11,1	3,5	36,6	6,2
Tunjice	0,15	42,5	20,1	6,7	42,6	7,0
Kosjerovo	0,15	33,3	15,7	7,9	30,1	6,6
Manjača	0,30	35,2	10,4	3,3	15,6	0,5
Tunjice	0,30	22,7	17,0	6,7	19,8	1,7
Kosjerovo	0,30	20,3	13,1	5,0	11,5	2,5

Najveća brojnost gljiva 30 dana nakon tretmana nikosulfuronom zabilježena je na lokaciji Manjača, pri koncentraciji pesticida od 0,07 mg/kg ($17,4 \times 10^3$ CFU/g). I pri koncentracijama od 0,15 i 0,30 mg/kg, zastupljenost gljiva bila je najveća u istom uzorku zemljišta. U svim uzorcima brojnost gljiva bila je veća u poređenju sa brojem aktinomiceta. Povećanje koncentracije nikosulfurona uticalo je na smanjenje diverziteta aktinomiceta u većini uzoraka, posebno pri najvišoj koncentraciji nikosulfurona (tabela 47).

Tab. 47. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta 30 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Gljive	Aktinomicete
		($\times 10^3$ CFU/g)	
Manjača	0,07	17,4	4,6
Tunjice	0,07	9,7	8,3
Kosjerovo	0,07	17,2	7,7
Manjača	0,15	13,5	4,8
Tunjice	0,15	8,7	8,3
Kosjerovo	0,15	10,3	7,0
Manjača	0,30	5,1	3,2
Tunjice	0,30	4,6	4,0
Kosjerovo	0,30	2,5	3,7

Tab. 48. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta 10 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Ukupan broj bakterija ($\times 10^6$ CFU/g)	Amonifikatori		Oligonitrofilni ($\times 10^5$ CFU/g)	<i>Azotobacter</i> sp. ($\times 10^3$ CFU/g)
			ukupni ($\times 10^4$ CFU/g)	sporogeni		
Manjača	0,07	14,6	8,8	3,5	22,4	5,8
Tunjice	0,07	32,0	15,2	4,6	34,0	3,9
Kosjerovo	0,07	28,8	10,0	5,6	52,8	6,4
Manjača	0,15	15,5	7,7	3,0	17,7	1,4
Tunjice	0,15	27,8	14,1	7,8	23,8	2,9
Kosjerovo	0,15	16,6	9,9	8,9	28,0	2,9
Manjača	0,30	13,3	6,9	2,9	11,1	0,3
Tunjice	0,30	28,9	10,9	5,3	19,5	0,7
Kosjerovo	0,30	20,1	9,9	7,1	22,9	0,8

Nakon 10 dana od početka ogleda, može se konstatovati približno identičan ukupan broj bakterija u svim uzorcima zemljišta na lokaciji Manjača. Dakle, povećanje koncentracije nikosulfurona nije uticalo na izraženu promjenu ukupnog broja bakterija na ovim lokacijama. U ovom uzorku zabilježen je najmanji ukupni broj bakterija u odnosu na druge ispitivane lokacije. Brojnost ove grupe mikroorganizama bila je najveća u uzorku sa lokacije Tunjice u svim tretmanima (tabela 48). U istom uzorku, ukupni amonifikatori su pokazali višu tolerantnost na sve primijenjene koncentracije nikosulfurona u odnosu na uzorke sa drugih lokacija, dok su sporogeni amonifikatori u zemljištu sa lokacije Kosjerovo najbrojniji pri svim koncentracijama nikosulfurona. Oligonitrofilni pokazuju sličnu dinamiku kao i brojnost sporogenih amonifikatora, dok su bakterije iz roda *Azotobacter* sp. pokazale izrazitu osjetljivost prema povećanju koncentracije nikosulfurona (tabela 48).

Nakon 10 dana od tretmana nikosulfuronom, gljive su bile najbrojnije pri najnižoj (0,07 mg/kg) i srednjoj (0,15 mg/kg) koncentraciji nikosulfurona u uzorcima zemljišta sa lokacije

Manjača i Kosjerovo. Na lokaciji Tunjice, brojnost gljiva bila je najveća pri srednjoj koncentraciji (0,15 mg/kg). U svim uzorcima, brojnost aktinomiceta je bila veoma niska i u svim uzorcima opada sa porastom koncentracije nikosulfurona. Najveća brojnost zabilježena je u uzorcima zemljišta sa lokacije Tunjice (tabela 49).

Tab. 49. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta (10 dana nakon tretmana nikosulfuronom)

Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/kg)	Gljive	Aktinomicete
		(×10 ³ CFU/g)	
Manjača	0,07	26,3	11,3
Tunjice		18,7	13,1
Kosjerovo		15,8	10,2
Manjača	0,15	17,5	6,1
Tunjice		19,6	12,1
Kosjerovo		11,0	8,4
Manjača	0,30	16,0	1,2
Tunjice		14,3	4,3
Kosjerovo		10,2	2,9

Primjena nikosulfurona uslovlila je pozitivne korelacione odnose između vrijednosti brojnosti mikroorganizama (tabela 50). U većini tretmana, korelacija je bila statistički značajna ili statistički veoma značajna. Korelacija je bila izraženija između grupa bakterija, dok je između gljiva i aktinomiceta prema bakterijama korelacija slabije izražena.

Tab. 50. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama u zemljištu koje je bilo izloženo nikosulfuronu

Pokazatelji	r	Amonifikatori		Oligonitrofilni	<i>Azotobacter</i> sp.	Gljive	Aktinomicete
	p	Ukupni	Sporogeni				
Ukupan broj bakterija	r	0,900***	0,917***	0,586***	0,900***	0,359 ^{NZ}	0,671***
	p	p<0,001	p<0,001	p=0,001	p<0,0001	p=0,051	p<0,0001
Amon.-ukupni-	r		0,954***	0,488**	0,939***	0,483**	0,625***
	p		p<0,0001	p=0,006	p<0,0001	p=0,007	p<0,0001
Amon.-sporogeni-	r			0,471**	0,909***	0,434**	0,646***
	p			p=0,009	p<0,0001	p=0,017	p<0,0001
Oligonitrofilni	r				0,629***	0,220 ^{NZ}	0,627***
	p				p<0,0001	p=0,243	p<0,0001
<i>Azotobacter</i> sp.	r					0,412**	0,750***
	p					p=0,024	p<0,0001
Gljive	r						0,347 ^{NZ}
	p						p=0,060

Legenda: r= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno (p<0,05); **= statistički visoko značajno (p<0,01); ***= statistički vrlo visoko značajno (p<0,001); ^{NZ}= nije statistički značajno (p>0,05)

U kontrolnoj varijanti, uzorak zemljišta sa lokacije Tunjice odlikuje se najvećom zastupljenošću bakterija u odnosu na ostale uzorke. Sličan zaključak se može konstatovati i za druge grupe bakterija (ukupne i sporogene amonifikatore i predstavnike roda *Azotobacter* sp.). Brojnost svih grupa bakterija je najmanja u uzorcima zemljišta sa lokacije Manjača (tabela 51). Brojnost gljiva je u svim kontrolnim uzorcima veća od broja aktinomiceta (tabela 52). Najveća zastupljenost gljiva bila je u uzorcima sa lokacije Manjača ($47,2 \times 10^3$ CFU/g), dok je aktinomiceta najviše u uzorcima sa lokacije Tunjice ($19,8 \times 10^3$ CFU/g).

Tab. 51. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta (kontrolni uzorci)

Lokacija	Ukupan broj bakterija ($\times 10^6$ CFU/g)	Amonifikatori		Oligonitrofilni ($\times 10^5$ CFU/g)	<i>Azotobacter</i> sp. ($\times 10^3$ CFU/g)
		ukupni ($\times 10^4$ CFU/g)	sporogeni		
Manjača	57,2	45,4	25,4	33,1	12,2
Tunjice	88,8	98,8	42,8	53,0	45,8
Kosjerovo	83,4	77,0	33,9	55,5	36,6

Tab. 52. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta (kontrolni uzorci)

Lokacija	Gljive ($\times 10^3$ CFU/g)	Aktinomicete ($\times 10^3$ CFU/g)
Manjača	47,2	8,9
Tunjice	22,4	19,8
Kosjerovo	35,7	16,0

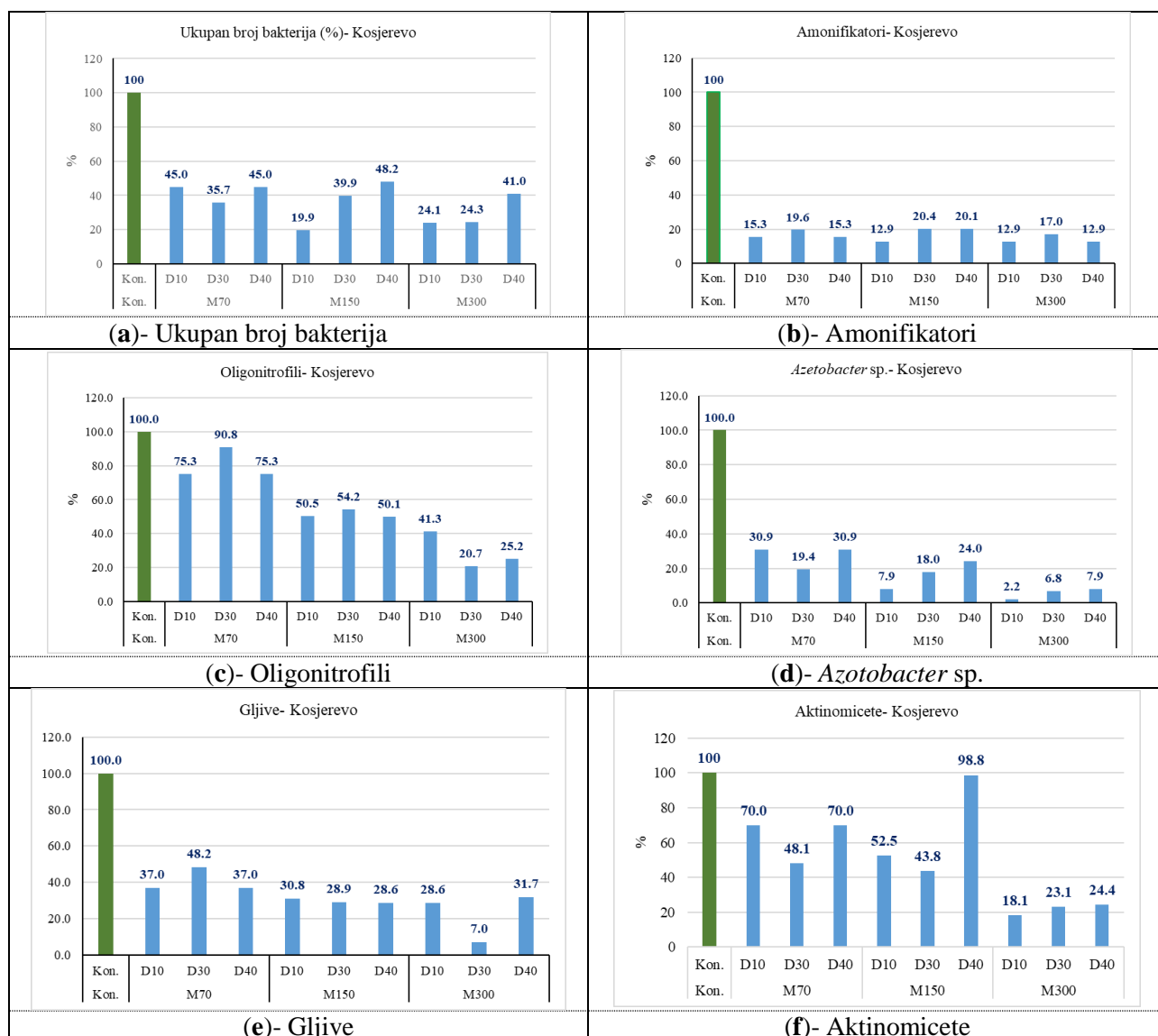
Između vrijednosti broja mikroorganizama u kontrolnom tretmanu uglavnom su prisutni pozitivni korelacioni odnosi (tabela 53). Izuzetak jedino predstavljaju gljive, koje su u negativnoj korelaciji sa brojem drugih grupa mikroorganizama.

Tab. 53. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama na kontroli

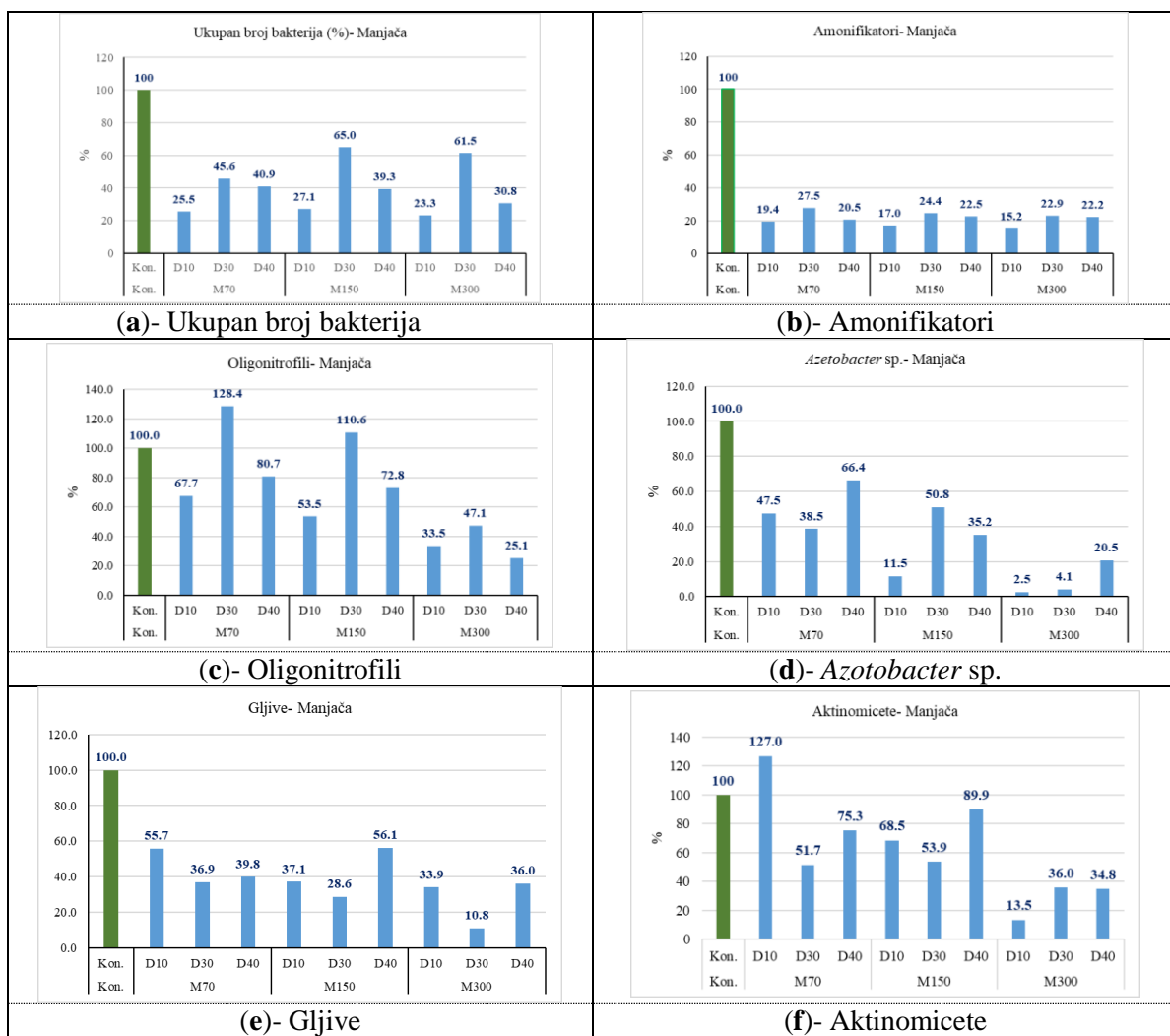
Pokazatelji	r	Amonifikatori		Oligonitrofilni	<i>Azotobacter</i> sp.	Gljive	Aktinomicete
	p	Ukupni	Sporogeni				
Ukupan broj bakterija	r	0,967	0,930	0,966	0,994	-0,919	0,982
	p	0,164	0,240	0,167	0,069	0,258	0,121
Amon. -ukupni-	r		0,993	0,868	0,989	-0,989	0,998
	p		0,076	0,331	0,095	0,094	0,043
Amon. -sporogeni-	r			0,803	0,964	-0,999*	0,983
	p			0,407	0,171	0,018	0,119
Oligonitrofilni	r				0,9323	-0,785	0,899
	p				0,236	0,425	0,288
<i>Azotobacter</i> sp.	r					-0,956	0,997
	p					0,189	0,052
Gljive	r						-0,977
	p						0,137

Legenda: r= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno ($p < 0,05$)

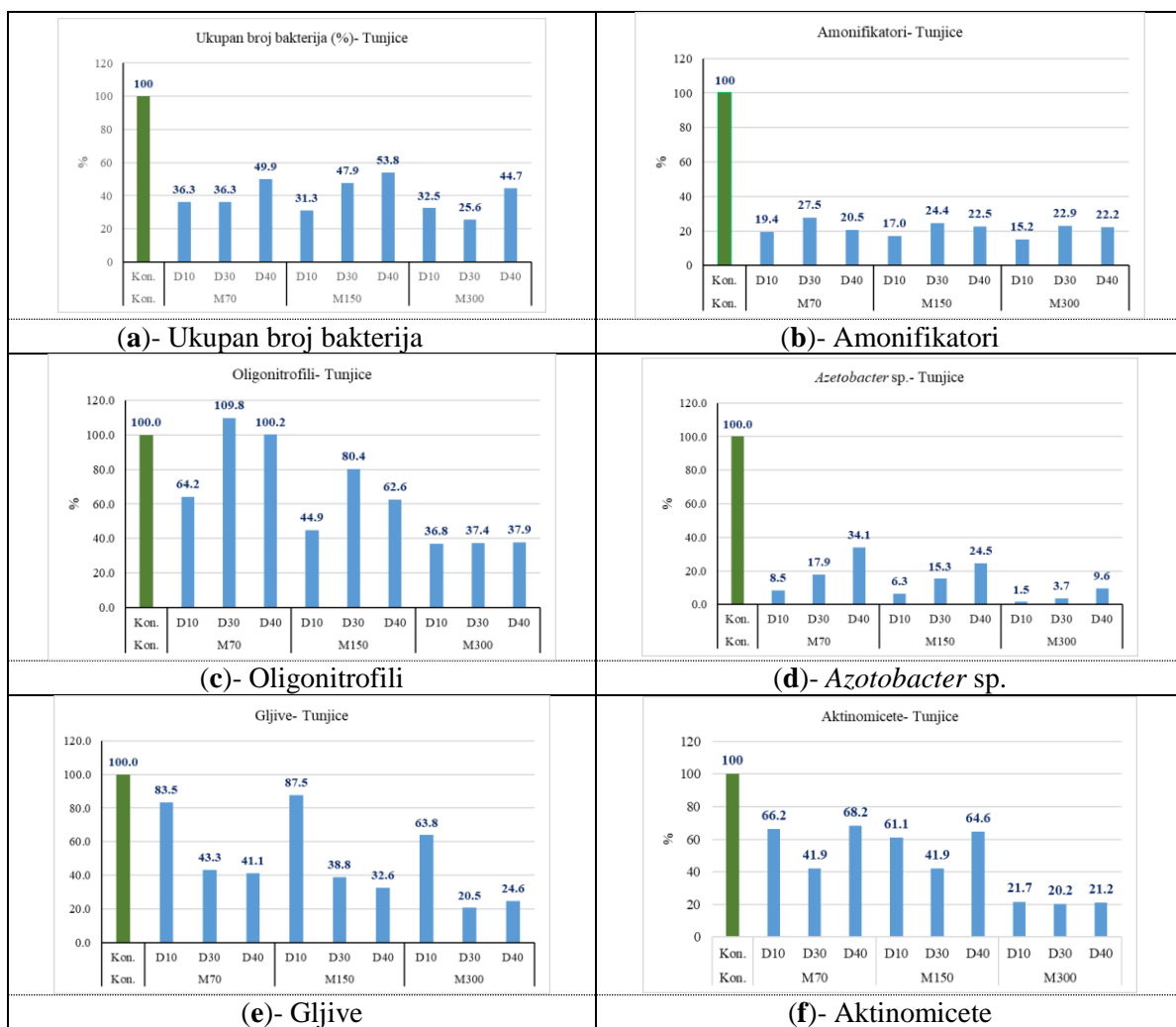
Brojnost mikroorganizama u zemljišta iskazana u apsolutnim jedinicama prikazana je u tabelama 44 do 51. Zanimljivo je sagledati odnose brojnosti mikorganizama u tretiranom zemljištu u odnosu na kontrolne uzorke kroz relativne brojeve, tj. procenete (%). U grafikonima 34 do 36 prikazana je relativna brojnost pojedinih grupa mikroorganizama u zemljištu. Pri ovom izračunavanju brojnost mikroorganizama na kontrolnom zemljištu, koje nije bilo pod uticajem nikosulfurona je uzeta, kao 100%-tna vrijednost, dok su brojevi mikroorganizama na tretiranom zemljištu iskazani kroz procenat u odnosu na kontrolni (netretirani) uzorak zemljišta.



Graf.34. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji KOSJEREVO (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tretmana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respektivno)



Graf. 35. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji MANJAČA (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tremana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respektivno)



Graf. 36. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji TUNJICE (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tremana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ respektivno)

Dobijeni rezultati pokazuju da je u većini uzoraka zastupljenost mikroorganizama u zemljištu bila najveća u kontroli u poređenju sa tretmanima gdje je primijenjen nikosulfuron (grafikoni 34, 35 i 36). Zastupljenost ukupnog broja bakterija je nakon primjene nikosulfurona redukovana (u zavisnosti od primijenjene koncentracije) za 52-80% na lokaciji Kosjerovo (grafikon 34), 35-77% na lokaciji Manjača (grafikon 35) i 46-74% na lokaciji Tunjice (grafikon 36). Ukupni amonifikatori su pokazali izrazitu osjetljivost prema primjeni nikosulfurona: na lokaciji Manjača, stepen redukcije ove grupe mikroorganizama iznosio je 72-85%, na lokaciji Tunjice 80-89% i na lokaciji Kosjerovo 80-87%. Vrste iz roda *Azotobacter* sp. pokazale su takođe visok stepen osjetljivosti na ovaj herbicid. Pri najnižoj i srednjoj koncentraciji nikosulfurona u tretmanu D10, brojnost gljiva nije drastično redukovana, dok je u ostalim

tretmanima primjetno smanjenje brojnosti ove grupe mikroorganizama. Za razliku od gljiva, brojnost aktinomiceta opada sukcesivno sa povećanjem koncentracije nikosulfurona.

Korelacioni odnosi između brojnosti mikroorganizama u kontrolnom tretmanu i hemijskih karakteristika zemljišta prikazani su u tabeli 54. Iz dobijenih rezultata jasno se vidi da je između ukupnog broja bakterija i brojnosti amonifikatora, s jedne strane, i pH vrijednosti, sa druge strane, prisutna visoka pozitivna korelacija, dok je brojnost gljiva negativno korelirana sa pH vrijednošću. Brojnost svih grupa bakterija i aktinomiceta je negativno korelirana sa sadržajem organskog ugljenika i humusa, dok je sa CEC korelacija pozitivna. Sa druge strane, gljive su pozitivno korelirane sa sadržajem organskog ugljenika i humusa a negativno korelirane sa CEC.

Tab. 54 Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama na kontroli i hemijskih karakteristika zemljišta

Pokazatelji	r	pH voda	pH KCl	H	OC	CEC
	<i>p</i>					
Ukupan broj bakterija	r	0,947	0,916	-0,996	-0,996	0,709
	<i>p</i>	0,208	0,263	0,058	0,056	0,498
Amon. -ukupni-	r	0,998*	0,988	-0,940	-0,941	0,865
	<i>p</i>	0,044	0,099	0,222	0,220	0,334
Amon. -spirogeni-	r	0,999*	0,999*	-0,893	-0,894	0,919
	<i>p</i>	0,031	0,023	0,298	0,296	0,258
Oligonitrofilii	r	0,831	0,780	-0,985	-0,985	0,502
	<i>p</i>	0,375	0,430	0,109	0,111	0,665
<i>Azotobacter</i> sp.	r	0,976	0,954	-0,980	-0,981	0,781
	<i>p</i>	0,140	0,195	0,127	0,125	0,429
Gljive	r	-0,997*	-0,998**	0,879	0,881	-0,930
	<i>p</i>	0,050	0,005	0,316	0,314	0,240
Aktinomicete	r	0,991	0,975	-0,961	-0,962	0,830
	<i>p</i>	0,087	0,142	0,179	0,177	0,377

Legenda: *r*= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno ($p < 0,05$); H= humus; OC= organski ugljenik; CEC= kapacitet katjonske razmjene

U tabeli 55 prikazani su korelacioni odnosi između brojnosti mikroorganizama u zemljištu tretiranog nikosulfuronom i adsorpcionih parametara. U odnosu na hemijske osobine zemljišta, stepen korelacije između brojnosti mikroorganizama i adsorpcionih pokazatelja je manje izražen. Zabilježena je pozitivna korelacija između brojnosti većine grupa mikroorganizama i parametara Kf, 1/n i log Kf, ali nije bila izražena. Nasuprot tome, visoka pozitivna korelacija je zabilježena između brojnosti spirogenih amonifikatora, oligonitrofila, vrsta iz roda *Azotobacter* sp. i aktinomiceta sa parametrima Kd i ADS%.

Tabela 55. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama u zemljištima sa nikosulfuronom i adsorpcionih pokazatelja nikosulfurona u tim zemljištima

Pokazatelji	r i p	Kf	1/n	log Kf	Kd ukupno	ADS%
Ukupan broj bakterija	r	0,541	0,290	0,412	0,958	0,9623
	p	0,636	0,813	0,730	0,186	0,175
Amon. -ukupni-	r	0,631	0,181	0,510	0,919	0,9260
	p	0,565	0,884	0,659	0,257	0,246
Amon. -sporogeni-	r	0,279	0,550	0,135	0,998**	0,999**
	p	0,820	0,629	0,914	0,002	0,008
Oligonitrofili	r	0,279	0,551	0,135	0,999**	0,999**
	p	0,820	0,629	0,914	0,002	0,009
<i>Azotobacter</i> sp.	r	0,318	0,517	0,174	0,999*	0,999*
	p	0,794	0,654	0,888	0,028	0,017
Gljive	r	-0,099	-0,694	0,049	-0,9838	-0,981
	p	0,937	0,512	0,969	0,115	0,126
Aktinomicete	r	0,339	0,497	0,197	0,998*	0,998*
	p	0,780	0,669	0,874	0,043	0,032

Legenda: *r*= koeficijent linearne korelacije; *= statistički značajno ($p<0,05$); **= statistički visoko značajno ($p<0,01$);

5.6. Tolerantnost mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona

Iz ispitivanih uzoraka zemljišta, primjenom metode obogaćivanja, izolovano je ukupno 10 bakterijskih izolata i 6 izolata gljiva. Svi izolati se međusobno razlikuju po svojim morfološkim osobinama. Makromorfološke i mikromorfološke karakteristike bakterijskih izolata prikazane su u tabelama 56 i 57.

Iz tabele 56 jasno se vidi da su iz zemljišta sa lokacije Manjača izolovana 2 bakterijska izolata tolerantna na prisustvo nikosulfurona. Oba izolata su tolerisala najnižu koncentraciju nikosulfurona (0,07 mg/kg), pri čemu je jedan (MA3/1) tolerisao i srednju koncentraciju ovog herbicida (0,15 mg/kg). Iz zemljišta na lokaciji Tunjice, izolovano je 5 bakterijskih izolata: dva izolata (TU 1/8 i TU 1/11) tolerisali su najnižu koncentraciju nikosulfurona (0,07 mg/kg), jedan izolat (TU 2/7) je tolerisano najnižu i srednju koncentraciju, dok su dva izolata (TU 3/5 i TU 4) tolerisali sve ispitivane koncentracije nikosulfurona. Iz uzoraka zemljišta sa lokacije Kosjerovo, izolat KO 2/2 je tolerisao koncentraciju od 0,07 mg/kg, dok su se izolati KO 3/13 i KO 3/21 odlikovali tolerantnošću prema najnižoj i srednjoj koncentraciji ovog herbicida u tečnoj hranljivoj podlozi. Najveći broj izolata stvara bijele ili žute mat kolonije, čija je veličina veća od 2 mm. Čelije su kod većine izolata štapićaste, Gram-pozitivne i asporogene.

Tab. 56. Makromorfološke karakteristike bakterijskih izolata

Izolat	Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (%)	Boja kolonije	Veličina kolonije (mm)	Sjajnost kolonije
MA 12/2	Manjača	0,07	Krem	2,5	Mat
MA 3/1	Manjača	0,07; 0,15	Bijela	2,3	Mat
TU 1/8	Tunjice	0,07	Žuta	2,2	Sjajna
TU 1/11	Tunjice	0,07	Bijela	2,4	Mat
TU 2/7	Tunjice	0,07; 0,15	Bijela	2,0	Sjajna
TU 3/5	Tunjice	0,07; 0,15; 0,30	Bijela	1,8	Sjajna
TU 4	Tunjice	0,07; 0,15; 0,30	Žuta	1,8	Mat
KO 2/2	Kosjerovo	0,07	Žuta	2,2	Mat
KO 3/13	Kosjerovo	0,07; 0,15	Krem	2,3	Sjajna
KO 3/21	Kosjerovo	0,07; 0,15	Žuta	2,0	Mat

Tab. 57. Mikromorfološke karakteristike bakterijskih izolata

Izolat	Koncentracija nikosulfurona (%)	Oblik ćelije	Veličina ćelije (µm)	Bojenje po Gramu	Prisustv spora
MA 12/2	0,07	Štapićast	1,5×0,5	+	+
MA 3/1	0,07; 0,15	Štapićast	2,3×0,6	-	-
TU 1/8	0,07	Okrugli	0,6	+	-
TU 1/11	0,07	Okrugli	0,7	-	-
TU 2/7	0,07; 0,15	Štapićast	1,8×0,5	+	-
TU 3/5	0,07; 0,15; 0,30	Štapićast	2,1×0,5	+	+
TU 4	0,07; 0,15; 0,30	Štapićast	1,0×0,3	-	-
KO 2/2	0,07	Štapićast	1,9×0,5	-	-
KO 3/13	0,07	Okrugli	0,6	+	-
KO 3/21	0,07; 0,15	Štapićast	1,9×0,5	+	+

Iz ispitivanih uzoraka zemljišta, izolovano je 6 izolata gljiva, od kojih su dva (MA*1 i MA*4-3), koji su izolovani iz zemljišta sa lokacije Manjača imali sposobnost tolerancije prema svim ispitivanim koncentracijama nikosulfurona. Izolati TU*7 (sa lokacije Tunjice) i KO 2G (sa lokacije Kosjerovo) tolerisali su samo najnižu koncentraciju nikosulfurona (0,07 mg/kg), dok su izolati TU2T (sa lokacije Tunjice) i KO**1 (sa lokacije Kosjerovo) tolerisali nikosulfuron u koncentracijama 0,07 i 0,15 mg/kg (tabela 58). Oba ova izolata imaju neseptirane hife, dok svi ostali izolati imaju septirane razgranate hife.

Tab. 58. Izolati gljiva tolerantni na prisustvo nikosulfurona

Izolat	Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (%)	Boja	Septiranost hifa	Razgranatost hifa
MA*1	Manjača	0,07; 0,15; 0,30	Bijela	+	-
MA*4-3	Manjača	0,07; 0,15; 0,30	Zelena	+	+
TU*7	Tunjice	0,07	Žuta	+	+
TU2T	Tunjice	0,07; 0,15	Zelena	-	+
KO 2G	Kosjerovo	0,07	Žuta	+	+
KO**1	Kosjerovo	0,07; 0,15	Zelena	-	-

Najtolerantnijih izolati su presijani na hranljivu podlogu Czapekov agar i čuvani na temperaturi od +4°C do ispitivanja njihove rezistencije na prisustvo nikosulfurona.

5.7. Rezistencija izolata mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona

Najtolerantniji izolati su korišteni za ispitivanje njihove rezistentnosti prema različitim koncentracijama nikosulfurona u agarizovanoj hranljivoj podlozi LB za bakterije i roze bengal streptomicin agar za gljive. Za ovo istraživanje odabrana su dva bakterijska izolata, koja su pokazali rast na svim ispitivanim koncentracijama nikosulfurona, odnosno TU 3/5 i TU 4, dva izolata gljiva sa identičnim karakteristikama (MA*1 i MA*4-3) i dva izolata bakterija sa lokacija Manjača (MA 3/1) i Kosjerovo (KO 3/21), koja su se odlikovala tolerantnošću prema najnižoj i srednjoj koncentraciji nikosulfurona.

Rezultati rezistentnosti ovih izolata na različite koncentracije nikosulfurona u agarizovanoj LB hranljivoj podlozi prikazani su u tabeli 59.

Tab. 59. Rezistentnost izolata bakterija na različite koncentracije nikosulfurona

Izolat	Lokacija	Koncentracija nikosulfurona (mg/L)					
		25	50	100	200	500	1000
TU 3/5	Tunjice	++++	++++	++++	+++	+++	+++
TU 4	Tunjice	++++	+++	+++	++	++	++
MA 3/1	Manjača	++++	+++	+++	+++	++	+
KO 3/21	Kosjerovo	++++	+++	++	++	+	+

Rezultati pokazuju varijacije u stepenu rezistentnosti ispitivanih izolata mikroorganizama u zavisnosti od primijenjenih koncentracija nikosulfurona. Svi ispitivani izolati pokazali su maksimalan stepen rasta pri koncentraciji od 25 mg/L u hranljivoj podlozi. Izolat TU 3/5 je pokazao maksimalnu rezistentnost na koncentracije nikosulfurona od 50 i 100 mg/L, dok su ostali izolati bili slabije rezistentni; ovo se posebno odnosi na izolat KO 3/21, koji pokazuje veoma slabu rezistentnost pri višim koncentracijama nikosulfurona u hranljivoj podlozi, tako da je rast ovog izolata minimalan pri koncentracijama većim od 500 mg/L. Izolat MA 3/1 pokazao je veću rezistentnost u odnosu na izolat TU 4, ali je rast pri najvišim koncentracijama nikosulfurona veoma slab, odnosno rezistencija je neznatna. Ovi rezultati ukazuju na inhibitorno djelovanje visokih koncentracija nikosulfurona na rezistenciju izolata TU 4 i MA 3/1, dok je rezistencija izolata KO 3/21 inhibirana i mnogo nižim koncentracijama ovog herbicida. Sa druge strane, rezistencija izolata TU 3/5 nije značajno inhibirana ni prisustvom visokih koncentracija nikosulfurona.

Rezultati rezistentnosti izolata gljiva MA*1 i MA*4-3 na različite koncentracije nikosulfurona u agarizovanoj podlozi roze bengal streptomycin agar prikazani su u tabeli 60.

Tab. 60. Rezistentnost izolata gljiva na različite koncentracije nikosulfurona

Izolat	Porijeklo	Koncentracija nikosulfurona (mg/L)					
		25	50	100	200	500	1000
MA*1	Manjača	++++	+++	++	+	-	-
MA*4-3	Manjača	++++	+++	+++	++	+	+

Iz tabele 60 jasno se vidi da oba izolata gljiva pokazuju rezistentnost prema koncentraciji nikosulfurona od 25 mg/L i da se sa povećanjem koncentracije herbicida u hranljivoj podlozi rezistentost smanjuje. Opadanje stepena rezistencije je izraženije kod izolata MA*1; kod ovog izolata, rezistencija rapidno opada već pri koncentraciji od 100 mg/L, dok su najviše koncentracije herbicida od 500 i 1000 mg/L potpuno inhibirale rast ovog izolata. Sa druge strane, rezistencija izolata MA*4-3 se rapidno smanjuje pri koncentracijama nikosulfurona većim od 200 mg/L, a pri najvišim koncentracijama ovog herbicida, izolat ima neznatnu sposobnost rasta.

5.8. Identifikacija izolata mikroorganizama tolerantnih i rezistentnih na prisustvo nikosulfurona

Bakterijski izolati TU 3/5 i TU 4, kao i izolat gljive MA*4-3 pokazali su najveću tolerantnost i rezistentnost prema različitim koncentracijama nikosulfurona. Bakterijski izolati su identifikovani primjenom API i APIWEB tehnike a izolat gljive je identifikovan nakon pregleda karakteristika rasta na različitim hranljivim podlogama.

5.8.1. Identifikacija bakterijskih izolata

Za identifikaciju izolata TU 3/5 korišten je API 50CH, dok je za identifikaciju izolata TU 4 korišten API 20NE.

Primjenom API 50CH ustanovljeno je da je izolat TU 3/5 pripada rodu *Bacillus* sp. kao i da su neophodna dalja izučavanja kako bi se utvrdio pravi identitet ovog izolata. Primjenom navedene metode, ovaj izolat pokazuje srednji stepen sličnosti sa vrstom *B. subtilis*. Biohemijski profil ovog izolata ukazuje na pozitivnu reakciju katalaza i oksidaza testa i Vog Proskauer reakcije. Izolat koristi citrat, metaboliše skrob, stvara nitrate, koristi glukozu, saharozu, laktozu, manitol i galaktozu. Izolat pokazuje negativnu reakciju na metil red i produkciju ureaze. Ne metaboliše ksilozu i maltozu. Primjenom API 20NE ustanovljeno je da izolat TU 4 pripada rodu *Pseudomonas* sp. i da su potrebna dodatna istraživanja (molekularne

analize) kako bi se precizno utvrdila vrsta. Izolat obavlja redukciju nitrata do nitrita, obavlja asimilaciju jabučne i kaprinske kiseline, kao i trinatrijum citrata. Na sve ostale reakcije, izolat je pokazao negativnu reakciju.

5.8.2. Identifikacija izolata gljive

Presijavanjem izolata MA*4-3 na različite hranljive podloge ustanovljeno je da ovaj izolat pripada vrsti *Penicillium glabrum*. Na podlozi RBSA ovaj izolat u početku raste sporo a zatim se rast ubrzava. Sa lica su kolonije žućkaste boje, koja kasnije prelazi u žućkasto-zelenkastu. Sa naličja kolonije su tamnocrvene. Na Czapek-ovom agaru, kolonije ove gljive rastu sporije nego na RBSA; sa lica su zelenkaste boje a sa naličja svijetlozelene.

5.9. Rast mikroorganizama u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije

Najtolerantniji i najrezistentniji izolati bakterija (TU 3/5 i TU 4) i gljiva (MA*4-3) su korišteni za ispitivanje rasta u prisustvu nikosulfurona kao jedinstvenog izvora ugljenika i energije.

5.9.1. Rast bakterija u prisustvu nikosulfurona kao jedinstvenog izvora ugljenika i energije

Rezultati ukazuju da su oba bakterijska izolata bila sposobna da rastu u prisustvu različitih koncentracija nikosulfurona (tabela 61). Bakterijski rast zavisio je od vremena inkubacije i početne koncentracije nikosulfurona. Dodavanje nikosulfurona u podlogu uticalo je na smanjenje stope rasta u odnosu na kontrolu, gdje su bakterijski izolati koristili glukozu kao jedinstveni izvor ugljenika i energije.

Zasijavanjem inokuluma čistih kultura bakterijskih izolata na hranljivi agar utvrđeno je da je veličina inokuluma kod oba izolata bila $> 10^8$ CFU/mL.

Tab. 61. Rast bakterijskih izolata TU 3/5 i TU 4 (OD₅₅₀) u prisustvu nikosulfurona

Izolat	Koncentracija nikosulfurona (mg/L)	Vrijeme inkubacije (h)				
		0	12	24	48	72
TU 3/5	Kontrola	0,325	0,388	0,421	0,454	0,398
	10	0,278	0,302	0,334	0,347	0,358
	25	0,257	0,278	0,301	0,313	0,277
	50	0,222	0,264	0,211	0,255	0,237
	100	0,206	0,212	0,255	0,197	0,175
	200	0,184	0,164	0,133	0,101	0,088
TU 4	Kontrola	0,409	0,447	0,499	0,532	0,476
	10	0,377	0,390	0,412	0,423	0,445
	25	0,343	0,342	0,367	0,401	0,387
	50	0,333	0,287	0,311	0,330	0,288
	100	0,314	0,276	0,263	0,272	0,221
	200	0,265	0,241	0,210	0,179	0,184

Povećavanje koncentracije nikosulfurona u podlozi uglavnom je uticalo na smanjenje optičke gustine, odnosno bakterijskog rasta. Oba izolata u kontroli pokazuju konstantan rast tokom inkubacionog perioda do 48 h inkubacije, nakon čega se optička gustina smanjuje. Pri koncentracijama od 10 i 25 mg/L u tečnoj podlozi, optička gustina oba izolata se konstantno povećava tokom inkubacije. Povećanje koncentracije nikosulfurona na 50 mg/L dovelo je do promjena u karakteru krive optičke gustine; kod izolata TU 3/5 je početni porast optičke gustine (do 12 h inkubacije) praćen smanjenjem nakon 24h, da bi poslije još jednog porasta poslije 48 h, rast završen smanjenjem optičke gustine. Sa druge strane, kod izolata TU 4 zabilježen je početni pad optičke gustine, nakon čega je do posljednjeg uzorkovanja zabilježen porast optičke gustine. Inkubacioni period je završen smanjenjem optičke gustine. Veće koncentracije nikosulfurona u tečnoj kulturi imale su za posljedicu inhibiciju bakterijskog rasta, koji je znatno izraženiji kod izolata TU 4; u većini uzoraka, zabilježeno je konstantno smanjenje optičke gustine tokom inkubacije. Nasuprot tome, pri koncentraciji herbicida od 100 mg/L, optička gustina izolata TU 3/5 se povećava u prvih 24 h inkubacije, nakon čega se smanjuje. Kao i kod izolata TU 4, i ovaj izolat je inhibiran koncentracijom nikosulfurona od 200 mg/L. Ovi rezultati ukazuju da se oba izolata na različite načine prilagođavaju različitim koncentracijama nikosulfurona. Izolat TU 3/5, iako u većini uzoraka pokazuje niže vrijednosti optičke gustine, potpuno je prilagođen početnim koncentracijama nikosulfurona od 10 i 25 mg/L a brže se prilagođava visokim koncentracijama ovog pesticida. Stepem rasta ovog izolata znatno je izraženiji u poređenju sa izolatom TU 4. Literaturni podaci ukazuju da vrste iz rodova *Bacillus*

sp. i *Pseudomonas* sp. imaju značajnu ulogu u toleranciji, rezistenciji i degradaciji pesticida u zemljištu.

5.9.2. Rast gljive u prisustvu nikosulfurona kao izvora ugljenika i energije

Penicillium glabrum MA*4-3 pokazao je različitu sposobnost rasta u zavisnosti od vremena inkubacije i početne koncentracije nikosulfurona (tabela 62). Gustina populacije, odnosno broj spora ove gljive iznosio je $2,3 \times 10^5$ /mL.

Tab. 62. Rast *Penicillium glabrum* MA*4-3 (OD550) u prisustvu nikosulfurona

Izolat	Koncentracija nikosulfurona (mg/L)	Vrijeme inkubacije (h)				
		0	12	24	48	72
MA*4-3	Kontrola	0,038	0,044	0,050	0,062	0,064
	10	0,030	0,027	0,031	0,034	0,041
	25	0,025	0,020	0,021	0,023	0,030
	50	0,021	0,017	0,015	0,015	0,014
	100	0,017	0,012	0,010	0,007	0,005
	200	0,015	0,011	0,007	0,008	0,004

U kontrolnoj varijanti, gljiva *Penicillium glabrum* MA*4-3 pokazala je najbolji rast. Kao i kod bakterijskih izolata, dodavanje nikosulfurona tečnoj hranljivoj podlozi uticalo je na smanjenje optičke gustine. Povećanjem koncentracije nikosulfurona u podlozi došlo je do smanjivanja optičke gustine. Pri koncentracijama od 10 i 25 mg/L u većini uzoraka zabilježen je početni pad optičke gustine (nakon 12 h inkubacije), poslije čega se optička gustina povećava. Inhibirajuće djelovanje nikosulfurona zabilježeno je do 48 sata inkubacije pri početnim koncentracijama od 50 i 100 mg/L, dok je koncentracija od 200 mg/L depresivno djelovala na rast gljive tokom inkubacionog perioda. Stepenn rasta gljive u ovom ogledu bio je nizak u svim tretmanima, što je vjerovatno posljedica njenog slabog i sporog rasta na podlozi RBSA i malog broja spora korištenih u ovom ogledu.

6. DISKUSIJA

6.1. Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu

Pored konstantnog povećanja njihove efikasnosti, smanjenja količine njihove primjene u biljnoj proizvodnji i unaprijeđenja zakonske regulative u vezi sa ograničenjima u primjeni, pesticidi su i u 21. vijeku označeni kao uzročnici kontaminacije životne sredine (zemljišta, voda i vazduha). Radi zadovoljenja interesa u biljnoj proizvodnji i kvalitetu životne sredine, neophodno je bolje razumijevanje sudbine pesticida, posebno kada je u pitanju izloženost ciljnih i neciljnih organizama djelovanju pesticida. Ovaj zadatak zahtjeva nove napore u različitim sferama: od istraživanja u poljskim uslovima do molekularnog nivoa. Treba napomenuti da niz biološko-fizičko-hemijskih procesa može dovesti do permanentne akumulacije pesticida ili njihovog uklanjanja iz ekosistema; kompleksnost ovih procesa stvara teškoće u procjeni stepena akumulacije ili razgradnje pesticida u zemljištu. Kada se tome dodaju hemijska struktura pesticida i njihova reaktivnost, diverzitet zemljišnih organizama, tip zemljišta i njegove fizičke i hemijske karakteristike, pedoklimatski uslovi, procjena sudbine pesticida u zemljištu postaje još kompleksniji proces (Chaplain et al., 2011). Zbog toga, istraživanja sorpcije i degradacije pesticida pružaju značajne informacije o kontroli korova, toksičnosti za biljke, spiranju u dublje slojeve i drugim procesima, pomoću kojih se mogu procijeniti efekti na biotičke i abiotičke komponente životne sredine, kao i predvidjeti potencijal kontaminacije podzemnih i površinskih voda (Caceres Jensen et al., 2019).

Pesticidi koji se koriste u evropskim zemljama formulisanu su na bazi mnogih aktivnih supstanci, od kojih neki mogu izazvati zabrinutost u vezi sa svojim toksikološkim i ekotoksikološkim osobinama. Pored toga tokom razgradnje aktivnih supstanci nastaju metaboliti, od kojih su neki definisani kao kontaminanti površinskih i podzemnih voda. Pesticidi posjeduju alkalne ili kiselinske funkcionalne grupe, koje podliježu jonizaciji pri različitoj pH vrijednosti, što utiče na njihovu reaktivnost u zemljištu. Molekul pesticida u zemljištu se može naći u vodenj i/ili čvrstoj fazi zemljišta, što determiniše njegovu dalju sudbinu; on podliježe sorpciji, volatilizaciji, podpovršinskom transportu ili postaje biopristupačan (Kah i Brown, 2007). Zbog navedenih razlika u sudbini pesticida u zemljištu, izvršeni su mnogi pokušaji uvođenja univerzalnih primjenljivih konstanti sorpcije ili jednačina regresije, pomoću kojih bi se, na osnovu karakteristika zemljišta, predvidjela adsorpcija organskih kontaminanata, bez utroška vremena neophodnih za izvođenje skupih eksperimenata. S obzirom da je organski ugljenik definisan kao jedan od najznačajnijih

parametara u predikciji sorpcije organskih jedinjenja, Hamaker i Thomson (1972) su predložili da se odnos koeficijenta adsorpcije (K_d) i i sadržaja organskog ugljenika izrazi kroz koeficijent K_{oc} , koji pokazuje manje varijacije u adsorpciji hidrofobnih molekula (Karickhoff, 1981). Tako je ovaj koeficijent postao široko korišten parametar za procjenu vezivanja molekula pesticida za čestice zemljišta. Međutim, Von Oepen et al. (1991) i Wauchope et al. (2002) smatraju da ovaj pristup nije pogodan za jonizujuća jedinjenja, jer njihova adsorpcija zavisi i od pH vrijednosti, minerala gline i hidroksida Fe i Al (Kah i Brown, 2007).

Osim sorpcije, degradacija je drugi važan proces koji se koristi za predikciju sudbine pesticida (Boesten i van der Linden, 1991). Varijabilnost u stepenu degradacije pesticida je očekivana, što su potvrdili rezultati mnogih istraživanja (Price et al., 2001; Walker et al., 2001). Ekstrapolacija mjerenja radi predikcije sudbine pesticida u zemljištu je kompleksan problem u ekološkim istraživanjima. Zbog toga, razumijevanje faktora koji utiču na stepen degradacije je neophodno za definisanje ekstrapolacije kao potvrde za uspješnu i bezbjednu primjenu pesticida u biljnoj proizvodnji (Kah i Brown, 2007).

Osim navedenih koeficijenata K_d i K_{oc} , postoje i drugi parametri za opis ravnoteže između procesa sorpcije i desorpcije u sistemu zemljište-voda; najpoznatiji su Freundlich-ova i Langmuir-ova jednačina. Dok je Freundlich-ova jednačina empirijska, Langmuir-ova opisuje sorpciju gasova na homogenim površinama. Navedeni parametri se ubrajaju u najkorisnije za objašnjenje procesa sorpcije pesticida u zemljištu (Sundaram, 1994).

Iz tabela 24 i 26 jasno se vidi da postoji statistička značajnost uticaja tipa zemljišta i koncentracije pesticida na masu adsorbovanog nikosulfurona i koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži (C_{aq}). Huggenberger et al. (1973) navode da se kako se rastvori pesticida kreću kroz zemljišni profil, tako se određeni molekuli pesticida adsorbuju na zemljišne čestice i imobilisu. Afinitet između molekula pesticida i zemljišnih čestica, odnos čvrste i tečne faze zemljišta i sadržaj vazduha u zemljišnim porama determinišu koliki udio molekula pesticida će biti adsorbovan na česticama zemljišta. Navedeni afinitet, prema ovim autorima, zavisi od osobina zemljišta i pesticida, što je u skladu sa rezultatima naših istraživanja. Isti autori smatraju da adsorpcija molekula pesticida je uslovljena i vrijednostima određenih hemijskih parametara. Takođe, adsorpcija je izraženija kod rastvorljivijih pesticida u odnosu na manje rastvorljive. Olvera-Velona et al. (2008) ističu da sorpcija nekih pesticida zavisi od tipa poljoprivrednog zemljišta, što je u skladu sa našim istraživanjima. Rani i Sud (2014) navode da temperatura i vrijeme imaju značajan uticaj na kinetiku sorpcije dimetoata. Zemelka (2015) ukazuje da sudbina tembotriona, nikosulfurona i s-metolahlora zavisi od njihove hemijske

strukture, fizičko-hemijskih osobina, ekoloških uslova i tipa zemljišta. Grover (1975) smatra da koncentracija pesticida u rastvoru u ravnoteži zavisi od faze zemljišta i hemijskih i fizičkih karakteristika zemljišta. Priroda ravnoteže između adsorpcije i desorpcije nije ista u zemljištima sa visokim, srednjim i niskim sadržajem organske materije. Takođe, biološka neaktivnost molekula pesticida u zemljištima sa visokim sadržajem organske materije može se objasniti lakom desorpcijom ili reverzibilnom desorpcijom u zemljištima različitog mehaničkog sastava (Grover, 1975).

Adsorpcija pesticida za zemljište, organsku materiju i minerale gline može se predstaviti freundlich-ovom adsorpcionom izotermom (K_f) i pokazateljem stepena regresije $1/n$, koji determiniše zavisnost adsorbovane mase herbicida od koncentracije herbicida u rastvoru u ravnoteži. U ispitivanim uzorcima poljoprivrednog zemljišta, vrijednosti Freundlich-ovih parametara adsorpcije nikosulfurona kreću se u intervalu od 0,027 do 7,388, dok se vrijednosti $1/n$ kreću od 0,291 do 1,927. U zemljištima, čija se pH vrijednost kretala u intervalu od 4,31 do 7,60, vrijednosti parametra $1/n$ bile su manje od 1, odnosno 0,337 do 0,547, što ukazuje da se adsorpciona izoterma nikosulfurona u ovim zemljištima karakteriše L-tipom krive. To je konveksna kriva, zakrivljena naviše, kod koje se marginalna energija sorpcije smanjuje sa povećanjem površinske koncentracije (Delle Site, 2001). U ovom slučaju, relativna adsorpcija nikosulfurona se smanjuje sa povećanjem njegove koncentracije. Međutim, za zemljišta alkalne reakcije (pH= 8,2), vrijednost parametra $1/n$ iznosila je 1,927, što ukazuje na izotermu S-tipa, koja predstavlja konkavnu krivu; kod ovog tipa krive, energija sorpcije se povećava sa povećanjem površinske koncentracije. Ovaj zaključak se može objasniti činjenicom da je pri alkalnoj pH vrijednosti većina molekula nikosulfurona naelektrisana negativno, tako da adsorpciji podliježe samo mali dio ovog herbicida. Korelacija između indikatora adsorpcije za nikosulfuron ($\log K_f$, K_f , $1/n$ i n), fizičko-hemijske osobine i mehanički sastav zemljišta su prikazani u tabelama 21 i 22. Rezultati linearne korelacije pokazuju da je adsorpcija nikosulfurona u analiziranim tipovima zemljišta statistički značajno zavisna od sadržaja čestica pijeska i sedimenta, dok su linearni koeficijenti korelacije između K_f i $\log K_f$ i sadržaja pijeska negativni (tab. 32). Nasuprot tome, korelacija između između K_f i $\log K_f$ i sadržaja sedimenta je pozitivna. Iako je vrijednost koeficijenta korelacije pozitivna (0,562), interakcija između K_f i sadržaja gline nije značajna.

U uzorcima djevičanskih zemljišta, vrijednosti Freundlich-ovih parametara adsorpcije nikosulfurona su niže u odnosu na uzorke poljoprivrednog zemljišta i kreću se između 0,475 u uzorku sa lokacije Kosjerovo i 1,373 u uzorku sa lokacije Tunjice. Vrijednosti $1/n$ su u odnosu

na većinu uzoraka poljoprivrednih zemljišta više i iznose od 0,896 u uzorku sa lokacije Manjača do 1,457 na lokaciji Kosjerovo. Na lokaciji Tunjice, vrijednost ovog parametra iznosi 1,068. Zemljište sa lokacije Manjača je kisele reakcije, zbog čega je vrijednost $1/n < 1$, dok alkalnija zemljišta imaju tendenciju da vrijednost $1/n$ bude veća od 1, što je i potvrđeno ispitivanjem uzorka sa lokacije Tunjice (pH u H₂O 7,70; pH u KCl 7,00), čija je vrijednost $1/n$ najveća. Ispitivanjem deset uzoraka zemljišta iz američke savezne države Ajova i četiri uzorka zemljišta iz Brazila, Gonzales i Ukrainczyk (1996) su ustanovili vrijednosti K_f u rasponu od 0,21 do 8,78, što je u skladu sa našim rezultatima. Isti autori su u većini uzoraka konstatovali pozitivnu korelaciju između sadržaja organske materije i frakcija gline, sa jedne strane, i vrijednosti K_f sa druge strane. Do sličnih rezultata došli su i Liu et al. (2012). Međutim, u našim istraživanjima, najveća vrijednost K_f konstatovana je u uzorku SS59SCL sa nižim sadržajem organskog ugljenika u odnosu na većinu ispitivanih uzoraka, dok je sadržaj gline u ovom uzorku bio veoma visok (37,60 %). Nasuprot tome, dva uzorka (CEL76SL i SNJ51SL), koja su, zajedno sa uzorkom TMP82SL, imala najniži sadržaj organskog ugljenika, pokazala su visoke vrijednosti parametra K_f u odnosu na većinu drugih uzoraka, dok je uzorak TMP82SL imao najnižu vrijednost K_f . Dobijeni rezultati bi se mogli povezati sa pH vrijednošću, s obzirom da je uzorak TMP82SL alkalne reakcije. Koskinen et al. (2002) ističu da smanjenje pH vrijednosti podstiče povećanje sadržaja neutralnih molekula koji se čvrsto vezuju za čestice zemljišta. Olvera-Velona et al. (2008) su konstatovali da organska materija zemljišta može da utiče na proces sorpcije, što se može povezati sa razlikama u hemijskom sastavu organske materije (Allen-King et al. 2002). U skladu sa ovim je i istraživanje koje su izveli Worrall et al. (1996), koje potvrđuje da količina i sastav jedinjenja ugljenika nisu dovoljni pokazatelji koji objašnjavaju proces sorpcije u zemljištu. U različitim tipovima zemljišta, mnogi drugi faktori, kao što su priroda veze između osnovnih katjona i organske materije zemljišta (Leenheer i Ahlrichs, 1971), interakcija između organske materije i mineralnih supstanci (Kaiser i Guggenberger, 2003) i zemljišna pH vrijednost (Barriuso i Calvet, 1991) mogu da utiču na sorpciju pesticida. Chaplain et al. (2011) sugerišu da i struktura zemljišta, sadržaj vode i temperatura zemljišta imaju značajan uticaj na procese sorpcije u zemljištu. U pogledu uticaja pH vrijednosti, sorpcija nejonskih hidrofobnih jedinjenja se uglavnom povećava kada je većina sorpcijskih lokusa lociranih na organskoj materiji ili neorganskim oksidima nenaelektrisana ili neutralna usljed reakcija protonske izmjene (Calvet et al., 2005).

Gonzales i Ukrainczyk (1996) konstatuju da je najniža vrijednost parametra $1/n$ konstatovana u uzorku sa najvećim procentom frakcije pijeska, dok u našim istraživanjima

uzorak TMP82SL, u kojem je sadržaj pijeska 68,20 %, ima najveću vrijednost parametra $1/n$ (1,927) u odnosu na ostale uzorke. U većini uzoraka, vrijednost parametra $1/n$ bila je manja od 1, što može da ukaže na heterogenost adsorpcionih lokacija nikosulfurona (Sposito, 1984). Međutim, izuzev uzorka GTL43SL, pH vrijednost svih ostalih uzoraka je veća od pKa vrijednosti nikosulfurona (4,3). Shodno tome, u ovom uzorku bi vrijednost K_f trebalo da bude najveća; međutim, očigledno je da i drugi faktori utiču na vrijednost Freundlich-ovih parametara, što su potvrdili i Gonzales i Ukrainczyk (1996). Isti autori su konstatovali da se u nekim pjeskovitim zemljištima vrijednost parametra K_f povećava sa smanjenjem sadržaja organskog ugljenika, što dovode u vezu sa vrstama minerala gline u ispitivanim uzorcima. Negativnu korelaciju između sorpcije herbicida iz klase sulfonilurea i karakteristika zemljišta su konstatovali i drugi autori (Vicari et al., 1996; Walker et al., 1989; Berglof et al., 2003). Farenhorst et al. (2001) i Novak et al. (1997) smatraju da su varijacije u sorpciji herbicida rezultat različitih fizičkih i hemijskih osobina zemljišta. Iz navedenog se može zaključiti da slabokiselinski herbicidi pokazuju zavisnost od mnogih faktora, iako su često veoma slabo adsorbovani na zemljište (Koskinen et al., 1979). Sličnu konstataciju su utvrdili i drugi autori za mnoge herbicide iz klase sulfonilurea (Wu et al., 2011; Ren et al., 2011). Azcarate et al. (2015) navode da su navedene varijacije u sorpciji herbicida posljedica difuzije ka nepristupačnim mikrolokacijama, promjene u jačini i mehanizmu sorpcije i većeg stepena degradacije u odnosu na stepen sorpcije, dok Oliveira et al. (2013) ističu i kombinaciju svih navedenih faktora kao potencijalni uzrok varijacija.

Koeficijent distribucije K_d i Freundlichov koeficijent K_f su prirodni veličine slične vrijednosti, s tim da se K_d dobija iz odnosa mase herbicida koji je adsorbovan i koncentracije herbicida u stanju ravnoteže, dok su K_f i $1/n$ konstante vrijednosti utvrđene iz stepene funkcije regresione zavisnosti adsorbovane količine herbicida od njegove koncentracije u rastvoru, pri ravnoteži. Tako su Von Oepen et al. (1991, cit. Janjić, 2005) utvrdili da za većinu pesticida empirijska konstanta $1/n$ varira od 0,7 do 1,1, tako da je čak i uz izvjestan stepen aproksimacije među njima dozvoljeno poređenje. Naime, ako je $n=1$, tada vrijedi $K_f=K_d$. U ovim istraživanjima $1/n$ varira od 0,291 do 1,927, a K_f od 0,027 do 7,388.

U ovim istraživanjima, vrijednost parametra K_d u svim uzorcima kretala se od 0,41 do 2,81. Azcarate et al. (2015) ističu da se vrijednost K_d za nikosulfuron u zemljištima Argentine kreće u rasponu od 0,02 do 0,47, što je znatno niže u odnosu na istraživanja koja su obavili Oliveira et al. (2001), gdje je vrijednost K_d iznosila 0,14-1,38. Sa druge strane, vrijednost K_d za nikosulfuron u biočaru iznosila je 0,00, što ukazuje da u ovom supstratu nije detektovana

sorpcija nikosulfurona; ovaj rezultat bi se mogao povezati sa visokom (> 99%) pokretljivošću anjonskih molekula (Trigo et al., 2014).

Koncentracija nikosulfurona i tip zemljišta imali su izražen uticaj na masu i procenat adsorbovanog nikosulfurona. Harris i Warren (1964) navode da adsorpcija mnogih herbicida na zemljište ima tendenciju njihovog zadržavanja u blizini površine zemljišta, sprječavajući njihovu fitotoksičnost. Hilton i Yuen (1963), Warren (1956) i Yuen i Hilton (1962) ističu različit stepen adsorpcije herbicida na zemljište, dok Bartell et al. (1951) opisuju adsorpciju herbicida na mineralima gline. Sa druge strane, Massini (1961) i Sund (1956) u svojim istraživanjima prikazuju korelaciju između adsorpcije herbicida i sadržaja organske materije. Do sličnih rezultata došli su i Tadeo-Jalife et al. (2021). Ahmad (2017) je ustanovio da je adsorpcija triasulfurona zavisna od fizičkih i hemijskih karakteristika zemljišta, posebno pH vrijednosti, sadržaja organske materije i teksture zemljišta.

Korelacioni odnosi između pokazatelja adsorpcije (K_f i K_d) i kiselosti zemljišta (pH u H_2O i pH u KCl) su negativni, ali ne i statistički značajni i Pirsonov koeficijent linearne korelacije se kreće od -0,080 do -0,526. Između Freundlich-ove adsorpcione konstante K_f i koeficijenta distribucije K_d , kao pokazatelja adsorpcije nikosulfurona i sadržaja humusa (H%), odnosno organskog ugljenika (OC%) utvrđena je negativna korelacija, što odstupa od očekivanih korelacionih zavisnosti. Statistički značajna korelaciona zavisnost je utvrđena između vrijednosti Freundlichove adsorpcione konstante $1/n$, sa jedne strane i vrijednosti pH u KCl, odnosno vrijednosti CEC, sa druge strane. Ti korelacioni odnosi su različiti, tj. korelaciona zavisnost između vrijednosti adsorpcione konstante $1/n$ i pH u KCl je pozitivna i iznosi 0,708* ($p=0,033$), dok je korelacija između adsorpcione konstante $1/n$ i CEC negativna i iznosi -0,696* ($p=0,037$). Korelacije između K_f i $\log K_f$, s jedne strane, i pH u H_2O i KCl sa druge strane ukazuju da zemljišta sa većom pH vrijednošću imaju manji kapacitet sorpcije, što je potvrđeno u istraživanjima koja su obavili mnogi autori (Kah i Brown, 2006; Grahovac et al., 2017). Dobijene korelacije su očekivane, jer se sorpcija slabo kiselih herbicida, kao što je nikosulfuron, povećava sa smanjenjem pH vrijednosti zemljišta.

Najveći efekat na sorpciju herbicida, kada su u pitanju fizičko-hemijske osobine zemljišta, imaju sadržaj organskog ugljenika i pH vrijednost (Azcarate et al., 2015). Sorpcija se povećava sa povećanjem sadržaja organskog ugljenika i smanjenjem pH vrijednosti ($P > 0,05$). Međutim, istraživanja u vezi sa korelacijom između sorpcije herbicida i klase sulfonilurea i sadržaja organskog ugljenika pokazala su različite rezultate, dok korelacija između sadržaja minerala gline i sorpcije testiranih herbicida iz navedene klase nije

ustanovljena (Azcarate et al., 2015). Ova konstatacija bi se mogla dovesti u vezu sa različitom pH vrijednošću testiranih zemljišta, jer ovaj parametar može da redukuje efekat sadržaja organske materije na sorpciju navedene grupe herbicida. Herbicidi iz klase sulfonilurea su slabe kiseline i uglavnom se u anjonskom obliku nalaze u zemljištima sa pH vrijednošću većom od pKa. Kako se pH vrijednost zemljišta povećava, učešće neutralnih formi molekula herbicida se smanjuje, tako da se očekuje slabija sorpcija (Oliveira et al., 2001; Kah i Brown, 2006). Grahovac et al. (2017) su obavili veći broj istraživanja slabih kiselih herbicida, kao što je nikosulfuron, i ustanovili negativnu interakciju između sorpcije herbicida i zemljišne pH vrijednosti. Dakle, sorpcija slabo kiselih herbicida se povećava sa smanjenjem pH vrijednosti zemljišta. Ahmad et al. (2016) navode da je maksimum adsorpcije hlorosulfurona registrovan pri niskoj pH vrijednosti, dok je minimum adsorpcije detektovan pri maksimalnoj vrijednosti ovog parametra. Vicari et al. (1996) ističu da ne postoji statistički značajna korelacija između organske materije i sorpcije rimsulfurona, što povezuju sa razlikama u pH vrijednosti zemljišta, koje minimiziraju efekat sadržaja organske materije. Kah i Brown (2006) smatraju da pH vrijednosti zemljišta ponekad mogu biti previše uske ili široke i da takve razlike ne mogu kvalitetno da determinišu uticaj ovog parametra na sorpciju herbicida. Razlike između pH vrijednosti na površini zemljišnih čestica i zemljišnog rastvora se mogu pojaviti i kao posljedica primijenjenih mjernih tehnika korištenih za karakterizaciju zemljišta.

Gonzales i Ukrainczyk (1996) ukazuju da je K_f bio statistički značajno ($p < 0,001$) i pozitivno koreliran sa kapacitetom katjonske izmjene ($r = 0,83$), dok je parametar $1/n$ takođe pozitivno koreliran sa kapacitetom katjonske izmjene; vrijednost korelacionog koeficijenta bila je $0,71$ ($p < 0,01$). Korelacija između K_f i pH vrijednosti u zemljištima Brazila bila je $-0,94$, dok je u zemljištima američke savezne države Ajova iznosila $-0,39$. Ovi rezultati ukazuju na kompleksnost istraživanja adsorpcije herbicida i značaj determinacije mehaničkih frakcija zemljišta.

U ovim istraživanjima, utvrđena je pozitivna korelacija između procesa adsorpcije nikosulfurona i sadržaja praha i gline, dok je korelacija sa sadržajem pijeska bila negativna. Dodavanje minerala gline kaolinita i montmorilonita zemljištu uticalo je na povećanje stepena adsorpcije i vrijednosti sorpcijskih izoterma organofosfornih pesticida hlorpirifosa i diazinona (Copaja i Gatica-Jeria, 2021). Farmer i Mortland (1966) i Lagaly (2001) smatraju da je adsorpcija pesticida uslovljena direktnom koordinacijom atoma azota, koji se nalazi u strukturi pesticida, i atoma magnezijuma (Mg^{2+}), koji se nalazi u glini. Kah i Brown (2007) su utvrdili visok stepen korelacije između sadržaja gline u zemljištu i adsorpcije nekih jonizujućih

pesticida, kao što su herbicidi iz grupe sulfonilurea. Harper (1988) je ispitivao adsorpciju metribuzina i utvrdio da je sadržaj gline najbolji pokazatelj njegove adsorpcije. Međutim, Barriuso et al. (1994) smatraju da u zemljištima sa niskim sadržajem organske materije, sadržaj mineralnih supstanci ima odlučujući uticaj na adsorpciju pesticida. Ben-Hur et al. (2003) ukazuju da sadržaj gline ima značajnu ulogu u adsorpciji atrazina kada je odnos minerala gline i organskog ugljenika >30:1, što se obično dešava u dobro obrađenim zemljištima sa niskim sadržajem organske materije (Barriuso et al., 1992), dubljim horizontima zemljišta i nekim sedimentima. Međutim, Baskaran et al. (1996) su konstatovali da sadržaj gline nije imao statistički značajan uticaj na K_d metsulfuronmetila u zemljištima Novog Zelanda, što nije u korelaciji sa našim rezultatima. Zindahl i Clark (1982) i Garcia Blanco et al. (2013) smatraju da varijacije u pogledu značajnosti uticaja različitih faktora na sorpciju pesticida nisu iznenađujuće, jer je zemljište kompleksni biološki i hemijski medijum; ova činjenica otežava kompletno razumijevanje interakcija koje determinišu njihov uticaj na sorpciju/desorpciju pesticida u zemljištu.

Rezultati potvrđuju da je u svim ispitivanim uzorcima došlo do degradacije nikosulfurona, ali je konstanta degradacije bila različita; najveća konstanta zabilježena je u uzorku sa lokacije Tunjice a najmanja u uzorku sa lokacije Kosjerovo. U uzorku sa lokacije Tunjice, mikrobni diverzitet bio je izraženiji u poređenju sa ostalim uzorcima. Dechesne et al. (2014) smatraju da gradijenti uslova u životnoj sredini i dubini zemljišnog profila utiču na potencijal degradacije pesticida. Horizontalna distribucija razlagača pesticida u velikoj mjeri zavisi od vrste pesticida, dizajna uzorkovanja i karakteristika lokacije. U površinskim slojevima zemljišta, potencijal degradacije pesticida se karakteriše niskim koeficijentom varijacije, što se može povezati sa slabom (Vinther et al., 2008) ili brzom degradacijom pesticida (Fredslund et al., 2008). Variranja konstante degradacije u našim istraživanjima nisu visoka. Mulla i McBratney (1991) smatraju da je varijabilnost parametara degradacije manje izražena u odnosu na fizičke karakteristike zemljište, što je potvrđeno u našim istraživanjima.

Mnoga istraživanja češće prikazuju zajedničko djelovanje i simultani uticaj različitih faktora na stepen biodegradacije nego što se bave preciznom identifikacijom ovih faktora (Dechesne et al., 2014). I pored toga, ova istraživanja mogu poslužiti kao osnova za formulisanje hipoteza i njihovo testiranje. Veoma često, neki biološki i fizičko-hemijski faktori su unakrsno korelisani, što identifikaciju „pravih“ faktora koji utiču na stepen biodegradacije čini nemogućim; istovremeno, dešava se da upravo ti „pravi“ faktori ne budu determinisani tokom istraživanja. Ovo je naročito prisutno pri ispitivanju procesa biodegradacije mnogih

jedinjenja, gdje mjerljivi parametri karakteristika zemljišta variraju po dubini zemljišnog profila, čime stvaraju „lažnu“ korelaciju sa procesom biodegradacije.

I drugi metodološki aspekti mogu da budu limitirajući u pogledu identifikacije „pravih“ faktora biodegradacionog potencijala. Iako su asocijacije mikrobnih populacija i njihovog životnog okruženja veoma bliske i prisne (Parkin, 1993; Vos et al., 2013), današnje eksperimentalne tehnike nisu dovoljno sofisticirane da procjene stepen biodegradacije pesticida i uticaj velikog broja parametara na ovaj proces u uzorcima, čija masa iznosi svega nekoliko grama. Zbog toga korelacioni pristupi predstavljaju veliki izazov za naučnike, posebno kada je u pitanju dobijanje relevantnijih rezultata i precizno definisanje „pravih“ faktora koji utiču na proces biodegradacije (Gonod et al., 2006).

Mnogi fizičko-hemijski parametri zemljišta ispoljavaju različit uticaj na biodegradaciju pesticida, što varira od samih pesticida i ispitivane lokacije. Međutim, jedna od karakteristika zemljišta koja pokazuje pravilnost u mnogim istraživanjima je pH vrijednost. Rodriguez-Cruz et al. (2006) smatraju da je pH vrijednost dobar pokazatelj biodegradacije mnogih pesticida, kao što je bentazon i herbicidi iz grupe fenil-urea. Osim toga, pH vrijednost je jedan od ključnih faktora aktivnosti mikrobnih populacija (Lauber et al., 2009), koje imaju značajan uticaj na sudbinu pesticida (Franco et al., 2009). Mnoga istraživanja ukazuju na varijacije u pogledu degradacije pesticida i pH vrijednosti (Bending et al., 2001) kao parametra mikrobne aktivnosti zemljišta. Fierer i Jackson (2006) navode da je u zemljištima neutralne reakcije najveća zastupljenost bakterija, koje su, zajedno sa gljivama, najznačajniji razgrađivači organskih jedinjenja (Diez, 2010). I u našim istraživanjima, optimalna pH vrijednost uticala je na izraženiju aktivnost/brojnost bakterija u uzorku sa lokacije Tunjice u poređenju sa drugim lokacijama, što je reflektovano i na dinamiku degradacije nikosulfurona. Međutim, opšti biološki parametri, kao što su mikrobna biomasa i brojnost i aktivnost heterotrofnih mikrobnih populacija, nisu uvijek u statistički značajnoj korelaciji sa stepenom biodegradacije. Broj ćelija koje se mogu detektovati tehnikom agarnih ploča nije pokazao korelaciju sa stepenom biodegradacije nekih relativno perzistentnih pesticida, kao što su glifosat (Vinther et al., 2008) i linuron (Rasmussen et al., 2005), pa čak ni pesticida koji se relativno lako razlažu, kao što je MCPA (Fredslund et al., 2008). Do sličnih zaključaka došli su i Monard et al. (2012), koji su ispitivali zastupljenost bakterija qPCR metodom. Razgrađivači pesticida čine veoma mali dio ukupnog mikrobnog diverziteta; mnogi od njih se ne mogu detektovati tehnikom agarnih ploča (Dechesne et al., 2014). Zbog toga El Sebai et al. (2007) smatraju ukupni mikrobni diverzitet nerelevantnim pokazateljem stepena biodegradacije, jer razgrađivači pesticida ne pripadaju

dominantnim grupama mikroorganizama. Sa druge strane, Vinther et al. (2008) su uvrđili statistički značajnu korelaciju između stepena biodegradacije glifosata i drugih indikatora mikrobne aktivnosti, kao što su respiracija i aktivnost arilsulfataze.

Mnogi pesticidi podliježu metabolizmu pomoću bakterija, koje ih koriste kao izvor energije, ugljenika i drugih elemenata (azot i fosfor). Zbog toga, primjena pesticida stimulira aktivnost mikrobnih populacija koje učestvuju u njihovoj razgradnji. Degradacija pesticida je uglavnom izolovan proces u funkciji prostora i vremena, usljed čega dolazi do prostorne i vremenske heterogenosti u zastupljenosti razgrađivača. Osim toga, i tehnika primjene pesticida može imati značajan uticaj na akumulaciju pesticida; Walker i Brown (1983) su ustanovili da je primjena simazina pomoću mehanizovane prskalice rezultirala heterogenom akumulacijom pesticida, dok je primjenom istog pesticida pomoću leđne prskalice došlo do homogene akumulacije. Na sličan način je i primjena karbofurana dovela do različite prostorne akumulacije ovog pesticida na tretiranom zemljištu (Parkin i Shelton, 1992). Broj tretmana takođe ima značajan uticaj na akumulaciju pesticida, kao i aktivnost mikrobnih populacija razgrađivača. Pallud et al. (2004) su ustanovili da je višestruka primjena 2,4-D uticala na porast brojnosti i prostorne zastupljenosti navedenih populacija mikroorganizama. Dakle, i tehnika primjene pesticida ima značajan uticaj na prostornu distribuciju mikrobnih zajednica koje učestvuju u metabolizmu pesticida. Međutim, neophodni su mnogo kompleksniji modeli za procjenu prostorne distribucije razgrađivača, posebno onih koji obuhvataju i posljedice primjene pesticida. Ovakva i slična istraživanja se već suočavaju sa mnogobrojnim tehničkim i naučnim izazovima, za koje je neophodan interdisciplinarni pristup na bazi znanja iz nauka o zemljištu, aplikativne poljoprivrede i mikrobne ekologije.

6.2. Mikrobni diverzitet i tolerantnost/rezistentnost mikroorganizama na prisustvo nikosulfurona

Zemljišni mikroorganizmi su odgovorni za mnoge ekosistemske procese, kao što su razgradnja organskih ostataka (Schneider et al., 2010), promocija biljnog rasta (Hayat et al., 2010), kruženje nutrijenata (Van Der Heijden et al., 2008) i degradacija pesticida (Pino i Penuela, 2011). Sve navedene funkcije imaju veliki značaj za poljoprivrednike i društvo u cjelini (Jacobsen i Hjelmsø, 2014).

Razumijevanje promjena u funkciji i diverzitetu zemljišnih mikroorganizama je zavisno od pristupačnosti različitih jedinjenja. Pojava ovih jedinjenja ima različit uticaj na zemljišne mikroorganizme a nakon kompletne degradacije ovih jedinjenja, ponovo dolazi do promjene sastava i strukture mikrobnih populacija i njihove aktivnosti. Međutim, primjena

različitim koncentracija bakra u zemljištu ima različito djelovanje na mikrobne populacije, jer je ovaj element prisutan u zemljištu i poslije 5 godina od njegove primjene (Wakelin et al., 2010). Ovi autori su otkrili da prisustvo bakra dovodi do povećanja zastupljenosti predstavnika kola *Firmicutes*. Bælum i Jacobsen (2009) ukazuju na velike varijacije u sorpciji i degradaciji istog pesticida u različitim zemljištima, zbog čega je neophodno kreirati istraživanja o sudbini ovih pesticida u istim ili sličnim sistemima. Upoređivanjem efekata različitih pesticida na mikrobni diverzitet zemljišta i enzimsku aktivnost u periodu od 12 mjeseci, Floch et al. (2011) su ustanovili da promjene ovih parametara ne moraju da reflektuju opšte prihvaćene zaključke, što povezuju sa intenzitetom sorpcije i/ili degradacije pesticida u zemljištu.

Uticaj pesticida na mikrobni diverzitet je, prije svega, uslovljen tipom pesticida. Ibekwe et al. (2001) ukazuju da primjena metilizotiocijanata dovodi do povećanja zastupljenosti Gram-pozitivnih bakterija, dok Spirou et al. (2009) bilježe smanjenje brojnosti gljiva i Gram-negativnih bakterija. Osim toga, promjene u strukturi mikrobnih populacija detektovane su u periodu od jednog do tri mjeseca od početka ogleda u zavisnosti od postavke eksperimenta (Spirou et al., 2009). Drugi herbicidi takođe imaju uticaj na diverzitet mikroorganizama u zemljištu. Tako su Zobiole et al. (2011) utvrdili da primjena glifosata dovodi do smanjenja populacije bakterija stimulatora rasta biljaka u rizosferi, dok su Cycon et al. (2013) konstatovali povećanje zastupljenosti Gram-negativnih bakterija nakon tretmana napropamidom. Sve ove rezultate je veoma teško uporediti zbog razlika u postavci eksperimenata, koncentracijama korištenih hemikalija i metodama istraživanja. Zbog toga kreiranje novih standarda za procjenu mikrobnog diverziteta može biti od velike pomoći za buduća istraživanja uticaja pesticida na mikrobni diverzitet, brojnost i aktivnost.

U većini uzoraka, mikrobni diverzitet je najizraženiji u uzorcima zemljišta sa lokacije Tunjice. Ova konstatacija bi se mogla dovesti u vezu sa hemijskim karakteristikama zemljišta. Kao što je poznato, mikroorganizmi su stanovnici svih prirodnih staništa (Edwards et al., 2012) i važna su karika svih biogeochemijskih procesa: od redoks reakcija do kruženja hranljivih supstanci (Bennet et al., 2001; Maguffin et al., 2015). Njihov metabolizam kontroliše veliki broj ekoloških faktora, kao što su pH vrijednost, temperatura, salinitet, pristupačnost hranljivih supstanci, geografska širina (Amend et al., 2013) itd. Među ovim faktorima, pH je jedan od najvažnijih (Kemmitt et al., 2006; Zhahnina et al., 2015). Reakcija sredine je u strogoj korelaciji sa mikrobiološkom aktivnošću, čak i pri značajnim varijacijama biogeochemijskih uslova (Thompson et al., 2017). Međutim, varijacije u pH vrijednosti mogu da izazovu promjene metabolitičkih aktivnosti prirodnih populacija mikroorganizama (Ye et al., 2012).

Mikroorganizmi imaju sposobnost regulacije pH vrijednosti, tako da ona može biti stimulativna ili inhibirajuća za njihov razvoj (Ratzke i Gore, 2018). Sa druge strane, pH između ostalog reguliše i sastav i aktivnost mikrobnih populacija u zemljištu (Jones et al., 2009; Rousk et al., 2010). Međutim, interakcije između mikrobne aktivnosti i drugih ekoloških faktora su takođe prisutne u zemljištu; osim pH vrijednosti, i geografska lokacija (Lauber et al., 2009), tekstura zemljišta (Sessitsch et al., 2001), način korištenja zemljišta (Brons i Van Elsas, 2008), pristupačnost hranljivih supstanci (Han et al., 2008) i prisustvo teških metala (Lee et al., 2008) takođe utiču na mikrobiološku aktivnost zemljišta.

Mnoga istraživanja ukazuju da je optimalna pH vrijednost za rast bakterija iznad 7,0 a da gljive bolje rastu u kiseloj sredini (Rousk et al., 2009). Naša istraživanja djelimično potvrđuju ovu konstataciju, budući da samo zemljište na lokaciji Kosjerovo ima pH vrijednost veću od 7. Sa druge strane, naši rezultati potvrđuju konstataciju navedenih autora da gljive bolje rastu u sredinama sa kiselom pH vrijednošću. Međutim, kao što je već rečeno, i drugi faktori utiču na mikrobni diverzitet. Iz tabele 11 jasno se vidi da je sadržaj humusa i organskog C znatno manji u zemljištu sa lokacije Kosjerovo, što svakako ima uticaja i na mikrobiološku aktivnost. Međutim, osim navedenih faktora, i sadržaj azota i fosfora u zemljištu utiče na zastupljenost, diverzitet i strukturu populacija zemljišnih mikroorganizama, koji imaju važnu ulogu za plodnost zemljišta (van der Heijden et al., 2008). Haynes (2005) ističe da organska materija zemljišta ima veliki značaj za mikrobiološku aktivnost i da, nakon mineralizacije, predstavlja vitalni izvor hranljivih supstanci za biljke. Iako su mnoga poljoprivredna zemljišta bogata organskom materijom, višegodišnje neadekvatne poljoprivredne prakse uticale su na značajnu redukciju njenog sadržaja (Vasin i sar., 2013). Powlson et al. (2012) smatraju da se sadržaj organske materije u zemljištu smanjuje kao posljedica intenzivne višegodišnje ili višedecenijske poljoprivredne proizvodnje. Wang et al. (2016a) ističu da se pomenuti nedostaci mogu otkloniti primjenom stajnjaka, komposta, zelenišnog đubrenja i zaoravanjem žetvenih ostataka, što pozitivno utiče na mikrobni rast, mikrobiološku aktivnost zemljišta, mikrobnu biomasu i enzimsku aktivnost (Lori et al., 2017). rezultati u ovoj doktorskoj disertaciji potvrđuju navode ovih autora, jer je u većini uzoraka mikrobiološka aktivnost bila najveća u uzorcima koji su najbogatiji organskom materijom, odnosno humusom. Marinković i sar. (2020) takođe konstatuju pozitivnu korelaciju između sadržaja organske materije, sa jedne strane, i brojnosti najvažnijih grupa mikroorganizama, s druge strane. Pozitivnu korelaciju između sadržaja organske materije i brojnosti mikrobnih populacija u zemljištu ustanovili su i Bhattarai et al. (2015). Međutim, Vineela et al. (2008) konstatuju da povećanje sadržaja

organskog ugljenika ne dovodi uvijek do povećanja brojnosti mikroorganizama. U ovim istraživanjima, utvrđeno je da je najveći broj mikroorganizama detektovan u uzorku zemljišta sa lokacije Tunjice u kome sadržaj organske materije nije bio najviši. Motavalli et al. (1995) i Cerri i Jenkinson (1981) ukazuju da niska pH vrijednost može značajno da redukuje usvajanje labilnih organskih supstrata od strane mikroorganizama. Ova konstatacija je potvrđena u ovim istraživanjima, jer uzorci zemljišta sa lokacije Kosjerovo imaju najviši sadržaj organske materije, najnižu pH vrijednost i nisku mikrobnu aktivnost. Kumar Rao et al. (1982) ukazuju na izraženu varijabilnost mikrobnih populacija u zavisnosti od lokacija, tipa zemljišta, sistema gajenja usjeva, poljoprivrednih praksi i klimatskih uslova (temperature, insolacije, padavina itd.).

Rezultati pokazuju da je u većini uzoraka zastupljenost mikroorganizama u zemljištu bila najveća u kontroli u poređenju sa tretmanima gde je primijenjen nikosulfuron. Šantrić et al. (2018) su utvrdili smanjenje mikrobne biomase ugljenika u pjeskovitim zemljištima nakon primjene nikosulfurona za 9,2-18,2%. Smanjenje vrijednosti ovog parametra bilo je naizraženije 7 dana nakon primjene pesticida. U ovim istraživanjima, većina ispitivanih mikrobioloških parametara ima najniže vrijednosti nakon 10 dana od primjene pesticida. Sofu et al. (2012) su ispitivali efekat četiri herbicida iz grupe sulfonilurea na mikrobnu biomasu i utvrdili smanjenje mikrobne biomase ugljenika od 25% za cinosulfuron do 54% za tifensulfuron-metil. Do sličnih zaključaka došli su i Lupwayi et al. (2004) ispitivajući metsulfuron-metil i triasulfuron. Međutim, većina ispitivanih grupa mikroorganizama pokazala je veliku prilagodljivost uslovima prisustva nikosulfurona, jer je nakon 10 dana od primjene ovog pesticida brojnost mikroorganizama pokazala tendenciju povećanja. Ova tendencija ukazuje da se mikrobne populacije u zemljištu mogu prilagoditi različitim uslovima i da pojedina jedinjenja mogu da koriste kao jedinstvene izvore ugljenika i energije, uvećavajući sopstvenu biomasu u sredini u kojoj žive. Šantrić et al. (2014) i Radivojević et al. (2012) ukazuju da se mikrobna biomasa povećava nakon perioda adaptacije neposredno nakon primjene pesticida. Povećanje brojnosti aktinobakterija, amonifikatora, ureolitskih bakterija i *Azotobacter* sp. nakon primjene nikosulfurona utvrdili su i Jafari et al. (2018). Rezultati ukazuju da se mikrobiološka aktivnost zemljišta uglavnom smanjuje sa povećanjem koncentracije nikosulfurona, mada je adaptacija ispitivanih grupa mikroorganizama i u ovom slučaju izražena. Neke populacije mikroorganizama se brže prilagođavaju uslovima stresa, dok se druge sporije adaptiraju, što zavisi od mehanizama adaptacije, izazivača stresnih uslova, karakteristika populacije i spoljašnjih uslova (Kristensen et al., 2020). Filimon et al. (2015)

ističu da nikosulfuron ima manje izražen negativni uticaj na enzimsku aktivnost zemljišta od drugih pesticida. Populacija amonifikatora pokazala je različitu reakciju na prisustvo nikosulfurona u zavisnosti od primijenjene koncentracije. Isti autori ističu da je nikosulfuron pokazao inhibirajući uticaj na bakterijsku metabolitičku aktivnost, što je djelimično u skladu sa rezultatima ove doktorske disertacije. Ispitivajući uticaj nikosulfurona na strukturu bakterijskih populacija u zemljištu, Karpouzas et al. (2014b) su utvrdili da su ispitivane mikrobne populacije najbrojnije u varijanti bez primjene nikosulfurona. Većina bakterijskih klasa nije pokazala statistički značajne razlike u pogledu zastupljenosti pri primjeni različitih koncentracija nikosulfurona, što je potvrđeno i u ovim istraživanjima.

Brojnost mikroorganizama je pokazala izraženiju korelaciju sa hemijskim svojstvima zemljišta u odnosu na parametre sorpcije nikosulfurona. Tian et al. (2017) ističu da je zastupljenost mikrobnih populacija u zemljištu rezultat varijacija u njegovim hemijskim karakteristikama. Isti autori smatraju da promjene u načinu korištenja zemljišta dovode do promjena u hemijskim karakteristikama zemljišta, što se reflektuje na brojnost i aktivnost mikroorganizama. Autori posebno ističu sadržaj organskog ugljenika i fosfora kao glavne faktore mikrobne aktivnosti zemljišta, dok Lauber et al. (2009) ističu da pH vrijednost ima ključnu ulogu u distribuciji mikrobnih zajednica u zemljištu, što je u skladu sa rezultatima ovih istraživanja. Dominguez-Rodriguez et al. (2021) su ustanovili da je brojnost mikroorganizama, osim sa pH vrijednošću, u korelaciji i sa CEC, što je potvrđeno u ovim istraživanjima. Osim toga, brojnost mikroorganizama uglavnom je pozitivno korelirana sa koeficijentom distribucije K_d i $ADS\%$. Dechesne et al. (2014) ukazuju da su prisustvo i aktivnost mikroorganizama, uključujući i one koji razgrađuju pesticide, podložni variranju u skladu sa varijacijama mnogih faktora, kao što su tip pesticida i agrotehničke mere. Poseban problem predstavlja velika heterogenost u pogledu degradacije pesticida, posebno u dubljim slojevima zemljišta, gdje dolazi do formiranja specifičnih mikrolokacija gde se obavljaju ovi procesi (Badawi et al., 2013). Dechesne et al. (2014) smatraju da se ovi procesi odigravaju u makroporama zemljišta. U vezi sa ovim su i istraživanja koja su obavili Dechesne et al. (2005), koji ističu da se procjena uticaja na zastupljenost mikrobnih populacija mora zasnivati i na prostornoj distribuciji mikroorganizama koji razgrađuju pesticide.

Kao što se vidi iz tabele 56, iz ispitivanih uzoraka izolovano je 10 morfološki različitih bakterijskih izolata koji su pokazali tolerantnost prema prisustvu nikosulfurona. Većina izolata se metodom po Gramu boje pozitivno. Gram-pozitivne vrste su poznate kao razlagači mnogih kompleksnih jedinjenja u zemljištu (de Menezes et al., 2008). Međutim, Bai et al. (2012) i Wu

et al. (2014) navode da primjena drugih pesticida dovodi do smanjenja brojnosti Gram-pozitivnih bakterija, jer su one mnogo osjetljivije na stres. Osim toga, Gram-negativne bakterije su brzorastući mikroorganizmi, koji koriste širok spektar različitih izvora ugljenika i brzo se adaptiraju na različite ekološke uslove (Bastida et al., 2015). Međutim, mnoga istraživanja ukazuju da su upravo Gram-pozitivne bakterije efikasni razlagači nikosulfurona (Kang et al., 2012; Zhang et al., 2020).

Rezultati koji su prikazani u tabeli 57 ukazuju da je iz uzoraka zemljišta izolovano šest izolata gljiva tolerantnih na prisustvo nikosulfurona. Iako Garcia-Delgado et al. (2018) ističu negativnu korelaciju između degradacije herbicida i zastupljenosti gljiva, Kalia i Gosal (2011) su ustanovili da gljive i aktinomicete imaju izraženu sposobnost metabolizma različitih ksenobiotika.

Dobijeni rezultati ukazuju da su se izolati bakterija i gljiva, koji su pokazali tolerantnost prema različitim koncentracijama nikosulfurona, odlikovali rezistentnošću prema ovom herbicidu. Petrić et al. (2016) navode da primjena herbicida vodi ka selekciji bakterija koje tolerišu prisustvo nikosulfurona.

Kang et al. (2012) ističu da neke bakterije u zemljištu mogu da koriste nikosulfuron kao jedinstveni izvor ugljenika i energije pri aerobnim uslovima. Levy (1992) ističe da mikroorganizmi posjeduju „pumpe“, pomoću kojih se oslobađaju toksičnih supstrata i njihovih endogenih metabolita koji mogu nastati u citoplazmi nakon ulaska u nju. Mikroorganizmi koriste različite „transportere“ koji imaju funkciju pumpe (Blanco et al., 2016); ovi „transporteri“ su karakteristični i za Gram-pozitivne i za Gram-negativne bakterije. Veliki broj pumpi može da obavlja transport većeg broja supstrata. Ove pumpe, u prisustvu pesticida, mogu imati značajnu ulogu kao nezavisne ili u asocijaciji sa drugim proteinima membrane ili porinima u otpornosti prema antibioticima (Ramakrishnan et al., 2019). Mutacije do kojih može doći u bakterijskim ćelijama usljed djelovanja pesticida mogu rezultirati stvaranjem otpornosti na različite antibiotike, kao i do degradacije samih pesticida.

Gljive posjeduju nekoliko mehanizama kojima razvijaju rezistenciju prema pesticidima: mutacije proteina, regulacija aktivnosti proteina, intenziviranje aktivnosti pumpe koja smanjuje efektivnu koncentraciju pesticida i detoksifikacija pomoću metaboličkih enzima, što ima za rezultat degradaciju pesticida (Scorzoni et al., 2017; Lucas et al., 2015; Sanglard, 2016).

Identifikacijom najrezistentnijih izolata, ustanovljeno je da oni pripadaju rodovima *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Penicillium*. Kang et al. (2012) i Zhang et al. (2020) su takođe opisali

bakterije iz roda *Bacillus* koje mogu da obavljaju metabolizam nikosulfurona. Li et al. (2020) su opisali mehanizam degradacije nikosulfurona pomoću bakterije *Pseudomonas* sp. LAM1902. Feng et al. (2017) su opisali hidrolizu nikosulfurona u kiseloj sredini pomoću gljive *Penicillium oxalicum* YC-WM1.

Literaturni podaci ukazuju da vrste iz rodova *Bacillus* sp. i *Pseudomonas* sp. imaju značajnu ulogu u toleranciji, rezistenciji i degradaciji pesticida u zemljištu. Petric et al. (2016) ukazuju da primjena nikosulfurona može dovesti do selekcije bakterija tolerantnih na ovaj pesticid. *Bacillus subtilis* YB1 je pokazao sposobnost degradacije nikosulfurona (Lu et al., 2012). I druge vrste iz roda *Bacillus* sp. mogu da obave degradaciju nikosulfurona (Zhang et al., 2020). Tang et al. (2012) su ustanovili da sojevi bakterija iz roda *Bacillus* sp. mogu da obavljaju degradaciju mnogih pesticida iz klase sulfonilurea. Wasi et al. (2013) i Singh et al. (2011) su opisali potencijal vrsta iz roda *Pseudomonas* sp. u toleranciji i uklanjanju organskih polutanata iz životne sredine. Zhao et al. (2018) su ustanovili da *Pseudomonas nitroreducens* NSA02 može da toleriše koncentracije nikosulfurona od 600 mg/L. Carles et al. (2017a) navode da *Pseudomonas fluorescens* SG-1 može da redukuje koncentraciju nikosulfurona za 77,5 %. I *Pseudomonas aeruginosa* B9 se može koristiti za uklanjanje nikosulfurona iz životne sredine (Pourbabae et al., 2018).

Dobijeni rezultati pokazuju da su izolati gljiva rezistentni prema koncentraciji nikosulfurona od 25 mg/L i da se sa povećanjem koncentracije herbicida rezistentost smanjuje. Opadanje stepena rezistencije je izraženije kod izolata MA*1; sa druge strane, rezistencija izolata MA*4-3 se rapidno smanjuje pri koncentracijama nikosulfurona većim od 200 mg/L, a pri najvišim koncentracijama ovog herbicida, izolat ima neznatnu sposobnost rasta. Bravim et al. (2021) konstatuju da niske koncentracije nekih herbicida mogu da budu ograničavajući faktor rasta micelijuma nekih gljiva.

Stepen rasta gljive *Penicillium glabrum* i njena rezistentnost na prisustvo nikosulfurona nisu bili izraženi, što je vjerovatno posljedica njenog slabog i sporog rasta na podlozi RBSA i malog broja spora korištenih u ovom ogledu. Na gustinu populacije kao značajnog faktora mineralizacije ukazuju i Khalid et al. (2010).

Filimon et al. (2011) su detektovali vrste iz roda *Penicillium* u zemljištu koje je tretirano pesticidima iz klase sulfonilurea. Feng et al. (2017) su iz aktivnog mulja izolovali *P. oxalicum* soj YC-WM1, koji je imao sposobnost degradacije nikosulfurona. Sondhia et al. (2013) ističu da gljive iz roda *Aspergillus* i *Penicillium* mogu da obavljaju degradaciju pesticida iz klase sulfonilurea.

7. ZAKLJUČAK

Rezultati do kojih se došlo izradom doktorske disertacije pod naslovom "Sorpcija i degradacija nikosulfurona u zemljištu" su opravdali radne hipoteze na kojima je temeljeno istraživanje. Na osnovu dobijenih rezultata izvode se zaključci navedeni u donjem tekstu.

1. Zemljišta koja su se koristila za istraživanje značajno su varirala po svojim karakteristikama, kako u pogledu mehaničkog sastava, tako i hemijskih karakteristika. U pogledu mehaničkog sastava zemljišta sadržaj pijeska je varirao od 1,90 do 68,20%, dok se čestice praha bile zastupljene od 16,3 do 71,90%. Čestice gline su imale učešće od 13,8 do 40,30%. Zemljišta su srednje do visoko obezbijedena humusom i sadržajem organskog ugljenika, a pH vrijednost u H₂O varira u rasponu od 4,31 do 8,20 a u KCl od 3,85 do 7,50.
2. Utvrđeno je da adsorpcija nikosulfurona u stanju ravnoteže, tj. masa adsorbovanog nikosulfurona statistički visoko značajno zavisi, kako od tipa zemljišta, tako i početne koncentracije herbicida, a analogno tome to vrijedi i za koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži.
3. Pokazatelji konstanti Freundlich-ove adsorpcione izoterme za adsorpciju nikosulfurona u istraživanim zemljištima su značajno varirali, zavisno od karakteristika zemljišta. Tako je vrijednost K_f varirala od 0,027 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$ u zemljištu oznake TMP82SL, do 7,388 $\mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$ u zemljištu oznake SS59SCL. Vrijednost $1/n$ kreće se u intervalu od 0,291 do 1,927. U zemljištima kisele do blago alkalne pH vrijednosti, vrijednosti parametra $1/n$ bile su niže od 1, što ukazuje da se adsorpciona izoterma nikosulfurona u ovim zemljištima karakteriše L-tipom krive. Međutim, u zemljištu alkalne reakcije, vrijednost parametra $1/n$ iznosila je 1,927, što ukazuje na izotermu S-tipa, koja predstavlja konkavnu krivu.
4. Koeficijent distribucije se kretao u intervalu 0,41 do 2,81 mL/g.
5. Srednja vrijednost procenta adsorbovanog nikosulfurona u zavisnosti od koncentracije i tipa zemljišta, se kretala od 15,75 do 53,08%.
6. Korelacioni odnosi su rađeni između adsorpcionih pokazatelja sa jedne strane i hemijskih karakteristika zemljišta, odnosno mehaničkog sastava zemljišta, sa druge strane. Korelaciona zavisnost između vrijednosti Freundlichove adsorpcione konstante $1/n$ i vrijednosti pH u KCl je pozitivna. Regresiona zavisnost između vrijednosti pH u

KCl, kao nezavisne veličine i vrijednosti konstante $1/n$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.

7. Korelaciona zavisnost između vrijednosti Frojndlihove adsorpcione konstante $1/n$ i vrijednosti CEC je negativna. Regresiona zavisnost između vrijednosti CEC, kao nezavisne veličine i vrijednosti Frojndlihove adsorpcione konstante $1/n$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
8. Korelaciona zavisnost između između vrijednosti K_d i vrijednosti CEC je pozitivna i iznosi 0,668*. Regresiona zavisnost između vrijednosti CEC, kao nezavisne veličine i vrijednosti K_d , kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
9. Sadržaj pijeska, praha i gline statistički značajno utiče na adsorpciju nikosulfurona. Adsorpcija nikosulfurona se povećava sa povećanjem sadržaja praha i gline u zemljištu a smanjuje sa povećanjem sadržaja pijeska u zemljištu.
10. Korelaciona zavisnost između sadržaja pijeska (%) i vrijednosti K_f je negativna. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti Frojndlihove adsorpcione konstante K_f , kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
11. Korelaciona zavisnost između sadržaja pijeska (%) i vrijednosti $\log K_f$ je negativna i visoko statistički značajna. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti $\log K_f$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
12. Sadržaj čestica pijeska u zemljištu značajno utiče i na konstantu $1/n$. Ta korelaciona veza je pozitivna i statistički značajna. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti $1/n$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
13. Koeficijent distribucije (K_d) nikosulfurona u zemljištu je u statistički značajnoj negativnoj korelativnoj vezi sa sadržajem čestica pijeska u zemljištu. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i vrijednosti koeficijenta distribucije K_d , kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
14. Procenat adsorbovanog nikosulfurona na čestice zemljišta je u statistički visokoznačajnoj negativnoj korelaciji sa sadržajem pijeska. Regresiona zavisnost

- između sadržaja čestica pijeska u zemljištu, kao nezavisne veličine i procenta adsorbovanog nikosulfurona, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
15. Za razliku od negativnog uticaja sadržaja pijeska, koeficijent linearne regresije za sadržaj praha je pozitivan. Regresiona zavisnost između sadržaja čestica praha u zemljištu, kao nezavisne veličine i $\log K_f$, kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
 16. Koeficijent distribucije (K_d) nikosulfurona u zemljištu je u jakom i statistički značajnom pozitivnom korelacionom odnosu sa sadržajem gline u tom zemljištu. Regresiona zavisnost između sadržaja gline u zemljištu, kao nezavisne veličine i K_d , kao zavisne veličine, odgovara linearnoj regresiji.
 17. Utvrđena je statistički značajna korelaciona zavisnosti između vrijednosti K_f , odnosno $\log K_f$, sa jedne strane i vrijednosti K_d sa druge strane.
 18. Utvrđeno je da vrijeme degradacija nikosulfurona zavisi od početne količine herbicida i vremena koje protekne od aplikacije herbicida. Vrijeme polurazgradnje (DT_{50}) bilo je najveće u zemljištu sa lokaliteta Kosjerevo ($DT_{50}=43,31$ dan), u zemljištu sa lokaliteta Manjača DT_{50} je 16,13 dana u prosjeku, dok je najkraće vrijeme polurazgradnje u uzorku zemljišta sa lokaliteta Tunjice i iznosi 9,43 dana.
 19. Rezultati zastupljenosti mikroorganizama u uzorcima zemljišta pokazali su različitu brojnost sistematskih i fizioloških grupa mikroorganizama. Brojnost je zavisila od tipa analiziranog zemljišta, grupe mikroorganizama i koncentracije nikosulfurona.
 20. Rezultati pokazuju da je u većini uzoraka zastupljenost mikroorganizama u zemljištu bila najveća u kontroli u poređenju sa tretmanima gdje je primijenjen nikosulfuron. Zastupljenost ukupnog broja bakterija je nakon primjene nikosulfurona redukovana do 77% na lokaciji Manjača, do 74% na lokaciji Tunjice i do 80% na lokaciji Kosjerevo. Ukupni amonifikatori su pokazali izrazitu osjetljivost prema primjeni nikosulfurona: na lokaciji Manjača, stepen redukcije ove grupe mikroorganizama iznosio je do 85%, na lokaciji Tunjice do 89% i na lokaciji Kosjerevo do 87%.
 21. Mikrobnii diverzitet bio je najizraženiji na lokaciji Tunjice, gdje je pH vrijednost bila najoptimalnija. Broj mikroorganizama se uglavnom smanjivao sa povećanjem koncentracije nikosulfurona u ispitivanim uzorcima zemljišta.
 22. Iz ispitivanih uzoraka izolovano je 10 bakterijskih i 6 izolata gljiva tolerantnih na prisustvo nikosulfurona. Identifikacija najrezistentnijih izolata pokazala je da oni

pripadaju rodovima *Bacillus*, *Pseudomonas* i *Penicillium*. Ovi izolati pokazali su najveći stepen rasta pri koncentraciji nikosulfurona od 10 mg/L.

Rezultati ove doktorske disertacije su potvrdili značaj i neophodnost istraživanja sorpcije i degradacije herbicida u zemljištu, te njihovog uticaja na mikroorganizme zemljišta. Ovo je prije svega značajno za herbicide koji se koriste na velikim poljoprivrednim površinama, kakav je i nikosulfuron. Veliko variranje adsorpcije herbicida u zavisnosti od karakteristika zemljišta, i utvrđivanje zakonomjernosti sorpcije i degradacije od tih karakteristika ima veliki naučni i primijenjeni značaj. Rezultat ovakvih istraživanja trebalo bi uzeti u obzir prilikom procjene rizika primjene herbicida, jer je Bosna i Hercegovina vrlo raznolika u pogledu karakteristika zemljišta, blizine vodotokova i visine podzemne vode, što nekim herbicidima može značajno ograničiti upotrebu.

8. LITERATURA

1. Abdel-Malek AY, Moharram AM, Abdel-Kader MI Omar SA (1994). Effect of soil treatment with the organophosphorus insecticide profenofos on the fungal flora and some microbial activities. *Microbiological Research* 149: 167-171.
2. Abigail A, Salyers D, Whitt D. Ziemia (2005). Planeta mikroorganizmów. *Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość, środowisko* (Markiewicz Z, Ed.). Warszawa: PWN, 3-5.
3. Accinelli C, Dinelli G, Vicari A, Catizone P (2001). Atrazine and metolachlor degradation in subsoils. *Biology and Fertility of Soils* 33: 495-500.
4. Aguer JP, Cox L, Richard C, Hermosin MC, Cornejo J (2000). Sorption and photolysis studies in soil and sediment of the herbicide napropamide. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 35(6): 725-738.
5. Ahemad M, Khan MS (2013). Pesticides as antagonists of rhizobia and the legume-Rhizobium symbiosis: a paradigmatic and mechanistic outlook. *Biochemistry and Molecular Biology* 1(4): 63-75.
6. Ahmad KS (2017). Pedospheric sorption investigation of sulfonyl urea herbicide triasulfuron via regression correlation analysis in selected soils. *South African Journal of Chemistry* 79: 163-170.
7. Ahmad KS, Rashid N, Azhar S (2016). Adsorption and desorption characteristics of chlorosulfuron in selected minerals and Pakistani soils. *Eurasian Journal of Soil Science* 5: 1-12.
8. Ahmad R, Nelson PL, Kookana R (2006). The molecular composition of soil organic matter as determined by ¹³C NMR and elemental analyses and correlation with pesticide sorption. *European Journal of Soil Science* 57: 883-893.
9. Ahmadi AR, Shahbazi S, Diyanat M (2016). Analysis of nicosulfuron residues in maize field soil by high-performance liquid chromatography. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*: 9(2): 229-235.
10. Aislabie J, Deslippe JR (2013). Soil microbes and their contribution to soil services. *Ecosystem services in New Zealand – conditions and trends* (Dymond JR, Ed.). Manaaki Whenua Press, Lincoln, New Zealand, 143-161.
11. Aktar MW, Sengupta D, Chowdhury A (2009). Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology* 2(1): 1-12.
12. Allen-King RM, Grathwohl P, Ball WP (2002). New modeling paradigms for the sorption of hydrophobic organic chemicals to heterogeneous carbonaceous matter in soils, sediments and rocks. *Advances in Water Resources* 25: 985-1016.
13. Amend AS, Oliver TA, Amaral-Zettler LA, Boetius A, Fuhrman JA, Horner-Devine MC, Huse SM, Mark Welch DB, Martiny AC, Ramette A, Zinger L, Sogin ML, Martiny JBH (2013). Macroecological patterns of marine bacteria on a global scale. *Journal of Biogeography* 40: 800-811.

14. Ananstassiades M, Lehotay S. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International* 86(2): 412-431.
15. Andreu V, Pico Y (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 23(10-11): 772-789.
16. Annibale D, Rosetto A, Leonardi F, Federici V, Petruccioli VFM (2006). Role of autochthonous filamentous fungi in bioremediation of a soil historically contaminated with aromatic hydrocarbons. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 28-36.
17. Antić N (2018). Razvoj i primena hplc-ms/ms metode za određivanje tragova pesticida u uzorcima vode. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški Fakultet.
18. Antonious GF (2003). Impact of soil management and two botanical insecticides on urease and invertase activity. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 38: 479-488.
19. Arias ME, Gonzales-Perez JA, Gonzales-Vila FJ, Ball AS (2005). Soil health-a new challenge for microbiologists and chemists. *International Microbiology* 8: 13-21.
20. Arias-Estevez M, Lopez-Periago E, Martinez-Carballo E, Simal-Gandara J, Mejuto JC, Garcia-Rio L (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 123(4): 247-260.
21. Ataikiru TL, Okpokwasili GS, Okerentugba PO (2019). Impact of pesticides on microbial diversity and enzymes in soil. *South Asian Journal of Research in Microbiology* 13: 1-6.
22. Azarkan S, Pena A, Draoui K, Ignacio Sainz-Diaz C (2016). Adsorption of two fungicides on natural clays of Morocco. *Applied Clay Science* 123: 37-46.
23. Azcarate MP, Montoya JC, Koskinen WC (2015). Sorption, desorption and leaching potential of sulfonyleurea herbicides in Argentinean soils. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 50: 229-237.
24. Azcarate MP, Papiernik SK, Montoya JC, Koskinen WC (2018). Sorption-desorption of rimsulfuron, nicosulfuron, and metabolites in soils from Argentina and the USA. *Agricultural and Environmental Letters* 3: 180048.
25. Bælum J, Jacobsen CS (2009). TaqMan probe-based real-time PCR assay for detection and discrimination of class I, II, and III *tfdA* genes in soils treated with phenoxy acid herbicides. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 2969-2972.
26. Badawi N, Johnsen AR, Sørensen J, Aamand J. (2013). Centimeter-scale spatial variability in 2-Methyl-4-Chlorophenoxyacetic acid mineralization increases with depth in agricultural soil. *Journal of Environmental Quality* 42: 683.
27. Bai Z, Xu HJ, He HB, Zheng LC, Zhang XD (2012). Alterations of microbial populations and composition in the rhizosphere and bulk soil as affected by residual acetochlor. *Environmental Science and Pollution Research* 20: 369-379.
28. Bailey JA, Kapusta G (1993). Soybean (*Glycine max*) tolerance to simulated drift of nicosulfuron and primisulfuron. *Weed Technology* 7: 740-745.

29. Bajsa N, Morel CEMA, Brana V, Castro-Sowinski S (2013). The effect of agricultural practices on resident soil microbial communities: focus on biocontrol and biofertilization. *Molecular microbial ecology of the rhizosphere* (de Bruijn FJ, Ed.). Chapter 65. Volume 2, First Edition. John Wiley and Sons, Inc., 687-700.
30. Barriuso E, Calvet R (1991). Soil type and herbicide adsorption. *International Journal of Environmental and Analytic Chemistry* 46: 117-128.
31. Barriuso E, Feller C, Calvet R, Cerri C (1992). Sorption of atrazine terbutryn and 2,4-D herbicides in two brazilian oxisols. *Geoderma* 53: 155-167.
32. Barriuso E, Laird DA, Koskinen WC, Dowdy RH (1994). Atrazine desorption from smectites. *Soil Science Society of America Journal* 58: 1632-1638.
33. Bartell FE, Thomas TL, Fu Y (1951). Thermodynamics of adsorption from solution. IV. Temperature dependence of adsorption. *Journal of Physical and Colloid Chemistry* 55: 1456-1462.
34. Baskaran S, Bolan NS, Rahman A, Tillman RW (1996). Pesticide sorption by allophanic and non-allophanic soils of New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 39: 297-310.
35. Bastida F, Selevsek N, Torres IF, Hernandez T, García C (2015). Soil restoration with organic amendments: linking cellular functionality and ecosystem processes. *Scientific Reports* 5: 15550.
36. Battaglin WA, Rice KC, Focazio MJ, Salmons S, Barry RX (2009). The occurrence of glyphosate, atrazine, and other pesticides in vernal pools and adjacent streams in Washington, DC, Maryland, Iowa, and Wyoming, 2005-2006. *Environmental Monitoring and Assessment* 155: 281-307.
37. Bekbolet M, Yenigun O, Yucel I (1999). Sorption study of 2,4-D on selected soil. *Water Air Soil Pollution* 111: 75-88.
38. Bending GD, Shaw E, Walker A (2001). Spatial heterogeneity in the metabolism and dynamics of isotopuron degrading microbial communities in soil. *Biology and Fertility of Soils* 33: 484-489.
39. Ben-Hur M, Letey J, Farmer WJ, Williams CF, Nelson SD (2003). Soluble and solid organic matter effects on atrazine adsorption in cultivated soils. *Soil Science Society of America Journal* 67: 1140-1146.
40. Bennett PC, Rogers JR, Choi WJ, Hiebert FK (2001). Silicates, silicate weathering, and microbial ecology. *Geomicrobiology Journal* 18: 3-19.
41. Benzi M, Robotti E, Gianotti V (2011). HPLC-DAD-MSn to investigate the photodegradation pathway of nicosulfuron in aqueous solution. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399: 1705-1714.
42. Berger BM, Wolfe NL (1996). Hydrolysis and biodegradation of sulfonylurea herbicides in aqueous buffers and anaerobic water-sediment systems: assessing fate pathways using molecular descriptors. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15: 1500.
43. Berglof T, Koskinen WC, Duffy MJ, Norberg KA, Kylin H (2003). Metsulfuron methyl sorption-desorption in field-moist soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(12): 3598-3603.

44. Bevivino A, Paganin P, Bacci G, Florio A, Pellicer MS (2014). Soil bacterial community response to differences in agricultural management along with seasonal changes in a mediterranean region. *PLoS One* 9(8): e105515.
45. Beyer EM Jr, Duffy MJ, Hay JV, Schlueter DD (1988). Sulfonyleureas. Herbicides: chemistry, degradation and mode of action (Kearney PC, Kaufman DD, Eds.). Volume 3. Marcel Dekker, New York.
46. Bhattarai A, Bhattarai B, Pandey S (2015). Variation of soil microbial population in different soil horizons. *Journal of Microbiology and Experimentation* 2(2): 75-78.
47. Bhuyan SI, Tripathi OP, Khan ML (2014). Effect of season, soil and land use pattern on soil N-mineralization, ammonification and nitrification: A study in Arunachal Pradesh, eastern Himalaya. *International Journal of Environmental Science* 5(1): 88-97.
48. Birkhofer K, Schoning I, Alt F, Herold N, Klamer B, Maraun M, Marhan S, Oelmann Y, Wubet T, Yurkov A, Begerow D, Berner D, Buscot F, Daniel R, Diekötter T, Ehnes RB, Erdmann G, Fischer C, Foesel B, Groh J, Gutknecht J, Kandeler E, Lang C, Lohaus G, Meyer A, Nacke H, Nather A, Overmann J, Polle A, Pollierer MM, Scheu S, Schloter M, Schulze ED, Schulze W, Weinert J, Weisser WW, Wolters V, Schrupf M (2012). General relationships between abiotic soil properties and soil biota across spatial scales and different land-use types. *PLoS One* 7(8): e43292.
49. Bissett A, Richardson AE, Baker G, Thrall PH (2011). Long-term land use effects on soil microbial community structure and function. *Applied Soil Ecology* 51: 66-78.
50. Blanco P, Hernando-Amado S, Reales-Calderon JA, Corona F, Lira F, Alcalde-Rico M, Bernardini A, Sanchez MB, Martinez JL (2016). Bacterial multidrug efflux pumps: much more than antibiotic resistance determinants. *Microorganisms* 4: 14.
51. Boesten JJTI, van der Linden AMA (1991). Modelling the influence of sorption and transformation on pesticide leaching and persistence. *Journal of Environmental Quality* 20: 425-435.
52. Bonanomi G, De Filippis F, Cesarano G, La Stora A, Ercolini D, Scala F (2016). Organic farming induces changes in soil microbiota that affect agro-ecosystem functions. *Soil Biology and Biochemistry* 103: 327-336.
53. Bonczek JL, Nkedi-Kizza P (2007). Using surfactant-modified clays to determine sorption mechanisms for a representative organic base, quinoline. *Journal of Environmental Quality* 36: 1803-1810.
54. Bonkowski M (2004). Protozoa and plant growth: the microbial loop in soil revisited. *New Phytologist* 162: 617-631.
55. Boonchan S, Britz ML, Stanley GA (2000). Degradation and mineralization of highmolecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal bacterial cocultures. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1007-1019.
56. Bravim NPB, Alves AF, Orlanda JFF, Silva PBR (2021). Selection of filamentous fungi that are resistant to the herbicides atrazine, glyphosate and pendimethalin. *Acta Scientiarum. Agronomy* 43: e51656.
57. Breidenbach AW (1965). Pesticide residues in air and water. *Archives of Environmental Health* 10(6): 827-830.

58. Broggaard OK, Streibig J (1988). Chlorsulfuron adsorption by humic acid, iron oxides, and montmorillonite. *Weed Science* 36: 530-534.
59. Brons JK, van Elsas JD (2008). Analysis of bacterial communities in soil by use of denaturing gradient gel electrophoresis and clone libraries, as influenced by different reverse primers. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 2717-2727.
60. Brouwer A, Longnecker MP, Birnbaum LS, Cogliano J, Kostyniak P, Moore J, Schantz S, Winneke G (1999). Characterization of potential endocrine related health effects at lowdose levels of exposure to PCBs. *Environmental Health Perspectives* 107: 639.
61. Brown HM (1990). Mode of action, crop selectivity, and soil relations of the sulfonylurea herbicides. *Pest Management Science* 29: 263-281.
62. Brown I (2004). UK pesticides residue committee report (available online http://www.pesticides.gov.uk/uploadedfiles/Web_Assets/PRC/PRCAnnualreport2004.pdf).
63. Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, Van Themaat EVL, Schulze-Lefert P (2013). Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology* 64: 807-838.
64. Burns RG (1975). Factors affecting pesticide loss from soil. *Soil biochemistry* (Paul EA, McLaren AD, Eds.). Marcel Dekker, Inc, New York, 103-141.
65. Busby PE, Soman C, Wagner MR, Friesen ML, Kremer J, Bennett A, Morsy M, Eisen JA, Leach JE, Dangl JL (2017). Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biology* 15: e2001793.
66. Butler PA (1969). Monitoring pesticide pollution. *Bioscience* 19(10): 889-891.
67. Caceres Jensen L, Neira-Albornoz A, Escudey M (2019). Herbicides mechanisms involved in the sorption kinetic of ionisable and non ionisable herbicides: physical/chemical properties of soils and experimental conditions. Kinetic modeling for environmental systems (Abdel Rahman RO, Eds.). IntechOpen, 1-15.
68. Caceres-Jensen L, Rodriguez-Becerra J, Escudey M (2018). Impact of physical/chemical properties of volcanic ash-derived soils on mechanisms involved during sorption of ionisable and non-ionisable herbicides. *Advanced sorption process applications* (Edeballi DS, Ed.). Intech, London, 95-149.
69. Cairney JWG (2000). Evolution of mycorrhiza systems. *Naturwissenschaften* 87: 467-475.
70. Caldas SS, Bolzan CM, Cerqueira MB, Tomasini D, Furlong EB, Fagundes C, Primel E (2011). Evaluation of a modified QuEChERS extraction of multiple classes of pesticides from a rice paddy soil by LC-APCI-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 5: 11918-11926.
71. Calvet R (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environmental Health Perspectives* 83: 145-177.
72. Calvet R, Barriuso E, Bedos C, Benoit P, Charnay MP, Coquet Y (2005). *Devenir des pesticides dans les sols*. Editions France Agricole, Paris.
73. Carles L, Joly M, Bonnemoy F, Lereboure M, Batisson I, Besse-Hoggan P (2017a). Identification of sulfonylurea biodegradation pathways enabled by a novel nicosulfuron-transforming strain *Pseudomonas fluorescens* SG-1: Toxicity assessment and effect of formulation. *Journal of Hazardous Materials* 324: 184-193.

74. Carles L, Rossi F, Joly M, Besse-Hoggan P, Batisson I, Artigas J (2017b). Biotransformation of herbicides by aquatic microbial communities associated to submerged leaves. *Environmental Science and Pollution Research* 24: 3664-3674.
75. Carles L, Rossi F, Besse-Hoggan P, Blavignac C, Leremboure M, Artigas J, Batisson I (2018). Nicosulfuron degradation by an ascomycete fungus isolated from submerged *Alnus* leaf litter. *Frontiers in Microbiology* 9: 3167.
76. Carriger JF, Rand GM, Gardinali PR, Perry WB, Tompkins MS, Fernandez AM (2006). Pesticides of potential ecological concern in sediment from South Florida Canals: An ecological risk prioritization for aquatic arthropods. *Soil and Sediment Contamination* 15: 21-45.
77. CE 1107/2009 (2009). Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council. *Official Journal of the European Union* (21.10.2009).
78. Celis R, Cox L, Hermosin MC, Cornejo J (1997). Sorption of thiazafurion by iron- and humic acid- coated montmorillonite. *Journal of Environmental Quality* 26: 472-479.
79. Cerri CC, Jenkinson DS (1981). Formation of microbial biomass during the decomposition of ¹⁴C labelled ryegrass in soil. *Journal of Soil Sciences* 32: 619-626.
80. Cessna AJ, Donald DB, Bailey J, Waiser M (2015). Persistence of the sulfonylurea herbicides sulfosulfuron, rimsulfuron, and nicosulfuron in farm dugouts (Ponds). *Journal of Environmental Quality* 44: 1948.
81. Chaplain V, Mamy L, Vieuble L, Mouglin C, Benoit P, Barriuso E, Nelieu S (2011). Fate of pesticides in soils: Toward an integrated approach of influential factors. *Pesticides in the modern world - Risks and benefits* (Stoytcheva M, Ed.). IntechOpen, 535-560.
82. Cheah UB, Kirkwood RC, Lum KY (1997). Adsorption, desorption and mobility of four commonly used pesticides in Malaysian agricultural soils. *Pest Management Science* 50(1): 53-63.
83. Chen D, Cheng J, Chu P, Hu S, Xie Y, Tuvshintogtokh I, Bai Y (2015). Regional scale patterns of soil microbes and nematodes across grasslands on the Mongolian plateau: relationships with climate, soil, and plants. *Ecography* 38: 622-631.
84. Chen J, Xuliang Z, Huiju X, Zhihui B, Hongyan Q, Hongxun Z (2007). Associated impact of inorganic fertilizers and pesticides on microbial communities in soils. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 23-29.
85. Chen SK, Edwards CA, Subler S (2001). Effect of fungicides benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1971-1980.
86. 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.
87. Copaja SV, Gatica-Jeria P (2021). Effects of clay content in soil on pesticides sorption process. *Journal of the Chilean Chemical Society* 66(1): 5086-5092.
88. Core J (2003). Quechers method catches pesticide residues. *Agricultural research magazine* 51(7): 9.

89. Cox L, Hermosin MC, Cornejo J (2005). Adsorption mechanisms of thiazafluron in mineral soil clay components. *European Journal of Soil Science* 46: 431-438.
90. Cueff S, Alletto L, Dumeny V, Benoit P, Pot V (2021). Adsorption and degradation of the herbicide nicosulfuron in a stagnic Luvisol and Vermic Umbrisol cultivated under conventional or conservation agriculture. *Environmental Science and Pollution Research* 28(13): 1-13.
91. Cycon M, Wojcik M, Borymski S, Piotrowska-Seget Z (2013): Short-term effects of the herbicide napropamide on the activity and structure of the soil microbial community assessed by the multi-approach analysis. *Applied Soil Ecology* 66: 8-18.
92. Davies JED, Jabeen N (2003). The adsorption of herbicides and pesticides on clay minerals and soils. Part 2, atrazine. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 46: 57-64.
93. de Lafontaine Y, Beauvais C, Cessna AJ, Gagnon P, Hudon C, Poissant L (2014). Sulfonylurea herbicides in an agricultural catchment basin and its adjacent wetland in the St. Lawrence River basin. *Science of the Total Environment* 47: 1-10.
94. de Menezes AB, Lockhart RJ, Cox MJ, Allison HE, McCarthy AJ (2008). Cellulose degradation by micromonosporas recovered from freshwater lakes and classification of these actinomycetes by DNA gyrase B gene sequencing. *Applied and Environmental Microbiology* 74: 7080-7084.
95. Dechesne A, Badawi N, Aamand J, Smets BF (2014). Fine scale spatial variability of microbial pesticide degradation in soil: scales, controlling factors, and implications. *Frontiers in Microbiology* 5: 667.
96. Dechesne A, Pallud C, Bertolla F, Grundmann GL (2005). Impact of the microscale distribution of a *Pseudomonas* strain introduced into soil on potential contacts with indigenous bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 71: 8.
97. Degelmann P, Wenger J, Niessner R, Knopp D (2004). Development of a class-specific ELISA for sulfonylurea herbicides (sulfuron screen). *Environmental Science and Technology* 38: 6795-6802.
98. Degorski M (2004). Geografia gleb jako dyscyplina fizycznogeograficzna. *Przegląd Geograficzny* 3(76): 273-274.
99. Delle Site A (2001). Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 30: 439.
100. Demanou J, Sharma S, Weber A, Wilke BM, Njine T, Monkiedje A, Munch JC, Schlöter M (2006). Shifts in microbial community functions and nitrifying communities as a result of combined application of copper and mefenoxam. *FEMS Microbiology Letters* 260: 55-62.
101. Dequiedt S, Thioulouse J, Jolivet C, Saby NPA, Lelievre M, Maron PA, Martin MP, Prevost-Boure NC, Toutain B, Arrouays D, Lemanceau P, Ranjard L (2009). Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environmental Microbiology Reports* 1: 251-255.
102. Devi YB, Meetei TT, Kumari N (2018). Impact of pesticides on soil microbial diversity and enzymes: a review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 7(6): 952-958.

103. Dietary guidelines for Americans (2005). U.S. Department of health and human services, U.S. Department of Agriculture.
104. Diez MC (2010). Biological aspects involved in the degradation of organic pollutants. *Journal of Soil Sciences and Plant Nutrition* 10(3): 244-267.
105. Dilly O, Ioem J B, Vos A, Munch JC (2004). Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 468-474.
106. Dolaptsoglou C, Karpouzas DG, Menkissoglu-Spiroudi U, Eleftherohorinos I, Voudrias EA (2007). Influence of different organic amendments on the degradation, metabolism, and adsorption of terbuthylazine. *Journal of Environmental Quality* 36(6): 1793-1802.
107. Dominguez-Rodriguez VI, Baltierra-Trejo E, Gómez-Cruz R, Adams RH. (2021). Microbial growth in biobeds for treatment of residual pesticide in banana plantations. *Peer J* 9: e1220.
108. dos Santos JB, Ferreira EA, Kasuya MCM, da Silva AA, de Oliveira Procopio S (2005). Tolerance of *Bradyrhizobium* strains to glyphosate formulations. *Crop Protection* 24: 543-547.
109. Dumontet S, Cavoski I, Ricciuti P, Mondelli D, Jarrar M, Pasquale V, Crecchio C (2017). Metabolic and genetic patterns of soil microbial communities in response to different amendments under organic farming system. *Geoderma* 296: 79-85.
110. Đorđević J, Trtić-Petrović T, Kumrić K, Purenović M (2009). Primena ACD/LABS 12 Programa za određivanje eksperimentalnih uslova za membransku ekstrakciju pesticide. Osma konferencija mladih istraživača, Beograd.
111. Đurović R (2011). Procesi koji određuju sudbinu pesticida u zemljištu. *Pesticides and Phytomedicine (Beograd)* 26(1): 9-22.
112. Edwards KJ, Becker K, Colwell F (2012). The deep, dark energy biosphere: intraterrestrial life on Earth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 40: 551-568.
113. EFSA (2007). Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance nicosulfuron. *EFSA Scientific Report* 120: 1-91.
114. Eilers KG, Lauber CL, Knight R, Fierer N (2010). Shifts in bacterial community structure associated with inputs of low molecular weight carbon compounds to soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42: 896-903.
115. Ejaz S, Akram W, Lim CW, Lee JJ, Hussain I (2004). Endocrine disrupting pesticides: a leading cause of cancer among rural people. *Experiment Oncology* 26: 98-105.
116. El Sebai T, Lagacherie B, Soulas G, Martin-Laurent F (2007). Spatial variability of isoproturon mineralizing activity within an agricultural field: geostatistical analysis of simple physicochemical and microbiological soil parameters. *Environmental Pollution* 145: 680-690.
117. Extoxnet (2010). Extension toxicology Network. Pesticide information profile. Nicosulfuron. Available at: <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/metirampropoxur/nicosulfuron-ext.html> (posljednji pristup 25.10.2010.).

118. Fabra A, Duffard R, de Duffard AE (1997). Toxicity of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid to *Rhizobium* sp. in pure culture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 59: 645-652.
119. Fang G, Chen J, Wang J, He J, Wang S (2010). N-Methylimidazolium ionic liquid-functionalized silica as a sorbent for selective solid-phase extraction of 12 sulfonylurea herbicides in environmental water and soil samples. *Journal of Chromatography A* 1217: 1567-1574.
120. FAO (2000). *Assessing soil contamination: a reference manual*. FAO Pesticide Disposal Series. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
121. Farenhorst A, Muc D, Monreal C, Florinski I (2001). Sorption of herbicides in relation to soil variability and landscape position. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 36(4): 379-387.
122. Farmer VC, Mortland MM (1966). An infrared study of the coordination of pyridine and water to exchangeable cations in montmorillonite and saponite. *Journal of the Chemical Society A*, 344-351.
123. Feng W, Wei Z, Song J, Qin Q, Yu K, Li G, Zhang J, Wu W, Yan Y (2017). Hydrolysis of nicosulfuron under acidic environment caused by oxalate secretion of a novel *Penicillium oxalicum* strain YC-WM1. *Scientific Reports* 7: 647.
124. Fernandez RN, Schulze DG, Coffin DL, Van Scoyoc GE (1988). Color, organic matter, and pesticide adsorption relationships in a soil landscape. *Soil Science Society of America Journal* 52: 1023-1026.
125. Fierer N, Bradford MA, Jackson RB (2007). Towards an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88: 1354-1364.
126. Fierer N, Jackson RB (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *PNAS* 103(3): 626-631.
127. Filimon MN, Borozan AB, Bordean DM, Popescu R, Gotia SR, Verdes D, Adrian S (2011). Sulphonylureic herbicidal risk in the detection of soil fungi communities. *African Journal of Microbiology Research* 5(30): 5507-5511.
128. Filimon MN, Vlad DC, Verdes D, Dumitrascu V, Popescu R (2015). Enzymatic and biological assessment of sulfonylurea herbicide impact on soil bacterial communities. *African Journal of Agricultural Research* 10(14): 1702-1708.
129. Finlay RD (2007). The fungi in soil. *Modern soil microbiology* (Elsas JDV, Jansson JK, Trevors JT, Eds.). Boca Raton, FL, CRC Press, 107-146.
130. Fliessbach A, Mader P (2004). Short- and long-term effects on soil microorganisms of two potato pesticide spraying sequences with either glufosinate as defoliant. *Biology and Fertility of Soils* 40: 268-276.
131. Floch C, Chevremont A-C, Joanico K, Capowiez Y, Criquet S (2011). Indicators of pesticide contamination: Soil enzyme compared to functional diversity of bacterial communities via Biolog W ecoplates. *European Journal of Soil Biology* 47: 256-263.
132. Font N, Hernández F, Hogendoorn EA, Baumann RA, van Zoonen P (1998). Microwave-assisted solvent extraction and reversed-phase liquid chromatography–UV detection for screening soils for sulfonylurea herbicides. *Journal of Chromatography A* 798: 179-186.

133. Forget G (1993). Balancing the need for pesticides with the risk to human health. Impact of pesticide use on health in developing countries (Forget G, Goodman T, de Villiers A, Eds.) IDRC, Ottawa: 2.
134. Franco A, Fu W, Trapp S (2009). Influence of soil pH on the sorption of ionizable chemicals: modeling advances. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28: 458-464.
135. Fredslund L, Vinther FP, Brinch UC, Elsgaard L, Rosenberg P, Jacobsen CS (2008). Spatial variation in 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid mineralization and sorption in a sandy soil at field level. *Journal of Environmental Quality* 37: 1918-1928.
136. Fu XW, Wu YJ, Qu JR, Yang H (2012). Preparation and utilization of molecularly imprinted polymer for chlorsulfuron extraction from water, soil, and wheat plant. *Environmental Monitoring and Assessment* 184: 4161-4170.
137. Furtak K, Gajda AM (2018). Activity and variety of soil microorganisms depending on the diversity of the soil tillage system. *Sustainability of Agroecosystems* (de Oliveira A, Ed.). IntechOpen, 45-61.
138. Gajda AM (2015). Microbiological and biochemical indices of quality of soils under winter wheat grown in different tillage systems. Puławy: Monografie i Rozprawy Naukowe, IUNG.
139. Galazka A, Gawryjołek K, Perzyński A, Gałązka R, Księżak J (2017). Changes in enzymatic activities and microbial communities in soil under long-term maize monoculture and crop rotation. *Polish Journal of Environmental Studies* 26(1): 39-46.
140. Garcia Blanco FM, de Almeida SDB, Matallo MB (2013). Herbicide – soil interactions, applied to maize crop under Brazilian conditions. *Herbicides – current research and case studies in use* (Price AJ, Kelton JA, Eds.). Chapter 3. IntechOpen, 47-74.
141. Garcia-Delgado C, Barba-Vicente V, Marin-Benito JM, Igual JM, Sanchez-Martin M, Rodriguez-Cruz MS (2018). Simultaneous application of two herbicides and green compost in a field experiment: implication on soil microbial community. *Applied Soil Ecology* 127: 30-40.
142. Geisseler D, Linquist BA, Lazicki PA (2017). Effect of fertilization on soil microorganisms in paddy rice systems – A meta analysis. *Soil Biology and Biochemistry* 115: 452-460.
143. Gerstl Z, Yaron B (1983). Behavior of bromacil and napropamide in soils: I. Adsorption and degradation. *Soil Science Society of America Journal* 47(3): 474-478.
144. Gervais G, Brosillon S, Laplanche A, Helen C (2008). Ultra-pressure liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry for multiresidue determination of pesticides in water. *Journal of Chromatography A* 1202: 163-172.
145. Gevao B, Semple KT, Jones KC (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environmental Pollution* 108: 3-14.
146. Giles CH, Smith D, Huitson A (1974). A general treatment and classification of the solute adsorption isotherm. I. Theoretical. *Journal of Colloid and Interface Science* 47: 755-765.
147. Gill HK, Garg H (2014). Pesticides: environmental impacts and management strategies. *Pesticides-toxic aspects* (Larramendy ML, Soloneski S, Eds.). IntechOpen, 187-230.

148. Girvan MS, Bullimore J, Pretty JN, Osborn AM, Ball AS (2003). Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 1800-7809.
149. Gondar D, Lopez R, Antelo J, Fiol S, Arce F (2013). Effect of organic matter and pH on the adsorption of metalaxyl and penconazole by soils. *Journal of Hazardous Materials* 26: 627-633.
150. Gonod LV, Martin-Laurent F, Chenu C (2006). 2,4-D impact on bacterial communities, and the activity and genetic potential of 2,4-D degrading communities in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 58: 529-537.
151. Gonzalez JM, Ukrainczyk L (1996). Adsorption and desorption of nicosulfuron in soils. *Journal of Environmental Quality* 25: 1186-1192.
152. Gopal M, Gupta A, Arunachalam V, Magu SP (2007). Impact of azadirachtin, an insecticidal allelochemical from neem on soil microflora, enzyme and respiratory activities. *Bioresource Technology* 98: 3154-3158.
153. Govedarica M, Milošević N, Konstantinović B (2001). Uticaj dimetenamida i metalahloro na mikrobiološka svojstva zemljišta pod šećernom repom. *Zbornik radova V Jugoslovenskog savetovanja o zaštiti bilja. Zlatibor*, 3-8.
154. Gračanin M (1947). *Pedologija Fiziografija tala*. Poljoprivredni nakladni zavod. Zagreb.
155. Grahovac NL (2016). Praćenje ostataka sulfonilurea u zemljištu u realnim uslovima primenom visoko-pritisne tečne hromatografije. *Doktorska disertacija*. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet.
156. Grahovac NL, Stojanović ZS, Kravić SŽ, Orčić DZ, Suturović ZJ, Kondić-Špika AĐ, Vasin JR, Šunjka DB, Jakšić SP, Rajković MM, Grahovac NM (2017). Determination of residues of sulfonilurea herbicides in soil by using microwave-assisted extraction and high performance liquid chromatographic method. *Hemijska Industrija* 71(4): 289-298.
157. Green JM, Hale T (2005). Increasing and decreasing pH to enhance the biological activity of nicosulfuron. *Weed Technology* 19: 468-475.
158. Grey TL, Walker RH, Hancock HG (1997). Sulfentrazone adsorption and mobility as affected by soil and pH. *Weed science* 45(5): 733-738.
159. Griffiths RI, Thomson BC, James P, Bell T, Bailey M, Whiteley AS (2011). The bacterial biogeography of British soils: Mapping soil bacteria. *Environmental Microbiology* 13: 1642-1654.
160. Grover R (1975). Adsorption and desorption of urea herbicides on soils. *Canadian Journal of Soil Science* 55: t27-t35.
161. Gundi VA, Narasimha G, Reddy BR (2005). Interaction effects of insecticides on microbial populations and dehydrogenase activity in a black clay soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 40(2): 269-283.
162. Gupta S, Gupta R, Sharma S (2013). Impact of chemical- and bio-pesticides on bacterial diversity in rhizosphere of *Vigna radiata*. *Ecotoxicology* 22: 1479-1489.
163. Gustafson DI (1989). Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry* 8: 339-357.

164. Hamaker JW, Thompson JM (1972). Adsorption. Organic chemicals in the soil environment (Goring CAI, Hamaker JW, Eds). Vol. 1. Marcel Dekker, New York, 49-113.
165. Han SI, Cho MH, Whang KS (2008). Comparison of phylogenetic characteristics of bacterial populations in a Quercus and pine humus forest soil. Korean Journal of Microbiology 44: 237-243.
166. Hance RJ (1965). Observations on the relationship between the absorption of diuron and the nature of absorbent. Weed Research 5: 108-114.
167. Hance RJ (1989). Adsorption and bioavailability. Environmental chemistry of herbicides (Grover IR, Ed.). CRC Press, Boca Raton, FL, 1-9.
168. Haney RL, Senseman SA, Hons FM, Zuberer DA (2000). Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. Weed Science 48: 89-93.
169. Harper SS (1988). Sorption of metribuzine in surface and subsurface soils of the Mississippi Delta region. Weed Science 36: 84-89.
170. Harris CI, Warren GF (1964). Adsorption and desorption of herbicides by soil. Weeds 12(2): 120-126.
171. Hayat R, Ali S, Amara U, Khalid R, Ahmed I (2010). Soil beneficial bacteria and their role in plant growth promotion: a review. Annals in Microbiology 60: 579-598.
172. Haynes RJ (2005). Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: an overview. Advances in Agronomy 85: 221-268.
173. Hilton HW, Yuen QH (1963). Adsorption of several preemergence herbicides by Hawaiian sugar cane soils. Journal of Agricultural and Food Chemistry 11: 230-234.
174. Howard AL, Taylor LT (1992). Quantitative supercritical fluid extraction of sulfonyl urea herbicides from aqueous matrices via solid phase extraction disks. Journal of Chromatographic Science 30: 374-382.
175. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm> (posljednji pristup 04.02.2022.)
176. <https://www.fao.org/3/X2570E/X2570E06.htm> (posljednji pristup 12.12.2021.)
177. Huang PM, Wang TSC, Wang MK, Wu MH, Hsu NW (1977). Retention of phenolic acids by noncrystalline hydroxy-aluminium and -iron compounds and clay minerals of soils. Soil Science 123: 213-219.
178. Huang X, He J, Sun JQ, Pan JJ, Sun XF, Li SP (2007). Isolation and characterization of a metsulfuron-methyl degrading bacterium *Methylopila* sp. S113. International Biodeterioration and Biodegradation 60: 152-158.
179. Huggenberger F, Letey J Jr, Farmer WJ (1973). Adsorption and mobility of pesticides in soil. California agriculture. February 1973, 8-9.
180. Hussain S, Siddique T, Saleem M, Arshad M, Khalid A (2009). Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. Chapter 5. Advances in agronomy 102: 159-200. Elsevier Inc.
181. Ibekwe AM, Papiernik SK, Gan J, Yates SR, Yang CH, Crowley DE (2001). Impact of fumigants on soil microbial communities. Applied and Environmental Microbiology 67: 3245-3257.
182. ISO 10390 (1994). Soil quality – Determination of pH.

183. ISO 14235 (1998). Soil quality – Determination of organic carbon by sulphochromic oxidation.
184. Iwafune T (2018). Studies on the behavior and ecotoxicity of pesticides and their transformation products in a river. *Journal of Pesticide Science* 43, 297-304.
185. Jacobsen CS, Hjelmsø MH (2014). Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology* 27: 15-20.
186. Jafari TH, Duric S, Stamenov D, Malidza G (2018). Soil microbial activity in maize crop after application of nicosulfuron. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology* 6(1): 52-54.
187. Janjić V (2002). Sulfoniluree. Institut za istraživanja u poljoprivredi „Srbija“, Beograd; Akademija nauka i umjetnosti Republike Srpske, Republika Srpska.
188. Janjić V (2005). Fitofarmacija. Društvo za zaštitu bilja Srbije, Institut za istraživanja u poljoprivredi "Srbija", Poljoprivredni fakultet Banja Luka, Beograd, Banja Luka, 1-1200.
189. Johnsen K, Jacobsen CS, Torsvik V (2001). Pesticides effects on bacterial diversity in agricultural soils—A review. *Biology and Fertility of Soils* 33: 443-453.
190. Jones RT, Robeson MS, Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N (2009). A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *ISME Journal* 3: 442-453.
191. Kah M, Brown CD (2006). Adsorption of ionisable pesticides in soils. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 188: 149-217.
192. Kah M, Brown CD (2007). Behaviour of ionisable pesticides in soils. *Earth Sciences*. The University of York.
193. Kaiser K, Guggenberger G (2003). Mineral surfaces and soil organic matter. *European Journal of Soil Science* 54: 219-236.
194. Kalia A, Gosal SK (2011). Effect of pesticide application on soil microorganisms. *Archives of Agronomy and Soil Science* 57: 569-596.
195. Kang S, Chang N, Zhao Y, Pan CP (2011). Development of a method for the simultaneous determination of six sulfonylurea herbicides in wheat, rice, and corn by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 59: 9776-9781.
196. Kang Y, Chang YCA, Choi HS, Gu M (2013). Current and future status of protected cultivation techniques in Asia. *Acta Horticulturae* 987: 33-40.
197. Kang ZH, Dong JG, Zhang JL (2012). Optimization and characterization of nicosulfuron degrading enzyme from *Bacillus subtilis* strain YB1. *Journal of Integrative Agriculture* 11(9): 1485-1492.
198. Karickhoff SW (1981). Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere* 10: 833-846.
199. Karpouzas DG, Papadopoulou E, Ipsilantis I, Friedel I, Petric I, Udikovic-Kolic N, Djuric S, Kandeler E, Menkissoglu-Spirodi U, Martin-Laurent F (2014a). Effects of nicosulfuron on the abundance and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi used as indicators of pesticide soil microbial toxicity. *Ecological Indicators* 39: 44-53.

200. Karpouzas DG, Kandeler E, Bru D, Friedel I, Auer Y, Kramer S, Vasileiadis S, Petric I, Udikovic-Kolic N, Djuric S, Martin-Laurent F (2014b). A tiered assessment approach based on standardized methods to estimate the impact of nicosulfuron on the abundance and function of the soil microbial community. *Soil Biology and Biochemistry* 75: 282-291.
201. Karpouzas DG, Tsiamis G, Trevisan M, Ferrari F, Malandain C, Sibourg O, Martin-Laurent F (2016). "Love to hate" pesticides: felicity or curse for the soil microbial community? An FP7 IAPP Marie Curie project aiming to establish tools for the assessment of the mechanisms controlling the interactions of pesticides with soil microorganisms. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 18947-18951.
202. Katagi T (2008). Surfactant effects on environmental behaviour of pesticides. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 194: 71-177.
203. Kemmitt SJ, Wright D, Goulding KWT, Jones DL (2006). pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 898-911.
204. Kerle AE, Jenkins JJ, Vogue AP (2007). Understanding pesticide persistence and mobility for groundwater and surface water protection. Oregon State University, Extension Service, EM 8561-E.
205. Khalid A, Arshad M, Crowley D (2010). Bioaugmentation of azo dyes. *Biodegradation of azo dyes* (Erkurt HA, Ed.). Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 1-37.
206. Khan SU (1978). The interaction of organic matter with pesticides. *Developments in soil science* 8: 137-171.
207. Khan SU (1980). Pesticides in the soil environment. Elsevier, 29-56.
208. Kheyrodin H, Ghazvinian K, Taherian M (2012). Tillage and manure effect on soil microbial biomass and respiration, and on enzyme activities. *African Journal of Biotechnology* 11(81): 14652-14659.
209. Kinney CA, Mandernack KW, Mosier AR (2005). Laboratory investigations into the effects of the pesticides mancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 837-850.
210. Klose S, Ajwa HA (2004). Enzymes activities in agricultural soils fumigated with methyl bromide alternatives. *Soil Biology and Biochemistry* 36: 1625-1635.
211. Kosikowska M, Biziuk M (2010). Review of the determination of pesticide residues in ambient air. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 29(9): 1064-1072.
212. Koskinen WC, O'Connor GA, Cheng HH (1979). Characterization of hysteresis in the desorption of 2, 4, 5-T from soils. *Soil Science Society of America Journal* 43(5): 871-874.
213. Koskinen WC, Rice PJ, Anhalt JA, Sakaliene O, Moorman TB, Arthur EL (2002). Sorption-desorption of "aged" sulfonylaminocarbonyltriazolinone herbicides in soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 5368-5372.
214. Krauss GJ, Solé M, Krauss G, Schlosser D, Wesenberg D, Bärlocher F (2011). Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS Microbiology Reviews* 35: 620-651.

215. Kristensen TN, Ketola T, Kronholm I (2020). Adaptation to environmental stress at different timescales. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1476(1): 5-22.
216. Kuffner M, Pinar G, Hace K, Handschur M, Haslberger AG (2004). DGGE-fingerprinting of arable soils shows differences in microbial community structure of conventional and organic farming systems. *Journal of Food Agriculture and Environment* 2: 259-267.
217. Kumar N, Mukherjee I, Varghese E (2015). Adsorption-desorption of tricyclazole: effect of soil types and organic matter. *Journal of Environmental Monitoring* 187: 61-71.
218. Kumar Rao JVDK, Dart PJ, Usha Kiran M (1982). Cowpea group *Rhizobium* in soils of the semi-arid tropics. *Biological nitrogen fixation technology for tropical agriculture* (Graham PH, Harris SC, Eds.). Colombia: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 291-296.
219. Laabs V, Wehrhan A, Pinto A, Dores E, Amelung W (2007). Pesticide fate in tropical wetlands of Brazil: An aquatic microcosm study under semi-field conditions. *Chemosphere* 67: 975-989.
220. Lagaly G (2001). Pesticide-clay interactions and formulations. *Applied Clay Science* 18: 205-209.
221. Larson SJ, Capel PD, Majewski MS (1997). Pesticides in surface waters-distribution, trends, and governing factors. *Series of pesticides in hydrologic system* (Gilliom RJ, Ed.). Vol. 3. Ann Arbor Press, Chelsea, MI.
222. Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology* 75: 5111-5120.
223. Lee DY, Farmer WJ (1989). Dissolved organic matter interaction with napropamide and four other nonionic pesticides. *Journal of Environmental Quality* 18: 468-474.
224. Lee EY, Lim JS, Oh KH, Lee JY, Kim SK, Lee YK, Kim K (2008). Removal of heavy metals by an enriched consortium. *Journal of Microbiology* 46: 23-28.
225. Leenheer JA, Ahlrichs JL (1971). A kinetic and equilibrium study of the adsorption of carbaryl and parathion upon soil organic matter surfaces. *Soil Science Society of America Proceedings* 35: 700-705.
226. Lerch TZ, Dignac MF, Nunan N, Barriuso E, Mariotti A (2009). Ageing process and soil microbial community effects on the biodegradation of soil 13C-2, 4-D nonextractable residues. *Environmental Pollution* 157(11): 2985-2993.
227. Lesueur C, Gartner M, Mentler A, Fuerhacker M (2008). Comparison of four extraction methods for the analysis of 24 pesticides in soil samples with gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-ion trap-mass spectrometry. *Talanta* 75: 284-293.
228. Levy SB (1992). Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 36: 695-703.
229. Lewis NM, Jamie R (2005). Blueberries in the American diet. *Nutrition Today* 40(2): 92.

230. Li K, Xing B, Torello WA (2005). Effect of organic fertilizers derived dissolved organic matter on pesticide sorption and leaching. *Environmental Pollution* 134: 187-194.
231. Li M, Song J, Ma Q, Kong D, Zhou Y, Jiang X, Parales R, Ruan Z, Zhang Q (2020). Insight into the characteristics and new mechanism of nicosulfuron biodegradation by a *Pseudomonas* sp. LAM1902. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 68: 826-837.
232. Lin, Q, Zhao HM, Chen YX (2007). Effects of 2,4-dichlorophenol, pentachlorophenol and vegetation on microbial characteristics in a heavy metal polluted soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 42(5): 551-557.
233. Liu K, Cao Z, Pan X, Yu Y (2012). Using in situ pore water concentrations to estimate the phytotoxicity of nicosulfuron in soils to corn (*Zea mays* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31(8): 1705-1711.
234. Liu L, Qin S, Lu D, Wang B, Yang Z (2014). Variation of potential nitrification and ammonia oxidizing bacteria community with plant growing period in apple orchard soil. *Journal of Integrative Agriculture* 13(2): 415-425.
235. Lopez L, Pozo C, Rodelas B, Calvo C, Gonzalez-Lopez J (2006). Influence of pesticides and herbicides presence on phosphatase activity and selected bacterial microbiota of a natural lake system. *Ecotoxicology* 15:487-493.
236. Lori M, Symnaczik S, Mader P, De Deyn G, Gattinger A (2017). Organic farming enhances soil microbial abundance and activity - A metaanalysis and meta-regression. *PloS One* 12: e0180442.
237. Lu XH, Kang ZH, Tao B, Wang YN, Dong JG, Zhang JL (2012). Degradation of nicosulfuron by *Bacillus subtilis* YB1 and *Aspergillus niger* YF1. *Applied Biochemistry and Microbiology* 48: 460-466.
238. Lucas JA, Hawkins NJ, Fraaije BA (2015). The evolution of fungicide resistance. *Advances in Virus Research* 90: 29-92.
239. Lupwayi NZ, Harker KN, Clayton GW, Turkington TK, Rice WA, O'Donovan JT (2004). Soil microbial biomass and diversity after herbicide application. *Canadian Journal of Plant Science* 84: 677-685.
240. Maguffin SC, Kirk MF, Daigle AR, Hinkle SR, Jin Q (2015). Substantial contribution of biomethylation to aquifer arsenic cycling. *Natural Geoscience* 8: 290-293.
241. Mahajan GR, Manjunath BL, Singh NP, Ramesh R, Verma RR, Latare AM, D'Souza R, Barnes N, Kulkarni R (2016). Effect of organic and inorganic sources of nutrients on soil microbial activity and soil organic carbon build-up under rice in west coast of India. *Archives of Agronomy and Soil Science* 63(3): 414-426.
242. Mahia J, Cabaneiro A, Carballas T, Díaz-Raviña M (2008). Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. *Biology and Fertility of Soils* 45: 99-105.
243. Majchrzak L, Niewiadomska A, Natywa M (2014). Evaluation of dehydrogenase activity of spring barley depending on the tillage system, previous crop and type of crop residua. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin-Polonia* 69(4): 103-111.

244. Marinari S, Mancinelli R, Campiglia E, Grego S (2006). Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Italy. *Ecological Indicators* 6: 701-711.
245. Marinković JB, Bjelić DĐ, Tintor BB, Đukić VH, Čeran MR (2020). Soil microbial properties under different management systems in soybean production. *Zbornik Matice Srpske za prirodne nauke* 138: 41-49.
246. Martins JMF, Mermoud A (1999). Transport of rimsulfuron and its metabolites in soil columns. *Chemosphere* 38: 601-616.
247. Massini P (1961). Movement of 2,6-dichlorobenzonitrile in soils and in plants in relation to its physical properties. *Weed Research* 1: 142-146.
248. McBean C (2012). *The pesticide manual: a world compendium*. 16th edition. Alton, British crop production council.
249. McCall PJ, Laskowski DA, Swann RL, Dishburger HJ (1981). Measurement of sorption coefficients of organic chemicals and their use, in environmental fate analysis. In: *Test protocols for environmental fate and movement of toxicants*. Proceedings of AOAC Symposium, AOAC.
250. Meena KK, Sorty AM, Bitla UM, Choudhary K, Gupta P, Pareek A, Singh DP, Prabha R, Sahu PK, Gupta VK, Singh HB, Krishanani KK, Minhas PS (2017). Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. *Frontiers in Plant Science* 8: 172.
251. Meena RS, Kumar S, Datta R, Lal R, Vijayakumar V, Brtnicky M, Sharma MP, Singh Yadav G, Kumar Jhariya M, Kumar Jangir C, Imran Pathan S, Dokulilova T, Pecina V, Danso Marfo T (2020). Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land* 9(34): 1-21.
252. Menon P, Gopal M, Parsad R (2004). Influence of two insecticides, chlorpyrifos and quinalphos, on arginine ammonification and mineralizable nitrogen in two tropical soil types. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(24): 7370-7376.
253. Miller GT (1990). *Living in the environment: an introduction to environmental science*. Wadsworth publishing company.
254. Milosevic N, Govedarica M (2002). Effect of herbicides on microbiological properties of soil. *Matica Srpska Proceedings of Natural Sciences* 102: 5-21.
255. Mishra AK, Pandey AB (1989). Toxicity of three pesticides to some nitrogen fixing cyanobacteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 17: 236-246.
256. Monard C, Mchergui C, Nunan N, Martin-Laurent F, Vieubl e-Gonod L (2012). Impact of soil matric potential on the fine-scale spatial distribution and activity of specific microbial degrader communities. *FEMS Microbiology Ecology* 81: 673-683.
257. Moschet C, Wittmer I, Simovic J, Junghans M, Piazzoli A, Singer H, Stamm C, Leu C, Hollender J (2014). How a complete pesticide screening changes the assessment of surface water quality. *Environmental Science and Technology* 48: 5423-5432.
258. Motavalli PP, Palm CA, Parton WJ, Elliott ET, Frey SD (1995). Soil pH and organic C dynamics in tropical forest soils: evidence from laboratory and simulation studies. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 1589-1599.

259. Mulla DJ, McBratney AB (1991). Soil spatial variability. Soil physics companion (Warrick AW, Eds.). CRC Press, Boca Raton, FL, 343-373.
260. Muller DB, Vogel C, Bai Y, Vorholt JA (2016). The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. Annual Review of Genetics (Bonini NM, Ed.). Vol. 50. Palo Alto, CA: Annual Reviews, 211-234.
261. Murage EW, Voroney RP, Kay BD, Deen B, Beyaert RP (2007). Dynamics and turnover of soil organic matter and its heavy density fractions as affected by tillage. Soil Science Society of America Journal 71: 1363-1370.
262. Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G, Renella G (2003). Microbial diversity and soil functions. European Journal of Soil Science 54: 655-670.
263. Natywa M, Sawicka A, Wolna-Maruwka A (2012). Microbial and enzymatic activity in the soil under maize crop in relation to differentiated nitrogen fertilisation. Water-Environment-Rural Areas 2(30): 111-120.
264. Nearpass DC (1976). Adsorption of picloram by humic acids and humin. Soil Science 121: 272-277.
265. Nelson SD, Farmer WJ, Letey J, Williams CF (2000). Stability and mobility of napropamide complexed with dissolved organic matter in soil columns. Journal of Environmental Quality 29(6): 1856-1862.
266. Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P, Hens L (2016). Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. Frontiers in Public Health 4: 148.
267. Niewiadomska A (2004). Effect of carbendazim, imazetapir and thiram on nitrogenase activity, the number of microorganisms in soil and yield of red clover (*Trifolium pretense* L). Polish Journal of Environmental Studies 13: 403-410.
268. Nishimoto R (2019). Global trends in the crop protection industry. Journal of Pesticide Science 44(3): 141-147.
269. Novak JM, Moorman TB, Cambardella, CA (1997). Atrazine sorption at the field scale in relation to soils and landscape position. Journal of Environmental Quality 26: 1271-1277.
270. Oliveira Jr RS, Alonso DG, Koskinen WC, Papiernik SK (2013). Comparative sorption, desorption and leaching potential of aminocyclopyrachlor and picloram. Journal of Environmental Science and Health Part B 48(12): 1049-1057.
271. Oliveira Jr RS, Koskinen WC, Ferreira FA (2001). Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. Weed Research 41: 97-110.
272. Olvera-Velona A, Benoit P, Barriuso E, Ortiz-Hernandez L (2008). Sorption and desorption of organophosphate pesticides, parathion and cadusafos, on tropical agricultural soils. Agronomy for Sustainable Development 28: 231-238. Onjia A, Vasiljević T, Čokeša Đ, Laušević M (2002). Validacija hromatografske analize. Hemijska industrija 56(2): 76-79.
273. Onjia A, Vasiljević T, Čokeša Đ, Laušević M (2002). Validacija hromatografske analize. Hemijska industrija 56(2): 76-79.

274. Oufqir S, El Madani M, Alaoui El Belghiti M, Zrinch A, El Azzouzi M (2017). Adsorption of imazethapyr on six agricultural soils of Morocco: evaluation of the impact of soil properties. *Arabian Journal of Chemistry* 10: S2944-S2949.
275. Ovreas L (2000). Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. *Ecology Letters* 3: 236-251.
276. Ozgoz E, Gunal H, Acir N, Gokmen F, Birol M, Budak M (2013). Soil quality and spatial variability assessment of land use effects in a Typic Haplustoll. *Land Degradation and Development* 24: 277-286.
277. Pallud C, Dechesne A, Gaudet JP, Debouzie D, Grundmann GL (2004). Modification of spatial distribution of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrader microhabitats during growth in soil columns. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 2709-2716.
278. Palma G, Demanet R, Jorquera M, Mora ML, Briceno G, Violante A (2015). Effect of pH on sorption kinetic process of acidic herbicides in a volcanic soil. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 15: 549-560.
279. Palmer KM, Young JPW (2000). Higher diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* populations in arable soils than in grass soils. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 2445-2450.
280. Pampulha ME, Oliveira A (2006). Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Current Microbiology* 53: 238-243.
281. Pandya IY (2018). Pesticides and their applications in agriculture. *Asian Journal of Applied Science and Technology* 2(2): 894-900.
282. Pan-UK (2003). Current pesticide spectrum, global use and major concerns.(online) http://www.pan-uk.org/brie.ng/sida_fil/chap1.htm(posljednji pristup 14.02.2008.)
283. Parkin TB (1993). Spatial variability of microbial processes in soil-A review. *Journal of Environmental Quality* 22: 409-417.
284. Parkin TB, Shelton DR (1992). Spatial and temporal variability of carbofuran degradation in soil. *Journal of Environmental Quality* 21: 672-678.
285. Patiha, Heraldly E, Hidayat Y, Firdaus M (2016). The langmuir isotherm adsorption equation: The monolayer approach. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 107: 012067.
286. Peper IL, Gerba CP, Brendencke JW (1995). *Environmental microbiology*. Academic Press, San Diego, 11-33.
287. Pereira VJ, da Cunha JPAR, de Morais TP, de Oliveira JPR, de Morais JB (2016). Physical-chemical properties of pesticides: concepts, applications, and interactions with the environment. *Bioscience Journal* 32(3): 627-641.
288. Peter CJ, Weber JB (1985). Adsorption, mobility, and efficacy of alachlor and metolachlor as influenced by soil properties. *Weed Science* 33(6): 874-881.
289. Petric I, Karpouzas DG, Bru D, Udikovic-Kolic N, Kandeler E, Djuric S, Martin-Laurent F (2016). Nicosulfuron application in agricultural soils drives the selection towards NS-tolerant microorganisms harboring various levels of sensitivity to nicosulfuron. *Environmental Science and Pollution Research* 23: 4320-4333.

290. Piccolo A, Celano G (1993). Modification of infrared spectra of the herbicide glyphosate induced by pH variation. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 28(4): 447-457.
291. Pino N, Penuela G (2011). Simultaneous degradation of the pesticides methyl parathion and chlorpyrifos by an isolated bacterial consortium from a contaminated site. *International Biodeterioration and Biodegradation* 65: 827-831.
292. Polati S, Bottaro M, Frascarolo P, Gosetti F, Gianotti V, Gennaro MC (2006). HPLC-UV and HPLC-MSn multiresidue determination of amidosulfuron, azimsulfuron, nicosulfuron, rimsulfuron, thifensulfuron methyl, tribenuron methyl and azoxystrobin in surface waters. *Analytica Chimica Acta* 579: 146-151.
293. Pourbabaee AA, Soleymani A, Torabi E, Alizadeh H (2018). Degradation and detoxification of nicosulfuron by a *Pseudomonas* strain isolated from a contaminated cornfield soil. *Soil and Sediment Contamination* 27(8): 1-17.
294. Powell JR, Gulden RH, Hart MM, Campbell RG, Levy-Booth DJ, Dunfield KE, Pauls KP, Swanton CJ, Trevors JT, Klironomos JN (2007). Mycorrhizal and rhizobial colonization of genetically modified and conventional soybeans. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 4365-4367.
295. Powlson DS, Bhogal A, Chambers BJ, Coleman K, Macdonald AJ, Goulding KWT, Whitmore AP (2012). The potential to increase soil carbon stocks through reduced tillage or organic material additions in England and Wales: A case study. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 146: 23-33.
296. Predić, T., Nikić-Nauth, P., Tanasić, B., Vidojević D., (2019). Organic carbon stocks in arable land of Republic of Srpska – Bosnia and Herzegovina. *AGROFOR International Journal*, Volume 4, Issue No. 2, pp. 70-77.
297. Prevost-Boure NC, Dequiedt S, Thioulouse J, Lelièvre M, Saby NPA, Jolivet C, Arrouays D, Plassart P, Lemanceau P, Ranjard L (2014). Similar processes but different environmental filters for soil bacterial and fungal community composition turnover on a broad spatial scale. *PloS One* 9: e111667.
298. Price OR, Walker A, Wood M, Olivier MA (2001). Using geostatistics to evaluate spatial variation in pesticide/soil interactions. *BCPC Symposium Proc No. 78: Pesticide behaviour in soils and water*.
299. Pszczolinska K, Michel M (2016). The QuEChERS approach for the determination of pesticide residues in soil samples: an overview. *Journal of AOAC International* 99: 1403-1414.
300. Qi Y, Zhang XZ, Zhan CR, Li SJ (2005). HPLC determination of sulfonylurea herbicide residues in soybeans. *Chinese Journal of Pesticides* 44: 76-78.
301. Radivojević Lj, Gašić S, Šantrić Lj, Gajić Umiljendić J, Marisavljević D (2012). Short-time effects of the herbicide nicosulfuron on the biochemical activity of Chernozem soil. *Journal of Serbian Chemical Society* 77(6): 845-855.
302. Ramakrishnan B, Venkateswarlu K, Sethunathan N, Megharaj M (2019). Local applications but global implications: Can pesticides drive microorganisms to develop antimicrobial resistance? *Science of the Total Environment* 654(1): 177-189.
303. Rani S, Sud D (2014). Time and temperature dependent sorption behaviour of dimethoate pesticide in various Indian soils. *International Agrophysics* 28: 479-490.

304. Ranjard L (2017). Mapping and predictive variations of soil bacterial richness across France. *PloS One* 12: e0186766.
305. Rashid A, Nawaz S, Barker H, Ahmad I, Ashraf M (2010). Development of a simple extraction and clean-up procedure for determination of organochlorine pesticides in soil using gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217: 2933-2939.
306. Rasmussen J, Aamand J, Rosenberg P, Jacobsen OS, Sørensen SR (2005). Spatial variability in the mineralisation of the phenylurea herbicide linuron within a Danish agricultural field: multivariate correlation to simple soil parameters. *Pest Management Science* 61: 829-837.
307. Ratzke C, Gore J (2018). Modifying and reacting to the environmental pH can drive bacterial interactions. *PLoS Biol* 16(3): e2004248.
308. Regitano JB, Koskinen WC (2008). Characterization of nicosulfuron availability in aged soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56: 5801-5805.
309. Ren W, Wang M, Zhou Q (2011). Effect of soil pH and organic matter on desorption hysteresis of chlorimuron-ethyl in two typical Chinese soils. *Journal of Soils and Sediments* 11(4): 552-561.
310. Rice PJ, Koskinen WC, Carrizosa MJ (2004). Effect of soil properties on the degradation of isoxaflutole and the sorption-desorption of isoxaflutole and its diketonitrile degradate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 7621-7627.
311. Rick SK, Rowe SW (1991). Postemergence weed control in corn in the southern states. *Proceedings of the South Weed Science Society* 44: 128.
312. Rigi MR, Farahbakhsh M, Rezaei K (2015). Use of solid phase extraction with hydrophilic-lipophilic balance (HLB) cartridge as the appropriate option for metribuzin extraction from contaminated soils. *Journal of Brazilian Chemical Society* 26: 156-164.
313. Ritz K, McHugh M, Harris J (2003). Biological diversity and function in soils: contemporary perspectives and implications in relation to the formulation of effective indicators. *OECD Expert meeting on soil erosion and soil biodiversity indicators, Rome, 1-11.*
314. Riyaz M, Shah RA, Sivasankaran K (2021). Pesticide residues: impacts on fauna and the environment. *Biodegradation technology of organic and inorganic pollutants (Mendes KF, de Sousa RN, Mielke KC, Eds.). IntechOpen, 1-21.*
315. Roberts T (1998). *Metabolic pathways of agrochemicals, part one: herbicides and plant growth regulators.* The royal society of chemistry, Cambridge, UK.
316. Rodriguez-Cruz MS, Jones JE, Bending GD (2006). Field-scale study of the variability in pesticide biodegradation with soil depth and its relationship with soil characteristics. *Soil Biology and Biochemistry* 38: 2910-2918.
317. Rodriguez-Liebana JA, Lopez-Gallindo A, Jimenez de Cisneros C, Galvez A, Rozalen M, Sanchez-Espejo R, Caballero E, Pena A (2016). Adsorption/desorption of fungicides in natural clays from South eastern Spain. *Applied Clay Science* 132-133: 402-411.
318. Ross G (2005). Risks and benefits of DDT. *The Lancet* 366(9499): 1771.

319. Rouchaud J, Neus O, Moulard C (2001). Analysis of the sulfonylurea herbicide metsulfuron-methyl and its metabolites in the soil of cereal crops. Comparative analytical chemistry of the sulfonylureas. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry* 79: 65-80.
320. Rousk J, Bååth E, Brookes PC, Lauber CL, Lozupone C, Caporaso JG, Knight R, Fierer N (2010). Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME Journal* 4: 1340-1351.
321. Rousk J, Brookes PC, Bååth E (2009). Contrasting soil pH effects on fungal and bacterial growth suggest functional redundancy in carbon mineralization. *Applied and Environmental Microbiology* 75(6): 1589-1596.
322. Russell PE (2005). A century of fungicide evolution. *Journal of Agricultural Science* 143: 11-25.
323. Sadegh-Zadeh F, Wahid SA, Jalili B (2017). Sorption, degradation and leaching of pesticides in soil amended with organic matter: a review. *Advances in Environmental Technology* 2: 119-132.
324. Sadegh-Zadeh F, Wahid SA, Omar D, Othman R, Seh-Bardan BJ (2011). Sorption and desorption of napropamide in sandy soil amended with chicken dung and palm oil mill effluent. *Soil and Sediment Contamination* 20(4): 387-399.
325. Saez F, Pozo C, Gómez MA, Martínez-Toledo MV, Rodelas B, González-López J (2006). Growth and denitrifying activity of *Xanthobacter autotrophicus* CECT 7064 in the presence of selected pesticides. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71: 563-567.
326. Samson RA, Hoekstra ES, Frisvad JC (2004). Introduction to food-acid airborne fungi. Seventh edition. CBS, Utrecht, The Netherlands.
327. Sanchez Martin MJ, Sanchez Camazano M (1991). Relationship between the structure of organophosphorus pesticides and adsorption by soil components. *Soil Science* 152: 283-288.
328. Sanchez-Bayo F, Goka K (2016). Impacts of pesticides on honey bees. *Beekeeping and Bee Conservation-Advances in Research* 4: 77-97.
329. Sanglard D (2016). Emerging threats in antifungal-resistant fungal pathogens. *Frontiers in Medicine* 3: 165.
330. Santalad A, Zhou L, Shang F, Fitzpatrick D, Burakham R, Srijaranai S, Glennon JD, Luong JHT (2010). Micellar electrokinetic chromatography with amperometric detection and off-line solid-phase extraction for analysis of carbamate insecticides. *Journal of Chromatography A* 1217: 5288-5297.
331. Santos JB, Jakelaitis A, Silva AA, Costa MD, Manabe A, Silva MCS (2006). Action of two herbicides on the microbial activity of soil cultivated with common bean (*Phaseolus vulgaris*) in conventional-till and no-till systems. *Planta Daninha* 24(3): 457-465.
332. Sarkar B, Mukhopadhyay R, Mandal A, Mandal S, Vithanage M, Kumar Biswas J (2020). Sorption and desorption of agro-pesticides in soils. Chapter 8. *Agrochemicals detection, treatment and remediation*. 189-205.

333. Sarkar B, Singh M, Mandal S, Churchman GJ, Bolan NS (2018). Clay minerals-organic matter interactions in relation to carbon stabilization in soils. The future of soil carbon: its conservation and formation. (Garcia C, Nannipieri P, Hernandez T (Eds.). Chapter 3. Academic press, 71-86.
334. Sarmah AK, Sabadie J (2002). Hydrolysis of sulfonylurea herbicides in soils and aqueous solutions: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 6253-6265.
335. Schloss JV (1990). Acetolactate synthase, mechanism of action and its herbicide binding site. *Pesticide Science* 29: 283-292.
336. Schneider T, Gerrits B, Gassmann R, Schmid E, Gessner MO, Richter A, Battin T, Eberl L, Riedel K (2010). Proteome analysis of fungal and bacterial involvement in leaf litter decomposition. *Proteomics* 10: 1819-1830.
337. Schultz P, Urban NR (2008). Effects of bacterial dynamics on organic matter decomposition and nutrient release from sediments: A modeling study. *Ecological Modelling* 210: 1-14.
338. Schutz L, Gattinger A, Meier M, Muller A, Boller T, Mader P, Mathimaran N (2018). Improving crop yield and nutrient use efficiency via biofertilization-a global meta-analysis. *Frontiers in Plant Science* 8: 2204.
339. Scorzoni L, de Paula e Silva AC, Marcos CM, Assato PA, De Melo WCMA, De Oliveira HC, Costa-Orlandi CB, Mendes-Giannini MJS, Fusco-Almeida AM (2017). Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of mycosis. *Frontiers in Microbiology* 8: 271.
340. Senesi N (1992). Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of Total Environment* 12: 63-76.
341. Sessitsch A, Weilharter A, Gerzabek MH, Kirchmann H, Kandeler E (2001). Microbial population structures in soil particle size fractions of long-term fertilizer field experiment. *Applied and Environmental Microbiology* 67: 4215-4224.
342. Sheng G, Yang Y, Huang M, Yang K (2005). Influence of pH on pesticide sorption by soil containing wheat residue-derived char. *Environmental Pollution* 134: 457-463.
343. Singh BK, Walker A (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *FEMS Microbiology Reviews* 30: 428-471.
344. Singh G, Wright D (2002). In vitro studies on the effects of herbicides on the growth of rhizobia. *Letters in Applied Microbiology* 35: 12-16.
345. Singh JS, Abhilash PC, Singh HB, Singh RP, Singh DP (2011). Genetically engineered bacteria: an emerging tool for environmental remediation and future research perspectives. *Gene* 480(1-2): 1-9.
346. Singh K, Mishra AK, Singh B, Singh RP, Patra DD (2016). Tillage effects on crop yield and physicochemical properties of sodic soils. *Land Degradation and Development* 27(2): 223-230.
347. Sipila TP, Yrjälä K, Alakukku L, Palojärvi A (2012). Cross-site soil microbial communities under tillage regimes: Fungistasis and microbial biomarkers. *Applied and Environmental Microbiology* 78(23): 8191-8201.

348. Site AD (2001). Factors affecting sorption of organic compounds in natural sorbent/water systems and sorption coefficients for selected pollutants. A review. *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 30: 187-439.
349. Sluszný C, Graber ER, Gerstl Z (1999). Sorption of s-triazine herbicides in organic matter amended soils: fresh and incubated systems. *Water, Air and Soil Pollution* 115(1): 395-410.
350. Smith ARW, Beadle CA (2008). Induction of enzymes of 2,4-dichlorophenoxyacetate degradation in *Burkholderia cepacia* 2a and toxicity of metabolic intermediates. *Biodegradation* 19: 669-681.
351. Sofo A, Scopa A, Dumontet S, Mazzatura A, Pasquale V (2012). Toxic effects of four sulphonylureas herbicides on soil microbial biomass. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 47: 653-659.
352. Soltani N, Sikkema PH, Robinson DE (2005). Sweet corn (*Zea mays*) hybrids responses to thifensulfuron-methyl. *HortScience* 40: 1381-1383.
353. Soltani N, Sikkema PH, Robinson DE (2006). Vegetable crop responses to chlorimuronethyl applied in the previous year. *Crop Protection* 24, 685-688.
354. Sondhia S, Waseem U, Varma RK (2013). Fungal degradation of an acetolactate synthase (ALS) inhibitor pyrazosulfuron-ethyl in soil. *Chemosphere* 93(9): 2140-2147.
355. Spark KM, Swift RS (2002). Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *Science of Total Environment* 298: 147-188.
356. Sposito G (1984). *The surface chemistry of soils*. Oxford Press, New York.
357. Spyrou IM, Karpouzas DG, Menkissoglu-Spirodi U (2009). Do botanical pesticides alter the structure of the soil microbial community? *Microbial Ecology* 58: 715-727.
358. Stevenson FJ (1994). *Organic matter reactions involving pesticides in soil. Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd edition. John Wiley and Sons, Inc., New York, 453-471.
359. Stojanović I (2015). Razgradnja herbicida nikosulfurona u zemljištu pod kukuruzom. Master rad. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad.
360. Stolpe NB, Kuzila MS (2002). Relative mobility of atrazine, 2, 4-D and dicamba in volcanic soils of South-central Chile 1. *Soil Science* 167(5): 338-345.
361. Stolpe NB, McCallister DL, Shea PJ, Lewis DT, Dam R (1993). Mobility of aniline, benzoic acid, and toluene in four soils and correlation with soil properties. *Environmental Pollution* 81(3): 287-295.
362. Strandberg M, Scott-Fordsmand JJ (2004). Effects of pendimethalin at lower trophic levels - a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 190-201.
363. Struger J, Grabuski J, Cagampan S, Rondeau M, Sverko E, Marvin C (2011). Occurrence and distribution of sulphonylurea and related herbicides in central Canadian surface waters 2006–2008. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87: 420-425.
364. Sui K, Li J, Wei F, Chu XG, Zhao SC, Wang Y (2006). Simultaneous determination of twelve sulfonyl urea herbicide residues in rice by high performance liquid chromatography with solid phase extraction. *Chinese Journal of Chromatography* 24: 152-156.

365. Sund KA (1956). Residual activity of 3-amino-1,2,4-triazole in soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 4: 57-60.
366. Sundaram B (1994). Sorption and movement of ionic and non-ionic pesticides in selected soils of New Zealand. PhD thesis. Massey University.
367. Šantrić Lj, Radivojević Lj, Gajić Umiljendić J, Đurović-Pejčev R, Sarić-Krsmanović M (2014). Assessment of microbial activity and biomass in different soils exposed to nicosulfuron. *Pesticides and Phytomedicine* 29(3): 213-219.
368. Šantrić Lj, Radivojević Lj, Gajić-Umiljendić J, Sarić-Krsmanović M, Đurović-Pejčev R (2018). The effects of nicosulfuron and glyphosate on microbial activity of different soils. *Planta Daninha* 36: e018159989.
369. Tadeo-Jalife NR, Vasquez-Medrano R, Quevedo IR (2021). Assessing the adsorption of bipyridinium herbicides on model soil granular media. *Frontiers in Water* 2:612742.
370. Talaie AR, Jafaarzadeh N, Talaie M, Beheshti M (2010). Biodegradation of aromatic compounds in crude oil by isolated microorganisms from environment. *The Scientific Journal of Zanjan University of Medical Sciences and Health Services* 18(70): 68-80.
371. Tang Q, Zhao Z, Liu Y, Wang N, Wang B, Wang Y, Zhou N, Liu S (2012). Augmentation of tribenuron methyl removal from polluted soil with *Bacillus* sp. strain BS2 and indigenous earthworms. *Journal of Environmental Sciences* 24(8): 1492-1497.
372. Tasić A, Nešić K, Pavlović I (2021). New materials and technologies in the control of environmental protection and human health. *Ecologica* 28(102): 257-263.
373. Terrat S, Horrigue W, Dequietd S, Saby NPA, Lelièvre M, Nowak V, Tripied J, Régnier T, Jolivet C, Arrouays D, Wincker P, Cruaud C, Karimi B, Bispo A, Maron PA, Prévost-Bouré NC,
374. Thompson LR, Sanders JG, McDonald D, Amir A, Ladau J, Locey KJ, Prill RJ, Tripathi A, Gibbons SM, Ackermann G, Navas-Molina JA, Janssen S, Kopylova E, Vasquez-Baeza Y, Gonzales A, Morton JT, Mirarab S, Xu ZZ, Jiang L, Haroon MF, Kanbar J, Zhu Q, Song SJ, Kosciółek T, Bokulich NA, Lefler J, Brislawn CJ, Humphrey G, Owens SM, Hampton-Marcell J, Berg-Lyons D, McKenzie V, Fierer N, Fuhrman JA, Clauzet A, Stevens RL, Shade A, Pollard KS, Goodwin KD, Gilbert JA, Knight R (2017). A communal catalogue reveals Earth's multiscale microbial diversity. *Nature* 551: 457.
375. Tian Q, Taniguchi T, Shi WY, Li G, Yamakaka N, Du S (2017). Land-use types and soil chemical properties influence soil microbial communities in the semiarid Loess Plateau region in China. *Scientific Reports* 7: 45289.
376. Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S (2002). Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671-677.
377. Tintor B, Milošević N, Vasin J (2009). Microbiological properties of chernozem of southern Backa (Serbia) according to different methods of land use. *Field and Vegetable Crop Research* 46: 189-198.
378. Torsvik V, Torsvik VL, Sørheim R, Goksoyr J (1996). Total bacterial diversity in soil and sediment communities: A review. *Journal of Industrial Microbiology* 17: 170-178.
379. Treseder KK, Kivlin SN, Hawkes CV (2011). Evolutionary trade-offs among decomposers determine responses to nitrogen enrichment. *Ecology Letters* 14: 933-938.

380. Trigo C, Spokas KA, Cox L, Koskinen WC (2014). Influence of soil biochar aging on sorption of the herbicides MCPA, nicosulfuron, terbuthylazine, indaziflam, and fluoroethyldiaminotriazine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62: 10855-10860.
381. Tugel AJ, Lewandowski AM (2001). Soil biology primer. www.statlab.iastate.edu/survey/S_QI/soil_biology_primer.htm (posljednji pristup 4.06.2018).
382. Turin HJ, Bowman RS (1997). Sorption behavior and competition of bromacil, napropamide, and prometryn. *Journal of Environmental Quality* 26(5): 1282-1287.
383. Ukrainczyk L, Rashid N (1995). Irreversible sorption of nicosulfuron on clay minerals. *Journal of Agricultural and Food chemistry* 43: 855-857.
384. Van der Heijden MG, Bardgett RD, Van Straalen NM (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11: 296-310.
385. Van Der Heijden MGA, Bardgett RD, Van Straalen NM (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11: 296-310.
386. Vasin J, Milić S, Zeremski T, Ninkov J, Marinković J, Sekulić P (2013). Potencijali Republike Srbije u pogledu kvaliteta zemljišta za organsku poljoprivrednu proizvodnju. Novi Sad: Institut za ratarstvo i povrtarstvo.
387. Vicari A, Zimdahl RL, Cranmer BK, Dinelli G (1996). Primisulfuron and rimsulfuron degradation in aqueous solution and adsorption in six Colorado soils. *Weed Science* 44(3): 672-677.
388. Vighi M, Matthies M, Solomon KR (2017). Critical assessment of pendimethalin in terms of persistence, bioaccumulation, toxicity, and potential for long-range transport. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part B* 20(1): 1-21.
389. Villaverde J, Kah M, Brown CD (2008). Adsorption and degradation of four acidic herbicides in soils from southern Spain. *Pest Management Science* 64: 703-710.
390. Vineela C, Wani SP, Srinivasarao Ch, Padmaja B, Vittal KPR (2008). Microbial properties of soils as affected by cropping and nutrient management practices in several long-term manurial experiments in the semi-arid tropics of India. *Applied Soil Ecology* 40: 165-173.
391. Vinther FP, Brinch UC, Elsgaard L, Fredslund L, Iversen BV, Torp S, Jacobsen CS (2008). Field-scale variation in microbial activity and soil properties in relation to mineralization and sorption of pesticides in a sandy soil. *Journal of Environmental Quality* 37: 1710-1718.
392. Vinther FP, Elsgaard L, Jacobson OS (2001). Heterogeneity of bacterial populations and pesticide degradation potential in the unsaturated zone of loamy and sandy soils. *Biology and Fertility of Soils* 33: 514-520.
393. Virag D, Naár Z, Kiss A (2007). Microbial toxicity of pesticide derivatives produced with UV-photodegradation. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 79: 356-359.

394. Von Oepen B, Kördel W, Klein W (1991). Sorption of nonpolar and polar compounds to soils: processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. *Chemosphere* 22(3-4): 285-304.
395. Vos M, Wolf AB, Jennings SJ, Kowalchuk GA (2013). Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS Microbiology Review* 37: 936-954.
396. Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E, Soulios G, Prodromou K (2007). Kinetics and adsorption of metolachlor and atrazine and the conversion products (deethylatrazine, deisopropylatrazine, hydroxyatrazine) in the soil profile of a river basin. *European Journal of Soil Science* 58(5): 1186-1199.
397. Wagg C, Bender SF, Widmer F, Van der Heijden MGA (2014). Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *PNAS* 111(14): 5266-5270.
398. Wakelin SA, Chu G, Lardner R, Liang Y, McLaughlin M (2010). A single application of Cu to field soil has long-term effects on bacterial community structure, diversity, and soil processes. *Pedobiologia* 53: 149-158.
399. Waligora H, Szpurka W (2009). Selectivity of mixture mezzotrione + nicosulfuron to some sugar maize varieties. *Nauka Przyroda Technologie* 3(2): 67.
400. Walker A, Brown PA (1983). Spatial variability in herbicide degradation rates and residues in soil. *Crop Protection* 2: 17-25.
401. Walker A, Cotterill EG, Welch SJ (1989). Adsorption and degradation of chlorsulfuron and metsulfuron-methyl in soils from different depths. *Weed Research* 29: 281-287.
402. Walker A, Jurado-Exposito M., Bending GD, Smith VJR (2001). Spatial variability in the degradation rate of isoproturon in soil. *Environmental Pollution* 111: 407-415.
403. Wang MC, Gong M, Zang HB, Hua XM, Yao J, Pang YJ, Yang YH (2006). Effect of methamidophos and urea application on microbial communities in soils as determined by microbial biomass and community level physiological profiles. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 41: 399-413.
404. Wang J, Lu Y, Shen G (2007). Combined effects of cadmium and butachlor on soil enzyme activities and microbial community structure. *Environmental Geology* 51: 1221-1228.
405. Wang W, Wang H, Feng Y, Wang L, Xiao X, Xi Y, Luo X, Sun R, Ye X, Huang Y, Zhang Z, Cui Z (2016a): Consistent responses of the microbial community structure to organic farming along the middle and lower reaches of the Yangtze River. *Scientific Reports* 6: 35046
406. Wang L, Zhang X, Li Y (2016b). Degradation of nicosulfuron by a novel isolated bacterial strain *Klebsiella* sp. Y1: condition optimization, kinetics and degradation pathway. *Water Science and Technology* 73: 2896-2903.
407. Wardle DA, Nicholson KS, Rahman A (1994). Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 37: 29-39.
408. Warren GF (1998). Spectacular increases in crop yields in the United States in the twentieth century. *Weed Technology* 12: 752.

409. Warren GF (1956). The relative adsorption of several herbicides by widely differing soils. (Abstract). Proceedings NCWCC 13: 5.
410. Wasi S, Tabrez S, Ahmad M (2013). Use of *Pseudomonas* spp. for the bioremediation of environmental pollutants: a review. Environmental Monitoring and Assessment 185(10): 8147-8155.
411. Wauchope RD, Yeh S, Linders JBHJ, Kloskowski, R, Tanaka, K, Rubin B, Katayama A, Kordel W, Gerstl Z, Lane M, Unsworth JB (2002). Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitation and reliability. Pest Management Science 58(5): 419-445.
412. Webb JS, Nixon M, Eastwood IM, Greenhalgh M, Robson GD, Handley PS (2000). Fungal colonization and biodeterioration of plasticized polyvinyl chloride. Applied and Environmental Microbiology 66: 3194-3200.
413. Weber JB, Miller CT (1989). Organic chemical movement over and through soil. Reactions and movement of organic chemicals in soils. Soil Science Society of America, Madison, 305-334.
414. Weber JB, Shea PH, Weed SB (1986). Fluridone retention and release in soils. Soil Science Society of America Journal 50(3): 582-588.
415. Weber JB, Wilkerson GG, Reinhardt CF (2004). Calculating pesticide sorption coefficients ($K_{sub}(d)$) using selected soil properties. Chemosphere 55: 157-166.
416. Weber JB, Taylor KA, Wilkerson GG (2006). Soil cover and tillage influenced metolachlor mobility and dissipation in field lysimeters. Agronomy journal 98(1): 19-25.
417. Webster JPG, Bowles RG, Williams NT (1999). Estimating the economic benefits of alternative pesticide usage scenarios: wheat production in the United Kingdom. Crop Production 18: 83.
418. Weed Science Society of America (1994). Herbicide handbook. 7th edition. Weed Science Society of America, Champaign, IL.
419. Werner D, Garratt JA, Pigott G (2013). Sorption of 2,4-D and other phenoxy herbicides to soil, organic matter, and minerals. Journal of Soils and Sediments 13: 129-139.
420. Widenfalk A, Svensson JM, Goedkoop W (2004). Effects of pesticides captan, deltamethrin, isoproturon and pirimicarb on the microbial community of a freshwater sediment. Environmental Toxicology and Chemistry 23: 1920-1927.
421. Wilson C (2000). Environmental and human costs of commercial agricultural production in South Asia. International Journal of Social Economics 27: 816-846.
422. Wilson C (2009). Aquatic toxicology notes: predicting the fate and effects of aquatic and ditchbank herbicides. Florida cooperative extension service, Institute of food and agricultural sciences, University of Florida, SL236.
423. Wolinska A, Górniak D, Zielenkiewicz U, Goryluk-Salmonowicz A, Kuźniar A, Stępniewska Z, Błaszczyk M (2017). Microbial biodiversity in arable soils is affected by agricultural practices. International Agrophysics 31: 259-271.
424. Wolinska A, Szafranek-Nakonieczna A, Banach A, Błaszczyk M, Stępniewska Z (2016a). The impact of agricultural soil usage on activity and abundance of ammonifying bacteria in selected soils from Poland. SpringerPlus 5: 565-578.

425. Wolinska A, Szafranek-Nakonieczna A, Zielenkiewicz U, Tomczyk-Żak K, Banach A, Błaszczak M, Stępniewska Z (2016b). Quantified characterization of soil biological activity under crop cultivation. *Journal of Advances in Biology* 8(3): 1655-1665.
426. Worrall F, Parker A, Rae JE, Johnson AC (1996). Equilibrium adsorption of isoproturon on soil and pure clays. *European Journal of Soil Science* 47: 265-272.
427. Wu Q, Wang C, Liu Z, Wu C, Zeng X, Wen J, Wang Z (2009). Dispersive solid-phase extraction followed by dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of some sulfonylurea herbicides in soil by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1216: 5504-5510.
428. Wu Q, Chen X, Xu Y, Han L (2010). Dissipation and residues of nicosulfuron in corn and soil under field conditions. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 85: 79-82.
429. Wu CX, Wang JJ, Zhang SZ, Zhang ZM (2011). Adsorption and desorption of methiopyrsulfuron in soils. *Pedosphere* 21(3): 380-388.
430. Wu X, Xu J, Dong F, Liu X, Zheng Y (2014). Responses of soil microbial community to different concentration of fomesafen. *Journal of Hazardous Materials* 273: 155-164.
431. Wu D, Yun Y, Jiang L, Wu C (2018). Influence of dissolved organic matter on sorption and desorption of MCPA in ferrasol. *Science of Total Environment* 616-617: 1449-1456.
432. Wyman JA, Jensen JO, Curwen D, Jones RI, Marquardt TE (1985). Effects of application procedures and irrigation on degradation and movement of aldicarb residues. *Soil Environmental Toxicology and Chemistry* 4: 641-651.
433. Xu J, Li XS, Xu YJ, Qiu LH, Pan CP (2009). Biodegradation of pyrazosulfuron-ethyl by three strains of bacteria isolated from contaminated soils. *Chemosphere* 74: 682-687.
434. Yaish MW, Al-Lawati A, Jana GA, Vishwas Patankar H, Glick BR (2016). Impact of soil salinity on the structure of the bacterial endophytic community identified from the roots of caliph medic (*Medicago truncatula*). *PloS One* 11: e0159007.
435. Yang Y, Tao B, Zhang W, Zhang J (2008). Isolation and screening of microorganisms capable of degrading nicosulfuron in water. *Frontiers of Agriculture in China* 2: 224-228.
436. Ye GB, Zhang W, Cui X, Pan CP, Jiang SR (2006). HPLC-UV and HPLC-MS multiresidue determination of ten sulfonylurea herbicides in soil. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 34: 1207-1212.
437. Ye R, Jin Q, Bohannan B, Keller JK, McAllister SA, Bridgham SD (2012). pH controls over anaerobic carbon mineralization, the efficiency of methane production, and methanogenic pathways in peatlands across an ombrotrophic–minerotrophic gradient. *Soil Biology and Biochemistry* 54: 36-47.
438. Yuen QH, Hilton HW (1962). The adsorption of monuron and diuron by Hawaiian sugarcane soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 10: 386-392.
439. Zawoznik MS, Tomaro ML (2005). Effect of chlorimuron-ethyl on *Bradyrhizobium japonicum* and its symbiosis with soybean. *Pest Management Science* 61: 1003-1008.

440. Zemelka G (2015). Fate of three herbicides (tembotrione, nicosulfuron and S-metolachlor) on soil from Limagne Region (France). *Technical Transactions Civil Engineering* 4-B: 137-144.
441. Zhalnina K, Dias R, de Quadros PD, Davis-Richardson A, Camargo FAO, Clark IM, McGrath SP, Hirsch PR, Triplett EW (2015). Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment. *Microbial Ecology* 69: 395-406.
442. Zhang C, Chen L, Si H, Gao W, Liu P, Zhang J (2020). Study on the characteristics and mechanisms of nicosulfuron biodegradation by *Bacillus velezensis* CF 57. *Journal of Basic Microbiology* 60: 649-658.
443. Zhang H, Mu W, Hou Z, Wu X, Zhao W, Zhang X, Pan H, Zhang S (2012). Biodegradation of nicosulfuron by the bacterium *Serratia marcescens* N80. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 47: 153-160.
444. Zhang Y, Lubberstedt T, Xu ML (2013). The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. *Journal of Genetics and Genomics* 40: 23-35.
445. Zhao H, Zhu J, Liu S, Zhou X (2018). Kinetics study of nicosulfuron degradation by a *Pseudomonas nitroreducens* strain NSA02. *Biodegradation* 29: 271-283.
446. Zhao W, Xu L, Li D, Li X, Wang C, Zheng M, Pan C, Qiu L (2015). Biodegradation of thifensulfuron-methyl by *Ochrobactrum* sp. in liquid medium and soil. *Biotechnology Letters* 37: 1385-1392.
447. Zheng SQ, Cooper JF (1996). Adsorption, desorption, and degradation of three pesticides in different soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 30: 15-20.
448. Zhou Q, Liu J, Cai Y, Liu G, Jiang G (2003). Micro-porous membrane liquid-liquid extraction as an enrichment step prior to nonaqueous capillary electrophoresis determination of sulfonylurea herbicides. *Microchemical Journal* 74: 157-163.
449. Zhou Y, Liu W, Ye H (2006). Effects of pesticides metolachlor and S-metolachlor on soil microorganisms in aqisols. II. Soil respiration. *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao* 17: 1305-1309.
450. Zindahl RL, Clark SK (1982). Degradation of three acetanilide herbicides in soils. *Weed Science* 30(1): 545-548.
451. Zobiole LHS, Kremer RJ, Oliveira RS, Constantin J (2011). Glyphosate affects microorganisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans. *Journal of Applied Microbiology* 110: 118-127.

Prilog 1.

Spisak tabela

Tab. 1. Vrijeme poluraspada nekih pesticida.....	6
Tab. 2. FAO klasifikacija mobilnosti pesticida u zemljištu bazirana na vrijednosti K_{OC}	13
Tab. 3. McCall's-ova klasifikacija mobilnosti organskih supstanci u zemljištu bazirana na vrijednosti K_{oc}	13
Tab. 4. Ocjena pokretljivosti pesticida i njihova ekvivalentna GUS vrijednost (Kerle et al., 2007).....	14
Tab. 5. Klasifikacija pesticida prema vremenu poluraspada (polurazgradnje) u zemljištu.....	14
Tab. 6. Klasifikacija pesticida prema rastvorljivosti u vodi ($mg \cdot L^{-1}$).....	15
Tab. 7. Najvažniji mikrobiološki pokazatelji zdravstvenog stanja zemljišta.....	31
Tab. 8. Efekat pesticida na aktivnost mikroorganizama (Hussain et al., 2009, modifikovano).....	36
Tab. 9. Karakteristike nikosulfurona (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm , preuzeto 13. 12. 2021.).....	43
Tab. 10. Pregled početnih koncentracija nikosulfurona rastvorenog u acetonitrilu (ACN).....	44
Tab. 11. Pregled početnih masenih udjela nikosulfurona i koncentracija radnih rastvora za istraživanje degradacije nikosulfurona u zemljištu.....	46
Tab. 12. Tačnost određivanja nikosulfurona u zemljištu.....	50
Tab. 13. Sastav podloge $10 \times$ razblaženi tripton soja agar.....	53
Tab. 14. Sastav podloge roze bengal streptomycin agar.....	53
Tab. 15. Sastav podloge skrobno- amonijačni agar.....	53
Tab. 16. Sastav podloge mesopeptonski agar.....	53
Tab. 17. Sastav podloge Fjodorov agar.....	54
Tab. 18. Tečna mineralna podloga (Talaie et al., 2010).....	54
Tab. 19. Sastav podloge Czapek-ov agar.....	55
Tab. 20. Sastav agarizovane Lauria-Bertani (LB) podloge.....	55
Tab. 21. Mehanički sastav i tekstura zemljišta.....	58
Tab. 22. Hemijske osobine zemljišta.....	58
Tab. 23. Masa adsorbovanog nikosulfurona- x (μg) na masu zemljišta- m (g).....	59
Tab. 24. Analiza varijanse za uticaj tipa zemljišta i početne koncentracije nikosulfurona na masu adsorbovanog nikosulfurona na zemljište.....	60
Tab. 25. Koncentracija nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži- C_{aq} ($\mu g/mL$).....	60
Tab. 26. Analiza varijanse za uticaj tipa zemljišta i početne koncentracije nikosulfurona na koncentraciju nikosulfurona u rastvoru u ravnoteži.....	61
Tab. 27. Pokazatelji konstanti Freundlich-ove adsorpcione izoterme za adsorpciju nikosulfurona u istraživanim zemljištima.....	62
Tab. 28. Koeficijenti distribucije nikosulfurona (K_d) u ispitivanim zemljištima.....	64
Tab. 29. Pregled koncentracija nikosulfurona u sitemu „zemljište-rastvarač“ u apsolutnim i relativnim brojevima.....	64
Tab. 30. Masa adsorbovanog (μg) i procenat adsorbovanog nikosulfurona u zavisnosti od koncentracije i tipa zemljišta.....	65
Tab. 31. Korelacioni matriks između pokazatelja adsorpcije i hemijskih karakteristika zemljišta.....	66
Tab. 32. Korelacioni matriks između pokazatelja adsorpcije i mehaničkog sastava zemljišta.....	70
Tab. 33. Višestruka regresija zavisnosti koeficijenta distribucije nikosulfurona od sadržaja pijeska i gline u zemljištu, sa pripadajućom analizom varijanse i parcijalnim koeficijentima.....	76

Tab. 34. Korelacioni matriks između pokazatelja adsorpcije međusobno	76
Tab. 35. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije	79
Tab. 36. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od faktora variranja	79
Tab. 37. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača.....	81
Tab. 38. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije	82
Tab. 39. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo od faktora variranja	83
Tab. 40. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo.....	84
Tab. 41. Maseni udio nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Tunjice, zavisno od početnog masenog udjela i vremena degradacije	85
Tab. 42. Analiza varijanse masenog udjela nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Tunjice od faktora variranja	86
Tab. 43. Poluvijek razgradnje i vrijednosti parametara degradacije nikosulfurona u zemljištu- lokalitet Tunjice	87
Tab. 44. Zastupljenost bakterijskih populacija u uzorcima zemljišta 40 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	88
Tab. 45. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta 40 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	89
Tab. 46. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta 30 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	90
Tab. 47. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta 30 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	91
Tab. 48. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta 10 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	91
Tab. 49. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta (10 dana nakon tretmana nikosulfuronom).....	92
Tab. 50. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama u zemljištu koje je bilo izloženo nikosulfuronu	92
Tab. 51. Zastupljenost bakterija u uzorcima zemljišta (kontrolni uzorci)	93
Tab. 52. Zastupljenost gljiva i aktinomiceta u uzorcima zemljišta (kontrolni uzorci).....	93
Tab. 53. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama na kontroli	93
Tab. 54. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama na kontroli i hemijskih karakteristika zemljišta	97
Tabela 55. Korelacioni odnosi između vrijednosti broja mikroorganizama u zemljištima sa nikosulfuronom i adsorpcionih pokazatelja nikosulfurona u tim zemljištima	98
Tab. 56. Makromorfološke karakteristike bakterijskih izolata	99
Tab. 57. Mikromorfološke karakteristike bakterijskih izolata	99
Tab. 58. Izolati gljiva tolerantni na prisustvo nikosulfurona	99
Tab. 59. Rezistentnost izolata bakterija na različite koncentracije nikosulfurona	100
Tab. 60. Rezistentnost izolata gljiva na različite koncentracije nikosulfurona	101
Tab. 61. Rast bakterijskih izolata TU 3/5 i TU 4 (OD ₅₅₀) u prisustvu nikosulfurona	103
Tab. 62. Rast <i>Penicillium glabrum</i> MA*4-3 (OD ₅₅₀) u prisustvu nikosulfurona.....	104

Spisak grafikona

Graf. 1 . Freundlich-ova adsorpciona izoterma zavisnosti adsorpcije nikosulfurona na zemljište u zavisnosti od koncentracije nikosulfurona u rastvoru	61
Graf. 2. Linearizovana Freundlich-ova adsorpciona izoterma zavisnosti adsorpcije nikosulfurona na zemljište u zavisnosti od koncentracije nikosulfurona u rastvoru, predstavljena u logaritamskom obliku	62
Graf. 3. Interval variranja vrijednosti K_d [mL/g] zavisno od tipa zemljišta	63
Graf. 4. Procenat adsorbovanog nikosulfurona zavisno od početne koncentracije i tipa zemljišta	66
Graf. 5. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene- CEC, na vijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante K_f za nikosulfuron	67
Graf. 6. Uticaj vrijednosti pH zemljišta (pH u KCl), na vijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$ za nikosulfuron	68
Graf. 7. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene- CEC, na vrijednost Freundlich-ove adsorpcione konstante $1/n$ za nikosulfuron	69
Graf. 8. Uticaj vrijednosti kapaciteta katjonske razmjene - CEC, na vrijednost K_d za nikosulfuron ...	69
Graf. 9. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vrijednost K_f za nikosulfuron	71
Graf. 10. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vijednost $\log K_f$ za nikosulfuron	72
Grafikon 11. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vijednost konstante $1/n$ za nikosulfuron	72
Graf. 12. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na vrijednost koeficijenta distribucije (K_d) nikosulfurona	73
Graf. 13. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na procenat adsorbovanog nikosulfurona (ADS %)	74
Grafikon 14. Uticaj vrijednosti sadržaja praha u zemljištu (%) na $\log K_f$	74
Grafikon 15. Uticaj vrijednosti sadržaja pijeska u zemljištu (%) na koeficijent distribucije nikosulfurona	75
Graf. 16. Višestruka regresija zavisnosti koeficijenta distribucije nikosulfurona od sadžaja pijeska i gline u zemljištu	76
Graf. 17. Zavisnost koeficijenta distribucije nikosulfurona od konstante Frojndlihove adsorpcione izoterme (K_f)	77
Graf. 18. Zavisnost procenta adsorbovanog nikosulfurona od koeficijenta distribucije (K_d)	78
Graf. 19 . Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od početnog masenog udjela	80
Graf. 20 . Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Manjača od broja dana od tretiranja	80
Graf. 21. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg	81
Graf. 22. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg	81
Graf. 23 . Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Manjača pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg	82
Graf. 24. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo od početnog masenog udjela	83
Graf. 25. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu na lokalitetu Kosjerovo od broja dana od tretiranja	83
Graf. 26. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg	84

Graf. 27. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg	84
Graf. 28. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Kosjerovo pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg	85
Graf. 29. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice od početnog masenog udjela	86
Graf. 30. Zavisnost ostataka nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice od broja dana od tretiranja	86
Graf. 31. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,30 mg/kg	87
Graf. 32. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,15 mg/kg	87
Graf. 33. Dinamika degradacije nikosulfurona u zemljištu sa lokaliteta Tunjice pri početnom masenom udjelu od 0,075 mg/kg	88
Graf.34. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji KOSJEREVO (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tremana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 µg/kg respektivno)	94
Graf. 35. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji MANJAČA (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tremana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 µg/kg respektivno).....	95
Graf. 36. Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji TUNJICE (D10, D30, D40= brojnost nakon 10, 30 i 40 dana od tremana herbicidom respektivno; M70, M150 i M300= početni maseni udio nikosulfurona od 70, 150 i 300 µg/kg respektivno).....	96
Grafikon 34 Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji Kosjerovo (a – ukupan broj bakterija; b- amonifikatori; c – oligonitrofilii; d – <i>Azotobacter</i> sp.; e – gljive; f – aktinomicete)	99-101
Grafikon 35 Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji Manjača (a – ukupan broj bakterija; b- amonifikatori; c – oligonitrofilii; d – <i>Azotobacter</i> sp.; e – gljive; f – aktinomicete)	102-104
Grafikon 36 Promjena brojnosti mikroorganizama u odnosu na kontrolu na lokaciji Tunjice (a – ukupan broj bakterija; b- amonifikatori; c – oligonitrofilii; d – <i>Azotobacter</i> sp.; e – gljive; f – aktinomicete)	105-107

Spisak slika

Slika 1. Sudbina pesticida u zemljištu (Ahemad i Khan, 2013).....	5
Slika 2. Tipovi izoterma (Giles, 1974, Limousin i sar., 2007)	10
Slika 3. Faktori koji utiču na ponašanje pesticida i njihovu toksičnost u životnoj sredini	15
Slika 4. Hemijska struktura herbicida nikosulfurona (Stojanović, 2015)	23
Slika 5. Funkcije mikroorganizama u zemljištu.....	28
Slika 6. Priprema uzorka za utvrđivanje adsorpcije nikosulfurona u zemljištu	45
Slika 7. Priprema uzoraka za izdvajanje nikosulfurona iz zemljišta radi utvrđivanja degradacije	47
Slika 8. Hromatogrami analitičkog standarda nikosulfurona pod uslovima u Tabeli 12	49
Slika 9. Određivanje linearnosti odziva detektora	50
Slika 10. Mikrobološka analiza uzorka zemljišta	52

Spisak šema

Shema 1. Međusobne interakcije i karakteristike zemljišta u sorpciji i retenciji agrohemijskih u zemljištu (Sarkar et al., 2020- modifikovano)	18
--	----

Prilog 2.

BIOGRAFIJA AUTORA

Amer Sunulahpašić je rođen 16.12.1966 godine u Busovači, gdje je završio osnovnu školu i srednju poljoprivrednu školu. Nakon srednjoškolskog obrazovanja upisuje Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Sarajevu- Ratarski smjer. Fakultet završava 1994. godine. U toku školovanja postigao je prosječnu ocjenu 8,5. Od oktobra 1994. godine radi u srednjoj školi u Kaćunima, općina Busovača, a u isto vrijeme i kao agronom savjetodavac u biljnoj proizvodnji u KP Zavodu u Zenici. Od 1997. godine u vlastitoj firmi radi na proizvodnji sjemenskog krompira, merkantilnog krompira, te cvekle. Od 2000. godine zapošljava se kao stručni saradnik za ratarstvo u Ministarstvu poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva u Travniku. Nakon toga dobija zvanje višeg stručnog saradnika za ratarstvo u Ministarstvu poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva u Travniku. Član je Društva za zaštitu bilja Republike Srbije. Radio je na različitim poslovima u Ministarstvu, na upravnom postupku ishoda rješenja o poljoprivrednoj saglasnosti, a kasnije i na savjetodavnim poslovima u poljoprivredi, te kantonalnim i Federalnim podrškama.

Učestvovao je u radu Komisije za donošenje strategije razvoja poljoprivrede i ruralnog razvoja u SBK/KSB (2001-2010 god.), kao i radu Komisije za izradu srednjoročne strategije pružanja savjetodavnih usluga u Federaciji BiH, u periodu od 2016. - 2020. godine. Član je radne grupa iz sektora poljoprivrede i ruralni razvoj, ispred Srednjobosanskog kantona za pripremu odgovora na pitanja EU. Dobio je 2013. god. certifikat od strane USAID, o Treningu trenera o izradi projekata za unaprijeđenje ruralnog razvoja, podobnih za finansiranje sredstvima EU-IPARD. U više navrata je bio i konsultant različitim firmama iz BiH i inostranstva iz oblasti poljoprivrede i prehrambene industrije.

Postdiplomski studij završava u 13. jula 2015. godine, na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Sarajevu, odbranivši magistarsku tezu, pod naslovom: "Mikrobiološka aktivnost zemljišta pod malinom (*Rubus idaeus* L.) pri primjeni različitih organskih i mineralnih đubriva". Magistarsku tezu je odbranio sa ocjenom 10(deset), a u toku postdiplomskog školovanja prosječna ocjena je 9 (devet).

Objavio je sljedeće značajne radove koji su u vezi sa njegovom doktorskom disertacijom:

- **Sunulahpašić, A.**, Mitrić, S., Šunjka D., Žabić, M., Predić, T., Šipka, M., Rodić, L. (2020): Adsorption of nicosulfuron herbicide in the agricultural soils of Bosnia and Herzegovina. *Plant, Soil and Environment*, 66, (4): 162–166 (<https://doi.org/10.17221/80/2020-PSE>) (Časopis *Plant, Soil and Environment* se citira u Web of Science i u 2020 ima Impact factor 1,799, a potrebni podaci se mogu vidjeti na <https://www.agriculturejournals.cz/web/pse/>)
- **Sunulahpašić, A.**, Hamidović, S., Mitrić, S., Gavrić, T., Haseljić, S., Lalević, B. (2019). Assessment of microbial diversity of soil exposed to nicosulfuron. *Zastita Materijala* 60 (2), 152-156 (<http://idk.org.rs/wp-content/uploads/2019/05/3AMER.pdf>)
- **Sunulahpašić, A.**, Hamidović, S., Gkorezis, P., Murtić, S., Komlen, V., Lalević, B. (2018): Isolation and growth of nicosulfuron tolerant bacteria. 7th European Bioremediation Conference (EBC-7) and 11th International Society for Environmental Biotechnology Conference (ISEB 2018), Chania, Crete, Greece
- Hamidović S., Žutić A., Đikić M., Jurković J., Raičević V., Pešić M., **Sunulahpašić A.** (2017). Influence of herbicide Wing P on microbial population density in soil under corn. *Radovi Poljoprivrednog Fakulteta Univerziteta u Sarajevu (Works of the Faculty of Agriculture University of Sarajevo)*, Vol. 62, No. 67 (2), pp.174-181, ref. 28.
- Hamidović, S., Lalević, B., Komlen, V., Pešić, M., Raičević, V., Waisi, H., **Sunulahpašić, A.** (2017): Impact of herbicide Adengo on microbial diversity of soil under corn. VIII International Scientific Agriculture Symposium, "Agrosym 2017", Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 2017. *Book of Proceedings*, pp. 92-98, ref. 34.
- **Sunulahpašić, A.**, Čekić, S., Golijan, J., Hamidović, S. (2017): The Ecological Role of Interactions Between Plants in Agroecosystems. *Agro-knowledge Journal*, vol. 18, No. 4, pp. 293-305 (<file:///C:/Users/Korisnik/Downloads/AgroznanjeStruniradAmerTheecologicalRoleInteractionBetweenPlantsinAgroecosystems.pdf>)

IZJAVA O AUTORSTVU

**Izjavljujem
da je doktorska disertacija**

SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU

SORPTION AND DEGRADATION OF NICOSULFURON IN SOIL

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,**
- da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova**
- da su rezultati korektno navedeni i**
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.**

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.

mr Amer Sunulahpašić

**Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci
da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom**

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

"SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU"

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnim.

Doktorsku disertaciju sa svim priložima predao sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (*Creative Commons*) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo- nekomercijalno
3. Autorstvo- nekomercijalno- bez prerade
- 4. Autorstvo- nekomercijalno- dijeliti pod istim uslovima**
5. Autorstvo- bez prerade
6. Autorstvo- dijeliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poleđini lista).

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.

mr Amer Sunulahpašić

**Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije
doktorske disertacije**

Ime i prezime autora: Amer Sunulahpašić

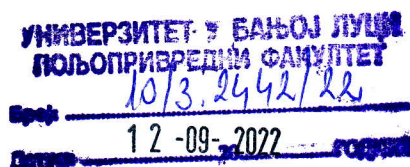
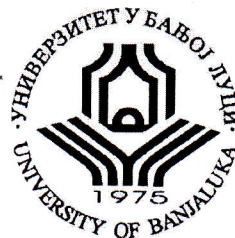
Naslov rada: SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU

Mentor: Prof. dr Slavica Vuković, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu
na užoj naučnoj oblasti FITOFARMACIJA

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predao za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.

mr Amer Sunulahpašić



ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени урађене докторске дисертације

І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

1. Одлуком Научно- наставног вијећа Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, број 10/3.1267-10-1/22 од 12. маја 2022. год., именована је Комисија за преглед, оцјену и одбрану докторске дисертације мр Амер Сунулахпашића под насловом: "Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" у сљедећем саставу:
 - Др Сениша Митрић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области Заштита здравља биљака и агроекологија, председник,
 - Др Славица Вуковић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на ужој научној области: Фитофармација, ментор- члан,
 - Др Мирјана Жабић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Биохемија и молекуларна биологија, члан,
 - Др Драгана Шуњка, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на ужој научној области: Фитофармација, члан и
 - Др Сауд Хамидовић, ванредни професор Пољопривредно- прехранбеног факултета Универзитета у Сарајеву, на ужој научној области: Микробиологија у пољопривреди и прехранбеној технологији, члан.
- 1) Навести датум и орган који је именовао комисију;
2) Навести састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, научно-наставног звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање и назива универзитета/факултета/института на којем је члан комисије запослен.

ІІ ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

- 1) Име, име једног родитеља, презиме: Амер (Асим) Сунулахпашић
- 2) Датум рођења, општина, држава: Амер Сунулахпашић је рођен 16. децембра. 1966. год. у Бусовачи, СФР Југославија, Босна и Херцеговина
- 3) Назив универзитета и факултета и назив студијског програма последиједипломских магистарских студија и стечено стручно/научно звање: Универзитет у Сарајеву, Пољопривредно- прехранбени факултет, магистарски студиј, магистар пољопривреде
- 4) Факултет, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране магистарског

рада: Пољопривредно- прехранбени факултет Универзитета у Сарајеву; "Микробиолошка активност земљишта под малином (*Rubus idaeus* L.) при примјени различитих органских и минералних ђубрива", Биљна производња- ФИТОМЕДИЦИНА, одбрањен 13. јула 2015. год.

- 5) Научна област из које је стечено научно звање магистра: Биљна производња- ФИТОМЕДИЦИНА
- 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма: 2016. година; Студијски програм трећег циклуса студија ПОЉОПРИВРЕДНЕ НАУКЕ, Научно поље: ПОЉОПРИВРЕДНЕ БИЉНЕ НАУКЕ; Ужа научна област: ЗАШТИТА ЗДРАВЉА БИЉАКА

- 1) Име, име једног родитеља, презиме;
- 2) Датум рођења, општина, држава;
- 3) Назив универзитета и факултета и назив студијског програма академских студија II циклуса, односно последијипломских магистарских студија и стечено стручно/научно звање;
- 4) Факултет, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране магистарског рада;
- 5) Научна област из које је стечено научно звање магистра наука/академско звање мастера;
- 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма.

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

- 1) **Наслов докторске дисертација:** „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту“
- 2) **Вријеме и органи који су прихватили докторску дисертацију (хронологија одлука)**

Докторску дисертацију под насловом „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту“, мр Амер Сунулахпашић је пријавио 4. децембра 2018. године (бр. 10/5.4518/18). Наставно- научно вијеће Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци је 27. децембра 2018. год., донијело Одлуку о утврђивању приједлога за именовање Комисије за оцјену подобности кандидата, теме и испуњености услова за менторство (бр. 10/3.4793-4-7/18) у сљедећем саставу:

- Др Димитрије Марковић, доцент, Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Хортикултура и Заштита здравља биљака и агроекологија- председник.
- Др Мирјана Жабић, ванредни професор, Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Биохемија и молекуларна биологија- члан.
- Др Драгана Шуњка, доцент, Пољопривредно факултет, Универзитет у Новом Саду. Ужа научна област: Фитофармација– члан.
- Др Сауд Хамидовић, доцент, Пољопривредно-прехранбени факултет, Универзитет у Сарајеву, на ужој научној области: Микробиологија- члан.

Сенат Универзитета у Бањој Луци је дана 31. јануара 2019. године донио Одлуку о именовању Комисије за оцјену подобности кандидата, теме и испуњености услова за менторство (бр. 02/04-3.150-53/19).

Јавно представљање теме и програма истраживања докторске дисертације под називом “Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту“ кандидата Амера Сунулахпашића, магистра пољопривреде, под менторством проф. др Васе Бојанића, обављено је у складу са Правилником о студирању на 3. циклусу студирања на Универзитету у Бањој Луци, 22. априла 2019. године.

Комисија у горе наведеном саставу је дана 21. јуна 2019. год. поднијела Извјештај о оцјени подобности кандидата, теме и испуњености услова за менторство кандидата мр Амера Сунулахпашића (бр. 10/5.2150/19). Наставно- научно вијеће

Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци је дана 10. септембра 2019. год., под бројем 10/3.2930-13-9/19, донијело Одлуку о усвајању позитивног Извјештаја о подобности кандидата мр Амера Сунулахпашића и теме докторске дисертације под насловом „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" и испуњености услова за менторство проф. др Васе Бојанића.

Сенат Универзитета у Бањој Луци је 25. септембра 2019. год. донио Одлуку којом се даје сагласност на позитиван Извјештај о подобности кандидата мр Амера Сунулахпашића и теме докторске дисертације под насловом „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" и испуњености услова за менторство проф. др Васе Бојанића (бр.02/04-3.2254-90/19).

Научно- наставно вијеће Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, због одласка у пензију проф. Др Васе Бојанић, је 14. фебруара 2022. године, именovalo Комисију са задатком да напише извјештај о испуњености услова за менторство проф. др Славице Вуковић, ванредног професора Пољопривредног факултета у Универзитета у Новом Саду на ужој научној области ФИТОФАРМАЦИЈА, за израду докторске дисертације мр Амера Сунулахпашића под насловом: "Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" у сљедећем саставу:

- Др Сениша Митрић, ванредни професор, Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области Заштита здравља биљака и агроекологија- председник.
- Др Мирјана Жабић, редовни професор, Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Биохемија и молекуларна биологија- члан.
- Др Драгана Шуњка, ванредни професор, Пољопривредно факултет, Универзитет у Новом Саду. Ужа научна област: Фитофармација- члан.
- Др Сауд Хамидовић, ванредни професор, Пољопривредно-прехрамбени факултет, Универзитет у Сарајеву, на ужој научној области: Микробиологија у пољопривреди и прехрамбеној технологији- члан.

Комисија у горе наведеном саставу је написала позитиван Извјештај о подобности проф. др Славице Вуковић за израду докторске дисертације мр Амера Сунулахпашића. Научно-наставно вијеће Пољопривредног факултета је на сједници одржаној 12. априла 2022. год. усвојило овај позитиван Извјештај и приједлог одлуке упутило на даље поступање Сенату Универзитета у Бањој Луци (бр. 10/3.990-9-9/22).

Сенат Универзитета у Бањој Луци је на 79. сједници одржаној 28. априла 2022. год. донијело Одлуку којом се даје сагласност за промјену ментора за израду докторске дисертације мр Амера Сунулахпашића под насловом „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" и за ментора се именује проф. др Славица Вуковић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду (бр. 02/04-3.851-46/22). До промјене ментора је дошло због престанка радног односа проф. др Васе Бојанића на Универзитету у Бањој Луци, због одласка у пензију.

Научно-наставно вијеће Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци је 12. маја 2022. год., под бројем 10/3.1267-10-1/22, донијело Одлуку о формирању Комисије за преглед, оцјену и одбрану докторске дисертације мр Амера Сунулахпашића под насловом: "Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" у сљедећем саставу:

- Др Сениша Митрић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области Заштита здравља

биљака и агроекологија, предсједник,

- Др Славица Вуковић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на ужој научној области: Фитофармација, ментор- члан,
- Др Мирјана Жабић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на ужој научној области: Биохемија и молекуларна биологија, члан,
- Др Драгана Шуњка, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на ужој научној области: Фитофармација, члан и
- Др Сауд Хамидовић, ванредни професор Пољопривредно-прехранбеног факултета Универзитета у Сарајеву, на ужој научној области: Микробиологија у пољопривреди и прехранбеној технологији, члан.

Мр Амер Сунулахпашић је 19. августа 2022. год. докторску дисертацију предао на протокол Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, која је заведена под бројем 10/3.2246/22.

3) Садржај докторске тезе са страничењем

1. УВОД (стр. 1); **2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ** (стр. 3) 2.1. Пестициди- историјат примјене и улога у пољопривреди (стр. 3), 2.2. Судбина пестицида у пољопривредном земљишту (стр. 4), 2.3. Сорпција пестицида у земљишту (стр. 6), 2.3.1. Сорпција- дефиниција и основни појмови (стр. 6), 3.2. Механизми сорпције (стр. 7), 2.3.3. Сорпцијске изотерме (стр. 9), 2.4. Адсорпција пестицида у земљишту (стр. 11), 2.4.1. Показатељи адсорпције пестицида у земљишту (стр. 11), 2.4.2. Фактори који утичу на сорпцију пестицида у земљишту (стр. 15), 2.4.2.1. Карактеристике пестицида (стр. 16), 2.4.2.2. Утицај врсте и садржаја минерала глине на сорпцију агрохемикалија у земљишту (стр. 17), 2.4.2.3. Утицај садржаја органске материје на сорпцију агрохемикалија у земљишту (стр. 20), 2.4.2.4. Утицај рН вриједности на сорпцију агрохемикалија у земљишту (стр. 20), 2.5. Адсорпција и десорпција никосулфурана у земљишту (стр. 22), 2.6. Деградација пестицида у земљишту (стр. 24), 2.6.1. Деградација пестицида у земљишту- деградациони путеви и резидуе (стр. 24), 2.6.2. Резидуе хербицида из класе сулфонилуреа и технике детекције (стр. 25), 2.7. Земљиште и улога микроорганизама у земљишном екосистему (стр. 27), 2.7.1. Земљиште као животна средина за микроорганизме (стр. 27), 2.7.2. Агротехничке мјере и микробиолошка активност земљишта (стр. 30), 2.7.3. Примјена пестицида и микробни диверзитет земљишта (стр. 33), 2.7.4. Фактори који утичу на ефекат пестицида на земљишне микроорганизме (стр. 37), 2.7.5. Примјена никосулфурана у биљној производњи и утицај на микробни диверзитет земљишта (стр. 39); **3. РАДНА ХИПОТЕЗА** (стр. 42); **4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА** (стр. 43), 4.1. Карактеристике примијењеног никосулфурана (стр. 43), 4.2. Карактеристике земљишта кориштеног у истраживању (стр. 44), 4.3. Методе истраживања адсорпције никосулфурана у земљишту (стр. 44), 4.4. Методе истраживања деградације никосулфурана у земљишту (стр. 46), 4.5. Утицај никосулфурана на микробиолошке особине земљишта (стр. 51), 4.5.1. Поставка огледа за истраживање дјеловања никосулфурана на микробиолошку активност земљишта (стр. 51), 4.5.2. Испитивање микробног диверзитета земљишта третираног никосулфураном (стр. 51), 4.5.3. Испитивање толерантности микроорганизама на присуство никосулфурана (стр. 54), 4.5.4. Морфолошка испитивања изолата микроорганизама (стр. 55), 4.5.5. Идентификација изолата микроорганизама (стр. 56), 4.5.6. Испитивање раста микроорганизама у присуству никосулфурана као извора угљеника и енергије (стр. 56); **5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА** (стр. 58), 5.1. Механички састав и хемијске особине земљишта (стр. 58), 5.2. Сорпција

никосулфурана у земљишту (стр. 59), 5.2.1. Адсорпција никосулфурана у земљишту у стању равнотеже (стр. 59), 5.2.2. *Freundlich*-ова адсорпциона изотерма никосулфурана у земљишту (стр. 61), 5.2.3. Коефицијент дистрибуције и проценат адсорбованог никосулфурана у земљишту (стр. 63), 5.2.4. Процент адсорбованог никосулфурана у земљишту (стр. 64), 5.3. Зависност адсорпције никосулфурана од карактеристика земљишта (стр. 66), 5.3.1. Корелациони и регресиони односи између показатеља адсорпције никосулфурана и хемијских особина земљишта (стр. 66), 5.3.2. Корелациони и регресиони односи између показатеља адсорпције никосулфурана и механичког састава земљишта (стр. 70), 5.3.3. Корелациони односи између адсорпционих показатеља међусобно (стр. 76), 5.4. Динамика деградације никосулфурана (стр. 78), 5.4.1. Праћење разградње никосулфурана у земљишту типа Мањача (стр. 78), 5.4.2. Праћење разградње никосулфурана у земљишту типа Косјерево (стр. 82), 5.4.3. Праћење разградње никосулфурана у земљишту типа Туњице (стр. 85), 5.5. Микробни диверзитет земљишта (стр. 88), 5.6. Толерантност микроорганизама на присуство никосулфурана (стр. 98), 5.7. Резистенција изолата микроорганизама на присуство никосулфурана (стр. 100), 5.8. Идентификација изолата микроорганизама толерантних и резистентних на присуство никосулфурана (стр. 101), 5.8.1. Идентификација бактеријских изолата (стр. 101), 5.8.2. Идентификација изолата гљиве (стр. 102), 5.9. Раст микроорганизама у присуству никосулфурана као извора угљеника и енергије (стр. 102), 5.9.1. Раст бактерија у присуству никосулфурана као јединственог извора угљеника и енергије (стр. 102), 5.9.2. Раст гљива у присуству никосулфурана као јединственог извора угљеника и енергије (стр. 103); **6. ДИСКУСИЈА** (стр. 105), 6.1. Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту (стр. 105), 6.2. Микробни диверзитет и толерантност/резистеност микроорганизама на присуство никосулфурана (стр. 111); **7. ЗАКЉУЧАК** (стр. 121); **8. ЛИТЕРАТУРА** (стр. 125); **ПРИЛОЗИ** (стр. 155).

4) Основни подаци о докторској дисертацији (обим, број табела, слика, шема, графикана, број цитиране литературе и навести поглавља)

Докторска дисертација мр Амера Сунулахпашића под насловом „Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту“ има **154** стране, са **62** табеле, **36** графикана, **10** слика, **1** шемом и са укупно **451** цитираним литературним извором. Садржи **8** поглавља: **1.** Увод; **2.** Преглед литературе; **3.** Радна хипотеза; **4.** Материјал и методе рада; **5.** Резултати истраживања; **6.** Дискусија; **7.** Закључак и **8.** Литература и Прилоге. Докторска дисертација је урађена у складу са Правилником о садржају, изгледу и дигиталном репозиторијуму докторских дисертација на Универзитету у Бањој Луци.

1) Наслов докторске дисертације;

2) Вријеме и орган који је прихватио тему докторске дисертације

3) Садржај докторске дисертације са страничењем;

4) Истаћи основне податке о докторској дисертацији: обим, број табела, слика, шема, графикана, број цитиране литературе и навести поглавља.

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

1) Разлози због којих су истраживања предузета, проблем, предмет, циљеви и хипотезе.

Докторска дисертација се састоји од три дијела истраживања, тј.: истраживање закономјерности сорпције никосулфурана у земљишту, истраживање динамике деградације никосулфурана у земљишту и утицај никосулфурана на заступљеност систематских и физиолошких група микроорганизама у земљишту, као и испитивање толеранције изолованих бактерија на никосулфурон. Циљ истраживања

је било утврђивање сорпције, тј. адсорпције и десорпције никосулфуруна у земљишту, његове деградације у земљишту и утицаја никосулфуруна на активност микроорганизама у земљишту. У овој докторској дисертацији утврђене су закономјерности адсорпције никосулфуруна, а што је услов за добијање потребних информација о покретљивости хербицида и расподјели хербицида у земљишту и каснијој деградацији истог. Разлог истраживања адсорпционо- десорпционих особина земљишта везан је за ризик од потенцијалне мобилности и доспијевања никосулфуруна у површинске и подземне воде. Ризик од контаминације подземних вода никосулфуруном у БиХ је изражен и због тога што се овај хербицид користи на земљиштима под кукурузом, која се великим дијелом налазе у непосредној близини ријека.

Циљ дијела истраживања вазаног за сорпцију никосулфуруна у земљишту је био да се утврди закономјерност расподјеле никосулфуруна између течне фазе и чврсте фазе земљишта. У сврху одређивања те закономјерности, адсорпција је окарактерисана дистрибуционим коефицијентом K_d , те Фројндлиховим показатељима K_f и $1/n$, као и процентом адсорпције никосулфуруна. Да би сагледао очекивану закономјерност, кандидат је анализирао механички састав земљишта, рН земљишта, садржај хумуса у земљишту, као и капацитет катјонске размјене (СЕС). Проучавањем адсорпције и десорпције никосулфуруна утврђена је зависност сорпције никосулфуруна од карактеристика земљишта, прије свих механичког састава земљишта, садржаја хумуса, рН земљишта и капацитета катјонске размјене (СЕС). Овако утврђена закономјерност би се могла користити за процјену испирања хербицида кроз профил земљишта, али и за процјену расположивости једињења за разградњу, испаравање из земљишта, испирање у подземне воде, као и површинског отицања.

Истраживањем деградације никосулфуруна, кроз праћење остатака хербицида у земљишту, као зависне величине, од почетне количине никосулфуруна и временског интервала од примјене хербицида, као независне величине, утврђена је закономјерност деградације никосулфуруна од посматраних фактора (количина примјене и вријеме). На основу добијених резултата одређено је полувријеме разградње (DT_{50}) никосулфуруна у анализираним типовима земљишта, што је омогућило увид у утицај карактеристика земљишта на перзистентност никосулфуруна и његово потенцијално фитотоксично дјеловање на наредне усјеве у плодореду.

Истраживање утицаја никосулфуруна на заступљеност најважнијих систематских и физиолошких група микроорганизама у земљишту рађено је паралелно са истраживањем деградације. Тако је утврђена повезаност између деградације никосулфуруна у функцији времена и дозе и његов утицај на промјену броја микроорганизама у земљишту.

2) Сажет приказ резултата претходних истраживања

Докторанд мр Амер Сунулахпашић је у поглављу Преглед литературе цитирао 451 литературни извор и врло је детаљно и системично изнио досадашња истраживања у вези са сорпцијом и деградацијом хербицида у земљишту, а никосулфуруна посебно. Претходна истраживања је изнио почев од уопштених теоријских разматрања сорпције хербицида на честице земљишта и механизма и динамике деградације хербицида. Познавање структуре пестицида и њихових физичких и хемијских карактеристика је важно за процјену њихове сорпције у земљишту, а нарочито су битна пестицида битна четири фактора. Први фактор се односи на природу функционалних група. Сорпција посебно изражена код пестицида који имају следеће функционалне групе: R_3N^+ , $-CONH_2$, $-OH$, $-NHCOR$, -

NH_2 , $-\text{OCOR}$ i $-\text{NHR}$ (Khan, 1980). Други фактор је природа супституционих група које могу да утичу на функционалне групе. Трећи фактор је позиција супституционих група која може да утиче на појачање или слабљење интермолекуларног повезивања. Четврти фактор је напон паре пестицида (Khan, 1980). Напон паре може бити незнатан, кад потиче од неједнаке дистрибуције електрона стварајући поларност молекула, до веома јак, кад настаје као резултат дисоцијације. У систему који условљава сорпцију хербицида, поред фактора који односе на хербицид, значајан фактор су и карактеристике земљишта. У докторској дисертацији се, у вези са овим, разматрају: утицај врсте и садржаја минерала глине и органске материје на сорпцију агрохемикалија у земљишту, те рН вриједности земљишта на сорпцију агрохемикалија у земљишту. У претходним истраживањима је утврђено да се са порастом садржаја органске материје у земљишту, као и са смањењем рН вриједности земљишта адсорпција никосулфурана повећава (Weed Science Society of America, 1994). Зависност судбине никосулфурана од садржаја органске материје, рН вриједности, као и типа минерала глине потврђују и Gonzales i Ukrainczyk (1996). Azcarate et al. (2018) су упоређивали вриједности K_d у земљиштима Аргентине и САД-а и констатовали су да су ове вриједности веће у земљиштима САД-а, која имају већи садржај органског угљеника и већу рН вриједност у односу на земљишта у Аргентини. Ukrainczyk и Rashid (1995) су описали изражену ирверзибилну адсорпцију никосулфурана на силикатима ($K_d > 100$) за минерале глине, при рН 6,0-6,5. Јака сорпција никосулфурана на минералима глине је неочекивана, јер је никосулфурон једињење анијонске природе. Такође, познато је да сви хербициди из групе сулфониуреа имају слабу адсорпцију на минерале глине (Broggaard i Streibig, 1988). Ове чињенице би могле да укажу на слабију мобилност никосулфурана у односу на друге хербициде из групе сулфониуреа (Gonzales i Ukrainczyk, 1996). Насупрот томе, Struger et al. (2011) су детектовали никосулфурон у узорцима површинских вода у Канади. Peritano и Koskinen (2008) су указали да се концентрација раствореног никосулфурана смањује брже у односу на његову концентрацију у земљишту, што указује да су деградациони процеси у лабилним зонама земљишта интензивнији у односу на процес десорпције. Исти аутори сматрају да је успорено смањење концентрације никосулфурана у земљишту последица успостављања чврстих веза са честицама земљишта.

Кључну улогу у процесу деградације имају земљишни микроорганизми, хемијске реакције и сунчева свјетлост, тј. понашање и судбина пестицида у животној средини не зависи само од једног фактора. С обзиром на комплексност животне средине, многи пестициди након примјене постају мобилни кроз природне процесе као што су отицање, испирање, ерозија итд. (Arias-Estevez et al., 2008). Вријеме потребно за деградацију никосулфурана зависи у великој мјери од присуства или одсуства кисеоника. Вријеме полураспада никосулфурана према једним истраживањима у аеробним условима у земљишту је износило 24-43 дана, а у води је износило 15 дана (McBean, 2012), а према другим истраживањима, у аеробним условима деградације, вријеме полураспада (DT_{50}) износи око 26 дана, док у анаеробним условима, око 6 мјесеци (Roberts, 1998). Вријеме полураспада никосулфурана зависи, између осталог, и од физичких карактеристика земљишта. У глиновитим земљиштима, вријеме полураспада износи до 63 дана, док је у иловачама никосулфурон мобилан и доспијева у дубље слојеве земљишта. Soltani et al. (2005) истичу да је вријеме распада сулфониуреа хербицида у земљишту од неколико недеља до три или више година. Никосулфурон се може класификовати као ниско до умјерено перзистентан у земљишту ($DT_{50}=7-46,3$ дана) (EFSA, 2007). Резидуе никосулфурана се често детектују у земљишту, површинској води и

појединим усјевима (Liu et al., 2012; Wu et al., 2010).

Деградиција никосулфурана у земљишту је доминантно микробиолошка. Диверзитет пољопривредних земљишта је веома изражен, у њему се, осим аутохтоних “становника”, као што су бактерије, гљиве, протисти, биљке и животиње, налазе и организми које је човјек унио и њихова популација зависи од структуре земљишта и начина кориштења (Arias et al., 2005). Torsvik et al. (1996) сматрају да се из 1 g земљишта може изоловати 4.000-6.000 бактеријских генома. Класичне микробиолошке анализе омогућавају да се изолује свега 0,1-10% од укупне микробне популације у земљишту (Furtak i Gajda, 2018).

3) Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања

Докторанд мр Амер Сунулахпашић је кроз израду докторске дисертације дао значајан допринос обједињавању истраживања сорпције никосулфурана у различитим типовима земљиштима, деградације никосулфурана у земљишту и утицаја никосулфурана на микробиолошку активност земљишта. Оваквим приступом изучавању објединио је истраживања која се обично раде одвојено, а у којима се парцијално посматрају проблеми сорпције, деградације и микробиолошке активности. Холистички приступ колеге мр Амер Сунулахпашића значајан је допринос проблему изучавања понашања хербицида у земљишту, посебно за земљишне хербициде или хербициде у раној *Post EM* примјени који се користе на великом површинама, када је депозит хербицида на земљиште већи, те постоји већа могућност испирања хербицида у подземне воде.

4) Навести очекиване научне и прагматичне доприносе дисертације

Процеси сорпције, те деградације хербицида зависе са једне стране од самог пестицида, а са друге стране од карактеристика земљишта. Неопходно је испитати и дефинисати механизме адсорпције/десорпције у различитим типовима земљишта, те утврдити степен потенцијалног ризика од њихове акумулације у агроекосистему. Такође, изолација микробних популација које су толерантне и резистентне на присуство никосулфурана, могу бити полазна основа за развој биотехнолошког приступа у рјешавању проблема контаминације животне средине пестицидима. Ова истраживања, осим научног, имају и апликативни значај, будући да резултате ове докторске дисертације могу да користе научници сличних области истраживања и стручњаци савјетодавне службе који препоручују никосулфурон у биљној производњи. Наиме, утврђена зависност карактеристика земљишта и количине адсорбованог никосулфурана на честице земљиште може се искористити за истраживања редукације дозе хербицида у оним типовима земљиштима у којима је никосулфурон мање адсорбован, тј. у којима га има више у земљишном раствору, а чиме би се смањио и потенцијал за његово испирање у подземне воде.

Такође, резултати ове докторске дисертације могу да послуже и регистрационим тијелима, приликом процјене ризика од хербицида, јер очигледно да у пјесковитим земљиштима у којима је рН земљишта висок значајно расте ризик од испирања.

- 1) Укратко истаћи разлог због којих су истраживања предузета и представити проблем, предмет, циљеве и хипотезе;
- 2) На основу прегледа литературе сажето приказати резултате претходних истраживања у вези проблема који је истраживан (водити рачуна да обухвата најновија и најзначајнија сазнања из те области код нас и у свијету);
- 3) Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања;
- 4) Навести очекиване научне и прагматичне доприносе дисертације.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

- 1) Објаснити материјал који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала.

Колега Амер Сунулахпашић је за оглед одабрао хербицид никосулфурон, чију сорпцију је истраживао у 9 типова земљишта, а деградацију у 3 типа земљишта. За истраживање сорпције је коришћен аналитички стандард никосулфурана (96%) (Dr. Ehrenstorfer, Њемачка), а за испитивање деградације хербицид формулисан у облику препарата Talisman (40 g/L никосулфурана, формулација: концентрована уљна суспензија- OD). Никосулфурон је изабран због тога што се ради о једном од главних хербицида који се користе за сузбијање корова у кукурузу. Са друге стране кукуруз се у БиХ гаји на око 160.000 хектара, и то доминантно у близинама ријека што додатно доприноси ризику од испирања овог хербицида и евентуалном доспијевању у подземне воде.

Земљишта која су се користила за истраживање значајно су варијала по својим карактеристикама, како у погледу механичког састава, тако и хемијских карактеристика. У погледу механичког састава земљишта, садржај пијеска је варирао од 1,90 до 68,20%, док су честице праха биле заступљене од 16,3 до 71,90%. Честице глине су имале учешће од 13,8 до 40,30%. Земљишта су средње до високо обезбијеђена хумусом и садржајем органског угљеника, а рН вриједност у H₂O варира у распону од 4,31 до 8,20, а у КСl од 3,85 до 7,50.

2) Кратак увид у примијењени метод истраживања.

Метода за одређивање адсорпције и десорпције никосулфурана у земљишту је метода шаржног испитивања у равнотежи и одговара смјерници OECD TG 106. Сорпција никосулфурана је испитивана у 9 узорак земљишта, а садржај никосулфурана је одређен помоћу течног хроматографа са Diode Array Detector (HPLC- DAD, Agilent 1260 Infinity) користећи EC-C18 колону (Poroshell-120, 4,6x50 mm, 2,7 µm) и мјерећи апсорпцију на 245 nm. Ова истраживања су рађена на Пољопривредном факултету Универзитета у Бањој Луци. Динамика деградације никосулфурана праћена је у 3 типа земљишта. Никосулфурон (препарат Talisman, 40 g/L a.s., OD формулације) је равномјерно примјењен на 500 грама земљишта у масеним удјелима никосулфурана од 0,075, 0,15, 0,30 mg a.s./kg земљишта, укључујући контролу која није садржавала никосулфурон. Земљиште је на овај начин чувано 40, 30, 10 и 0 (нула) дана на собној температури, а узорковање је изведено на крају планираних временских интервала тако што је земљиште додатно промијешано и издвојено око 100 грама. Издвајање никосулфурана из земљишта изведено је модификованом QuEChERS методом. Количина никосулфурана присутног у земљишту анализирана је примјеном течне хроматографије са тандем масеном спектрометријом (LC-MS/MS Agilent 1260 Infinity II sa Triple Quadrupole sistemom 6420), на Институту за воде у Бијелини. Микробни диверзитет земљишта третираног никосулфураном испитан је на крају огледа. Укупан број микроорганизама испитан је на подлози 10 × разблажени триптон соја агар. Број гљива одређен је на подлози розе бенгал стрептомицин агар (Perer et al., 1995). Присуство амонификатора (укупних и спорогених) одређено је на подлози месопептонски агар. Олигонитрофили и представници рода *Azotobacter* sp. су одређени на подлози Фјодоров агар. Микроорганизми толерантни на присуство никосулфурана изоловани су примјеном модификоване методе Talaie et al. (2010), ова истраживања су рађена на Пољопривредно- прехранбеном факултету Универзитета у Сарајеву.

Комисија, имајући у виду одабране истраживачке методе, као и резултате који су добијени констатује следеће:

1. примијењене методе истраживања су адекватне, довољно тачне и савремене;
2. није дошло до промјене у плану истраживања у односу на онај који је дат приликом пријаве докторске тезе;

3. испитивани параметри дају довољно елемената, за поуздано истраживање и
4. статистичка анализа је адекватна и таква да су поуздано утврђене закономјерности сорпције и деградације никосулфуруна у земљишту, како је и предвиђено радном хипотезом.

- 1) Објаснити материјал који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала;
- 2) Дати кратак увид у примијењени метод истраживања при чему је важно оцијенити сљедеће:
 1. Да ли су примијењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене, имајући у виду достигнућа на том пољу у свјетским нивоима;
 2. Да ли је дошло до промјене у односу на план истраживања који је дат приликом пријаве докторске тезе, ако јесте зашто;
 3. Да ли испитивани параметри дају довољно елемената или је требало испитивати још неке, за поуздано истраживање;
 4. Да ли је статистичка обрада података адекватна.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

1) Резултати до којих је кандидат дошао

Резултати до којих је кандидат дошао указују, са једне стране на оправданост теме коју је узео за истраживање, а са друге стране ти резултати су потврдили основне хипотезе на којима се рад темељио. Кандидат је дошао до значајних резултата закономјерности сорпције никосулфуруна у зависности од карактеристика земљишта. Установио је да адсорпција никосулфуруна у стању равнотеже, тј. маса адсорбованог никосулфуруна статистички високо значајно зависи, како од типа земљишта, тако и почетне концентрације хербицида, а аналогно томе то вриједи и за концентрацију никосулфуруна у раствору у равнотежи. Утврђено је да су показатељи константи *Freundlich*-ове адсорпционе изотерме (K_f) за адсорпцију никосулфуруна у истраживаним земљиштима значајно варирали, зависно од карактеристика земљишта. Тако је вриједност K_f варирала од $0,027 \mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$ до $7,388 \mu\text{g}^{1-1/n} \text{ mL}^{1/n} / \text{g}$. Вриједност $1/n$ креће се у интервалу од 0,291 до 1,927. У земљиштима киселе до благо алкалне рН вриједности, вриједности параметра $1/n$ биле су ниже од 1, што указује да се адсорпциона изотерма никосулфуруна у овим земљиштима карактерише L-типом криве. Међутим, у земљишту алкалне реакције, вриједност параметра $1/n$ износила је 1,927, што указује на изотерму S-типа, која представља конкавну криву. Коefицијент дистрибуције се кретао у интервалу 0,41 до 2,81 mL/g. Средња вриједност процента адсорбованог никосулфуруна у зависности од концентрације и типа земљишта, се кретала од 15,75 до 53,08%.

Утврђено је да вријеме деградације никосулфуруна зависи од почетне количине хербицида и времена које протекне од апликације хербицида. Вријеме полуразградње (DT_{50}) било је највеће у земљишту са локалитета Косјерово ($DT_{50}=43,31$ дан), у земљишту са локалитета Мањача DT_{50} је 16,13 дана у просјеку, док је најкраће вријеме полуразградње у узорку земљишта са локалитета Туњице и износи 9,43 дана.

Резултати заступљености микроорганизама у узорцима земљишта показали су различиту бројност систематских и физиолошких група микроорганизама. Бројност је зависила од типа анализiranог земљишта, групе микроорганизама и концентрације никосулфуруна. Резултати показују да је у већини узорака заступљеност микроорганизама у земљишту била највећа у контроли у поређењу са третманима гдје је примјењен никосулфурун. Заступљеност укупног броја бактерија је након примјене никосулфуруна редукована до 77% на локацији Мањача, до 74% на локацији Туњице и до 80% на локацији Косјерово, у односу на нетретирану контролу. Укупни амонификатори су показали изразиту осјетљивост према примјени никосулфуруна, тако је на локацији Мањача проценат редукције ове

групе микроорганизама износио је до 85%, на локацији Туњице до 89%, а на локацији Косјерово до 87%. Микробни диверзитет био је најизраженији на локацији Туњице, гдје је рН вриједност била оптимална. Број микроорганизама се углавном смањивао са повећањем концентрације никосулфурана у испитиваним узорцима земљишта. Из испитиваних узорака изоловано је 10 бактеријских и 6 изолата гљива толерантних на присуство никосулфурана. Идентификација најрезистентнијих изолата показала је да они припадају родовима *Bacillus*, *Pseudomonas* и *Penicillium*.

2) Оцјена добијених резултата

Резултати до којих је докторанд дошао су представљени на свеобухватан, цјеловит и јасан начин и омогућавају да се утврде законитости једног сложеног процеса, каква је сорпција и деградација хербицида (никосулфурана) у земљишту. Оглед је добро осмишљен, правилно спроведен, са великим бројем улазних параметара, а из чега произилази и велики број законитости које је кандидат утврдио. Овакви резултати потврђују да је неопходно један сложен процес, какав је сорпција и деградација хербицида у земљишту, посматрати у што ширем контексту могућих фактора, који тај процес условљавају.

Кандидат је добијене резултате поредио са великим бројем публикованих резултата других истраживача, и предложио могуће нове правце у истраживању.

3) Нова сазнања до којих се у истраживању дошло, њихов теоријски и практични допринос, као и који нови истраживачки задаци се на основу њих могу утврдити или назирати.

Кандидат је у својим истраживањима утврдио да доминантну улогу у процесима адсорпције никосулфурана има механички састав земљишта. Повећањем садржаја пијеска се смањује адсорпција, док се са повећањем честица праха и глине она повећава. У погледу хемијских карактеристика земљишта утврђено је да доминантан утицај на адсорпцију никосулфурана има капацитет катјонске размјене (СЕС) и то тако што се са повећањем вриједности СЕС повећава и адсорпција никосулфурана. Кандидат је утврдио да рН земљишта на статистички значајном нивоу не утиче на адсорпцију никосулфурана, али је тенденција таква да се са повећањем рН, смањује адсорпција. Установљена је веза укупног броја микроорганизама у земљишту третираном никосулфураном и показатеља адсорпције за то земљиште. Тако је утврђено да се на контролним узорцима земљишта, који нису третирано никосулфураном, укупни број амонификатора, олигонитрофила и актиномицета повећава са повећањем рН земљишта, док се број гљива у овом корелационом односу смањује. Кандидат је утврдио да се повећањем адсорпције никосулфурана у земљишту, посматрано преко K_d и $ADS\%$, повећава број бактерија и актиномицета, а смањује број гљива, а на што указују и резултати толерантности микроорганизама на присуство никосулфурана.

Кандидат је кроз израду своје докторске дисертације отворио и нове истраживачке задатке у која се могу усмјерити нова истраживања. То се прије односи на истраживање утицаја појединих минерала глине на адсорпцију хербицида, као и веома занимљива истраживања утицаја хербицида на микробиолошки диверзитет земљишта, а прије свега толерантност неких изолата на никосулфуран.

1) Укратко навести резултате до којих је кандидат дошао;

2) Оцијенити да ли су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући са резултатима других аутора и да ли је кандидат при томе испољавао довољно критичности;

3) Посебно је важно истаћи до којих нових сазнања се дошло у истраживању, који је њихов теоријски и практични допринос, као и који нови истраживачки задаци се на основу њих могу утврдити или назирати.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

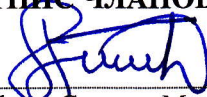
Докторска дисертација кандидата мр Амера Сунулахпашића под насловом: "Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" је оригинална и научно вриједна дисертација у којој су истраживања добро осмишљена и прецизно проведена. Кандидат је утврдио велики број законитости који описују зависност сорпције и деградације никосулфурана у земљишту од механичког састава земљишта и његових хемијских карактеристика, као и од микробиолошких особина земљишта. На захтјев ментора проф. др Славице Вуковић урађена је провјера оригиналности текста дисертације и потврђена оригиналност у складу са прописима који регулишу ту област.

Комисија након прегледа докторске дисертације кандидата мр Амера Сунулахпашића под насловом: "Сорпција и деградација никосулфурана у земљишту" позитивно оцјењује ову дисертацију и предлаже Научно-наставном вијећу Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати докторску дисертацију и одобри њену јавну одбрану.


- 1) Навести најзначајније чињенице што тези даје научну вриједност, ако исте постоје дати позитивну вриједност самој тези;
- 2) На основу укупне оцјене дисертације комисија предлаже:
 - да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана,
 - да се докторска дисертација враћа кандидату на дорату (да се допуни или измијени) или
 - да се докторска дисертација одбија.

Мјесто и датум: Бања Лука, Нови Сад и Сарајево, 05. септембар 2022. год.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ



Проф. др Синиша Митрић- председник
-ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на
ужој научној области Заштита здравља биљака и агроекологија-



Проф. др Славица Вуковић- ментор
-редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на
ужој научној области: Фитофармација-



Проф. др Мирјана Жабић- члан
-редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци, на
ужој научној области: Биохемија и молекуларна биологија-



Проф. др Драгаца Шуњка- члан
-ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, на
ужој научној области: Фитофармација-



Проф. др Сауд Хамидовић- члан
-ванредни професор Пољопривредно-прехранбеног факултета Универзитета у
Сарајеву, на ужој научној области: Микробиологија у пољопривреди и
прехранбеној технологији-

IZJAVA O AUTORSTVU

**Izjavljujem
da je doktorska disertacija**

SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU

SORPTION AND DEGRADATION OF NICOSULFURON IN SOIL

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,**
- da doktorska disertacija, u cjelini ili u dijelovima, nije bila predložena za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova**
- da su rezultati korektno navedeni i**
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.**

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.



mr Amer Sunulahpašić

**Izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci
da doktorsku disertaciju učini javno dostupnom**

Ovlašćujem Univerzitet u Banjoj Luci da moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

"SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU"

koja je moje autorsko djelo, učini javno dostupnim.

Doktorsku disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (*Creative Commons*) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo
2. Autorstvo- nekomercijalno
3. Autorstvo- nekomercijalno- bez prerade
4. **Autorstvo- nekomercijalno- dijeliti pod istim uslovima**
5. Autorstvo- bez prerade
6. Autorstvo- dijeliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.



mr Amer Sunulahpašić

**Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije
doktorske disertacije**

Ime i prezime autora: Amer Sunulahpašić

Naslov rada: **SORPCIJA I DEGRADACIJA NIKOSULFURONA U ZEMLJIŠTU**

Mentor: Prof. dr Slavica Vuković, redovni profesor Poljoprivrednog fakulteta u Novom Sadu
na užoj naučnoj oblasti FITOFARMACIJA

Izjavljujem da je štampana verzija moje doktorske disertacije identična elektronskoj verziji koju sam predao za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci 19. avgusta 2022. god.



mr Amer Sunulahpašić