



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)

-Master rad-

Mentor: Prof. dr Siniša Mitrić

Kandidat: Rajko Lazendić, dipl. inž.

Banja Luka, 2023. godina



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



Uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)

-Master rad-

Mentor: Prof. dr Siniša Mitrić

Kandidat: Rajko Lazendić, dipl. inž.

Banja Luka, 2023. godina

Komisija za pregled, ocjenu i odbranu urađenog master rada:

Prof. dr Branimir Nježić, predsjednik
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci
Uža naučna oblast: Zaštita zdravlja biljaka i agroekologija

Prof. dr Nebojša Savić, član
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci
Uža naučna oblast: Ribarstvo, Stočarstvo

Prof. dr Siniša Mitrić, mentor - član
Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci
Uža naučna oblast: Zaštita zdravlja biljaka i agroekologija

Univerzitet u Banjoj Luci
Poljoprivredni fakultet
Banja Luka
Bosna i Hercegovina – Republika Srpska
Master rad

Uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)

Rajko Lazendić, dipl.inž.

Poljoprivredni fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci

Sažetak

Ovo istraživanje je zasnovano na hipotezi da pesticidi u životnoj sredini pored ciljanih utiču i na neciljane organizme. Istraživanje je sprovedeno da bi se istražili efekti pesticida na kalifornijsku glistu i njihovu sudbinu u laboratorijskim uslovima. U ovom radu je korišćena vrsta *Lumbricus rubellus*, kao test organizam, koja je izlagana različitim koncentracijama ispitivanih pesticida u pravljenom zemljišnom supstratu. Gliste su izlagane različitim koncentracijama insekticida Cipkord (a.s. Cipermetrin) i tri herbicida Talisman (a.s. Nikosulfuron), Kvazar (a.s. Imazamoks), Dankor (a.s. Metribuzin) u različitom trajanju. U istraživanju su praćena tri pokazatelja: mortalitet, broj kokona i broj izleglih jedinki.

U kontrolnim tretmanima nije bilo smrtnosti, sve jedinke su preživjele. U tretiranim uzorcima, svaki pesticid je pokazao različitu toksičnost. U prvih sedam dana primijećena je smrtnost skoro kod svih koncentracija pesticida, izuzev kod herbicida Talisman (a.s. Nikosulfuron), gdje je smrtnost bila samo u jednoj koncentraciji, a isto je konstatovano i nakon 14 dana. Kod ostalih ispitivanih pesticida sa povećanjem koncentracije povećavao se i broj mrtvih jedinki. Prema dobijenim rezultatima Talisman (a.s. nikosulfuron) pokazao se kao najmanje toksičan. Rezultati ovih istraživanja su pokazali da su ispitivani herbicidi i insekticidi veoma toksični kad je u pitanju reprodukcija, odnosno broj kokona i ispiljenih mladih jedinki. Može se zaključiti da su ispitivani pesticidi ispoljili veću reproduktivnu toksičnost, nego akutnu toksičnost iskazanu kroz smrtnost glista. Pokazatelji djelovanja ispitivanih pesticida na reprodukciju glista, iskazanih kroz broj kokona i broj ispiljenih glista, su značajno osjetljiviji parametri procjene rizika za kalifornijsku glistu od mortaliteta, naročito ako se njihovo djelovanje sagledava u dužem vremenskom intervalu.

Ključne riječi: insekticidi, herbicidi, mortalitet, reprodukcija, kalifornijska glista

University of Banja Luka
Faculty of agriculture
Banja Luka
Bosnia and Hercegovina – Republic of Srpska
Master thesis

Uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)

Graduatet engineer Rajko Lazendić
Faculty of Agriculture, Banja Luka, University of Banja Luka

Abstract

This research is based on the hypothesis that pesticides in the environment affect non-target organisms in addition to the targeted ones. Research was conducted to investigate the effects of pesticides on California earthworms and their fate under laboratory conditions. In this work, the species *Lumbricus rubellus* was used as a test organism, which was exposed to different concentrations of the tested pesticides in the prepared soil substrate. Earthworms were exposed to different concentrations of the insecticide Cipkord (a.s. Cypermethrin) and three herbicides Talisman (a.s. Nicosulfuron), Kwazar (a.s. Imazamox), Dankor (a.s. Metribuzin) for different durations. Three indicators were monitored in the research: mortality, number of cocoons and number of hatched individuals.

In the control treatments there was no mortality, all individuals survived. In the treated samples, each pesticide showed different toxicity. In the first seven days, mortality was observed in almost all concentrations of pesticides, except for the herbicide Talisman (a.s. Nicosulfuron), where mortality was only in one concentration, and the same was noted after 14 days. With other tested pesticides, the number of dead individuals increased as the concentration increased. According to the obtained results, Talisman (a.s. nicosulfuron) proved to be the least toxic. The results of these studies showed that the examined herbicides and insecticides are very toxic when it comes to reproduction, that is, the number of cocoons and hatched young individuals. It can be concluded that the examined pesticides exhibited greater reproductive toxicity than acute toxicity expressed through earthworm mortality. Indicators of the effects of the tested pesticides on earthworm reproduction, expressed through the number of cocoons and the number of cutworms, are significantly more sensitive risk assessment parameters for the California earthworm than mortality, especially if their effects are viewed over a longer time interval.

Key words: insecticides, herbicides, mortality, reproduction, california earthworm

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	4
2.1. Gliste-biologija i ekologija.....	4
2.2. Značaj glista za zemljište.....	7
2.3. Pesticidi i sudbina pesticida u okruženju.....	9
2.4. Ekotoksikološka istraživanja toksičnosti pesticida na gliste	11
2.5. Toksičnost pesticida na gliste.....	13
2.6. Insekticidi	14
2.6.1. Cipermetrin.....	15
2.7. Herbicidi.....	16
2.7.1. Nikosulfuron.....	17
2.7.2. Imazamoks.....	18
2.7.3. Metribuzin	19
3. CILJ ISTRAŽIVANJA	20
4. MATERIJAL I METOD RADA	21
4.1. Test organizmi.....	21
4.2. Zemljišni supstrat	21
4.3. Pesticidi	22
4.4. Postavka oglada.....	23
5. REZULTATI	26
5.1. Praćenje gliste tokom oglada.....	26
5.2. Uticaj insekticida Cipkord (a.s. cipermetrin) na vrstu <i>Lumbricus rubellus</i>	27
5.3. Uticaj herbicida Kvazar (a.s. imazamoks) na vrstu <i>Lumbricus rubellus</i>	31
5.4. Uticaj herbicida Dankor (a.s. metribuzin) na vrstu <i>Lumbricus rubellus</i>	35
5.5. Uticaj herbicida Talisman (a.s. nikosulfuron) na vrstu <i>Lumbricus rubellus</i>	39
6. DISKUSIJA	43
7. ZAKLJUČAK	46
8. LITERATURA	47
9. PRILOZI	51
10. BIOGRAFIJA	56

1. UVOD

Ekotoksikologija je multidisciplinarna nauka koja se bavi proučavanjem štetnih efekata, direktnih ili indirektnih, hemijskih supstanci na organizme u populacijama i ekosistemima. Ona opisuje štetne efekte na žive organizme u životnoj sredini, koje mogu da izazovu zagađujuće materije. Kada štetna materija nanosi štetu ekosistemu, radi se o njenom ekotoksičnom dejstvu. Ekotoksikologija se nekad naziva i ekotoksikologijom životne sredine, s tim da to uključuje i efekte hemikalija na životnu sredinu i na čovjeka (Hodgson i sar., 1998). Ekotoksikološke procedure jako su bitne i imaju zadatak da utvrde toksičnost nekog pesticida na eksperimentalne žive organizme, zatim da utvrde izloženost tog organizma datom jedinjenju i procjene njegov rizik. Razvoj ekotoksikologije zemljišta započeo je šezdesetih godina 20. vijeka objavljivanjem radova u kojima su uočeni negativni efekti pesticida na zemljišne beskičmenjake (Fok, 1964; Edvards, 1969, cit. Veliki, 2014). Ova zapažanja podstakla su izvođenje brojnih eksperimenata sa različitim organizmima u zemljištu, kako bi se omogućilo pravilno i pravovremeno predviđanje neželjenih efekata zagađivača na organizme koji se nalaze u zemljištu. Prvi test toksičnosti na beskičmenjake zemljišta, što uključuje korišćenje glista kao test organizma i praćenje kratkotrajnih (akutnih) odgovora kao što je preživljavanje, međunarodno je standardizovan 1984. god. (OECD, 1984). Danas su razvijeni brojni testovi za mjerenje toksičnosti pomoću eksperimenata sa glistama. Osim mjerenja mortaliteta danas se koriste i drugi brojni testovi pomoću kojih se prati i uticaj na reprodukciju, tj. na smanjenje ili povećanje reprodukcije odnosno povećanje ili smanjenje broja položenih kokona, broja izleglih mladih jedinki i njihovo ponašanje. Pored ovih prate se i fiziološke promjene, histološke promjene, biohemijske promjene itd.

Zemljište se smatra najstarijom radno proizvodnom kategorijom, kao što je poljoprivredna proizvodnja najstarija proizvodna djelatnost čovjeka ili društva. Ono predstavlja značajnu komponentu čovjekove okoline i najvažniji prirodni resurs, a jedno je od ključnih ograničavajućih faktora biljne proizvodnje. Čovjek svojim djelovanjem narušava ekosistem, a samim tim i oštećuje zemljišta kao njegov sastavni dio. Zemljište je naseljeno brojnim živim organizmima koji su važni za biološke procese. Među njima su i gliste koje imaju značajnu ulogu u zemljištu, jer učestvuju u brojnim, fizičkim, hemijskim i drugim procesima, razlaganju organskih materija. One djeluju kao regenerator zemljišta promovišući svojstva fizičkih, hemijskih i bioloških karakteristika zemljišta. Kroz razlaganje organske materije gliste oslobađaju hranljive materije u zemljište koje su lako dostupne biljkama. One

ne samo da poboljšavaju rast biljaka, već poboljšavaju otpornost i toleranciju biljaka na biotičke i abiotičke činioce. Smatraju se suštinskim dijelom zajednica faune zemljišta. Zbog svoje uloge u razgradnji i mineralizaciji organske materije, glista povećava dostupnost hranljivih materija (Brown et al., 2004). Kreću se kroz dublje slojeve zemljišta, izgrađuje brojne hodnike i time povećavaju udio makropora i poboljšavaju aeraciju i upijanje vode, što je od velikog značaja za zemljište. Gliste su poznate kao ključna vrsta (Lions, K.G., 2005) i smatraju se inženjerima ekosistema (Hale et al., 2008; Jones et al., 1994; Wright and Jones, 2006) koji igraju značajnu ulogu u oblikovanju strukture zemljišta i kruženju hranljivih materija (Blouin et al., 2013). One su uobičajeni organizmi u zemljištu u većini okruženja i igraju važnu ulogu u poboljšanju strukture i plodnost zemljišnih ekosistema (Bartlett et al., 2010, cit. Wang et al., 2012). Značaj kišnih glista u ekosistemu je vrlo rano dokumentovao Aristotel, Grčki filozof koji ih je nazvao "creva zemlje", a zatim Čarls Darwin 1881. godine istakao je njihovu ulogu u razgradnji mrtvih biljnih i životinjskih materija.

Jones et al. (1994, cit. Pelosi, 2014) su gliste označili kao inženjere ekosistema, zbog njihove važne uloge u razvoju i održavanju fizičko-hemijskih svojstava zemljišta pretvaranjem biorazgradivih materijala i organskog otpada u humus bogat hranljivim materijama. Zapremina zemljišta na koju direktno utiču gliste naziva se drilosfera (Bouche, 1977; Lavelle, 2002). Drilosfera se također može nazvati žarištem zemljišta koje ima pozitivan efekat, uticaj na funkcije ekosistema, kao što su kruženje hranljivih materija i rast biljaka (Brown et al., 1999; Scheu, 2003; Van Groenigen i sar., 2014). Gliste su poznate i kao fizički inženjeri jer imaju kapacitet da grade stanište za druge organizme (Jones et al., 1994; Lavelle et al., 1997, 2016).

Količina glista u zemljištu pokazuje opšti zdravstveni kvalitet ekosistema zemljišta i nivo bezbjednosti životne sredine (Ksiao et al. 2004). Prekomjerna upotreba pesticida dovodi do zagađivanja zemljišta, a samim tim i do uništavanja glista koje su domaćini zemljišta i na taj način dovode do smanjenja njegove plodnosti. Za razliku od mnogih drugih organizama u zemljištu koji su zaštićeni po debeloj kutikuli na spoljašnjoj strani tijela, gliste su posebno osjetljive na hemikalije u zemljištu (Lanno et al., 2004; Nahmani et al., 2007). Glavne prakse koje utiču na populacije glista su upotreba hemikalija, đubriva, upotreba različitih agrohemijskih materija, uzgoj i usjev (Edwards and Lofti, 1977; Edwards and Bolen, 1996; Kladvik, 2003). Mnoge agrohemijske materije kao što su pesticidi, teški metali i precipitacija kiselih kiša dopijaju u zemljište i štetno utiču na zemljišnu floru i faunu. Ove hemikalije direktno utiču na plodnost kišnih glista, smanjuju njihovu aktivnost, smanjuju njihov broj i na kraju izazivaju mortalitet kišnih glista (Edwards i Bohlen, 1996; Duiker i Stehouver, 2007). U poređenju sa površinama zahvaćenim štetočinama, više od 95% količine primijenjenih herbicida i 98%

insekticida su dospeli do neciljanih mikroorganizama u zemljištu (Miller, 2004). Poznato je da samo 0,1 do 0,3 % upotrebljene količine pesticida dolazi do ciljnih organizama, dok se preostali dio "izgubi" u životnoj sredini (Pimentel and Levitan, 1986; van der Werf, 1996, cit. Šunjka, 2012). Herbicidi su zbog intenzivne upotrebe i dugog perioda razlaganja najveći zagađivači zemljišta. Na dubini od 15 cm mogu se naći u koncentraciji od 40-80% od primarno nanijete količine. Većina organofosfornih jedinjenja, zbog hidrolitičkog razlaganja, u zemljištu postaje inaktivna u toku jedne godine.

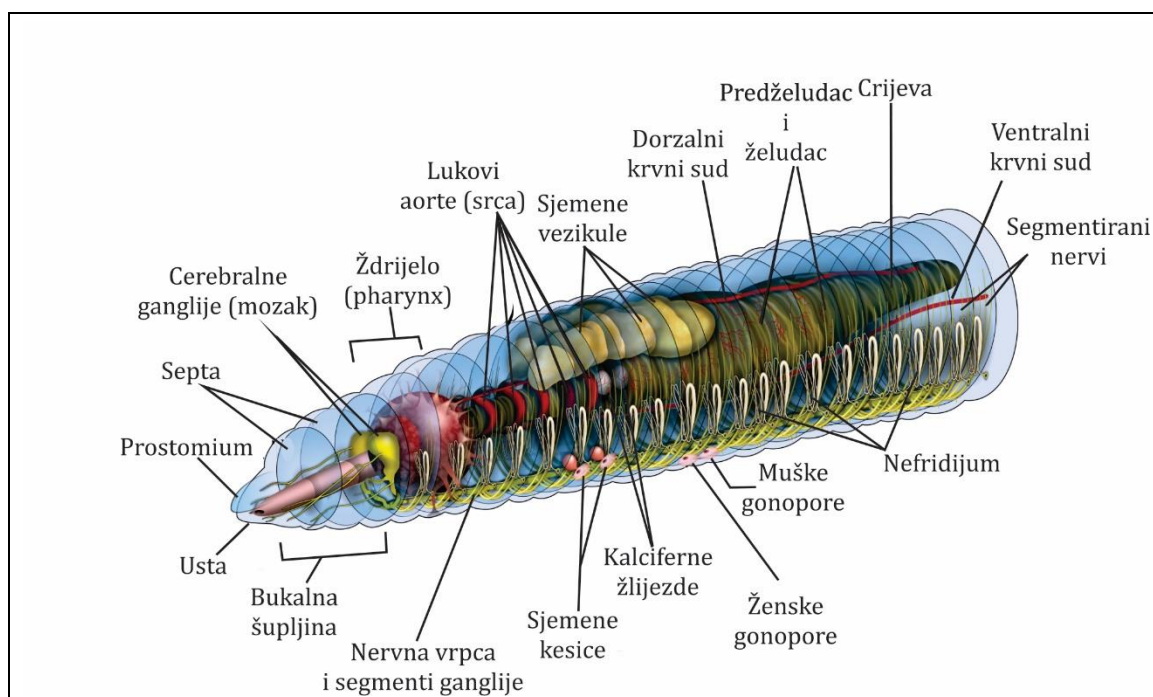
Korišćene kišnih glista, kao test organizama, za ispitivanje toksičnosti je preporučena od strane Evropske zajednice (EC, 2004), jer se one smatraju kao preferirani bioindikatori za procjenu životne sredine, zdravstvenog stanja i hemijskog zagađenja (Venkatesvara Rao i Kavitha, 2004; Zhou et al., 2007; Rajneke i Rajneke, 2007, cit. Reddy et al., 2008). Uloga glista u ovakvim istraživanjima je dvostruka. Osim toga što su korisni organizmi, oni se koriste za dobijanje informacija o kvalitetu životne sredine. U ekotoksikološkim istraživanjima vrsta *E. fetida* uzima se kao standardni test organizam. Organizacija za ekonomsku saradnju i razvoj (*Organisation for Economic Co-operation and Development* – OECD) preporučuje ovu vrstu gliste za laboratorijska istraživanja, jer je jako osjetljiva na hemikalije i ima dobru sposobnost bioakumulacije organskih i neorganskih jedinjenja. U istraživanju umjesto vrste *Eisenia fetida* korištena je vrsta *Lumbricus rubellus*.

Posljednjih godina poljoprivredna proizvodnja je nezamisliva bez upotrebe pesticida. Često dolazi do njihove prekomjerne upotrebe, što ima brojne štetne posljedice na životnu sredinu, samim tim i na zemljište. Nekontrolisana primjena pesticida utiče na smanjenje plodnosti zemljišta, jer dovodi do njegovog zagađivanja. Pored toga dovodi do poremećaja ravnoteže između flore i faune, promjene njegove strukture.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Gliste-biologija i ekologija

Gliste ili kišne gliste su životinje koje pripadaju redu *Oligochaeta*, koji ima oko 8000 vrsta, koje su grupisane u oko 800 rodova. Jedna od važnih porodica terestričnih glista u Evropi su *Lumbricidae*. Mogu se naći u mnogim regionima svijeta, osim u pustinjama i oblastima koje su stalno pod ledom i snijegom. Veličine odraslih kišnih glista su veoma različite i mogu biti 10 mm duge i 1 mm široke, do najvećih koje mogu biti 3 m duge i preko 25 mm široke, a jedna od najvećih je *Megascolices australis*. Tijelo gliste ima osnovni oblik koji je cilindričan i podijeljen je u niz segmenata. Osim na prvom i zadnjem segmentu, svaki segment nosi parne čekinje, a one se nazivaju bočne heta. One predstavljaju najčvršće dijelove organizma gliste i služe im za oslanjanje pri kretanju. Na svakom segmentu neke vrste mogu imati četiri para heta ili više od osam, tako ponekad formiraju kompletan krug oko segmenta i njihova je uloga u lokomociji i kopulaciji. Usni otvor je smješten na prvom segmentu, a mesnati dio prvog segmenta naziva se prostomium. On ima i čulnu ulogu, prije svega hemijsku i na njemu nema heta. Način povezivanja peristomijuma i prostomijuma je jedan od sistematskih karakteristika, pa se tako razlikuje nekoliko tipova prostomijuma: epilobičan, prolobičan, tanilobičan i zigolobičan (prema Mršiću, 1991, cit. Sekulić, 2017).



Slika 1. *Lumbricus rubellus* – građa prednjeg dijela gliste (Izvor: https://en.wikipedia.org/wiki/Earthworm#/media/File:Earthworm_head.svg)

Svaki od segmenta glista jasno je odvojen i postoje otvori koji pomažu razmjenu materije između njih. Tijelo gliste je specifično i kroz cijelu duž se pruža krvotok, nervni sistem i probavni organi. U slučaju da dođe do presijecanja tijela, opna na prekinutom segmentu se sasvim zatvara i prednji dio u kojem je smješteno srce, mozak i organi za varenje nastavlja da živi bez većih problema. Zahvaljujući načinu ishrane glista ima veoma jake i mišićave organe za varenje, koji se sastoje od ždrijela, jednjaka, voljke, želuca i crijeva. Ždrijelo kao pumpa usisava, miješa i sokovima napaja hranu, zatim hrana ide kroz jednjak u kojem se nalaze žlijezde koje luče kalcijum-karbonat i tako neutralizuju eventualnu kiselost hrane. Na jednjak se nastavlja želudac, gdje jake mišićne kontrakcije melju hranu zajedno sa mineralnim česticama koje su unijete zajedno sa hranom. U crijevu se, uz pomoć enzima završava varenje hrane. Na crijevu se nalazi dorzalno uzdužno ulegnuće u vidu žlijeba (tiphlosolis) i služi da se poveća apsorpciona površina crijeva (Blesić, 2002, cit. Sekulić, 2017).

Gliste nemaju pluća, ni neki drugi organ za disanje, već kiseonik asimiliraju preko kože. Iz tog razloga prinuđene su da žive u vlažnim zemljištima. Na površinu izlaze samo noću, jer je tada isparavanje tijela najmanje. Disanje se obavlja preko mreže kapilara koja se nalazi u kutikuli i koja omogućava da krv veže kiseonik, a eliminiše ugljen dioksid. Sa smanjenjem količine kiseonika gliste postaju manje aktivne i blijedog tijela. Za vrijeme kiše gliste bježe iz zemlje zbog osiromašenja kišnice koja cijedeći se kroz zemljište gubi kiseonik. Mrtve gliste u baricama nisu stradale od vode, već ih je ubila svjetlost koja im predstavlja jedan od najvećih neprijatelja. Ukoliko su gliste izložene svjetlosnim zracima, naročito ultraljubičastim dolazi do kompletne paralize organizma poslije jednog sata, a poslije nekoliko sati i do smrti.

Gliste imaju zatvoren krvni sistem. Zatvoreni cirkulacijski sistem ima pet glavnih krvnih sudova: dorzalni krvni sud, koji se nalazi iznad digestivnog trakta; ventralni sud, koji se nalazi ispod digestivnog trakta; subneuralni sud, koji se nalazi ispod ventralne nervne vrpce i dva lateroneuralna suda koja se nalazi sa obe strane nervne vrpce (Sims i Gerard, 1985, cit. Sekulić, 2017). U svakom članku gliste nalaze se parni miješkovi ispunjeni tečnošću u kojoj se nalazi ameboidne ćelije. Ovaj, uslovno rečeno organ ima ulogu sličnu krvotoku i zove se coelom. Svaki segment je odvojen opnom u kojoj postoje perforacije dovoljne za protok tečnosti kojom se prenose hranjive ali i štetne materije. Štetne materije se iz coeloma izlučuju preko nefridija. Nefridije su organi za izlučivanje kojih po par postoji u svakom segmentu, sem u prva tri i u posljednjem. Kako gliste posjeduju višestruk način izlučivanja štetnih materija i kao činjenjici da ne može da oboli, bilo bi logično da je besmrtna. Međutim, glista samo ne pokazuje nikakve znakove starenja.

Nervni sistem glista sastoji se iz tri dijela, centralnog nervnog sistema, perifernog nervnog sistema i simpatičkog nervnog sistema. Centralni nervni sistem se sastoji iz cerebralne ganglije ili supra-ždrijelne ganglije, sub-ždrijelne ganglije, okoloždrijelnih konekata i ventralne nervne vrpce, a ovo znači da se formira nervni prsten oko ždrijela. Periferni nervni sistem je izgrađen od nerava koji nastaju od ganglija. Simpatički nervni sistem se sastoji od nervnih pleksusa u epidermisu i digestivnom traktu. Ekskretorni sistem sadrži par nefridija u svakom segmentu, osim u prva tri i u posljednjem (Farabee, 2012, cit. Sekulić, 2017). Postoji tri vrste nefridija: integumentalne, septalne i ždrijelne. Metanefridija se sastoji od lijevog nefrostoma koji se otvara u celom. Od njega polazi kanal u naredni segment i otvara se ventrolateralno, nefridioporum u spoljašnju sredinu. Gliste su hermafroditi, odnosno imaju i muške i ženske polne organe. Polni sistem je kao i kod ostalih hermafrodita uređen tako da se parenje obavlja recipročnim parenjem dvije jedinke koje se spajaju i međusobno razmjenjuju spermatozoide. Najčešće dolazi do oplodjenja u fizičkom kontaktu jedinki. Prilikom jednog polnog kontakta dviju glista razmijeni se velika količina sperme koja ostaje u sjemenim mjehurima u rezervi i koja se kasnije upotrebljava kad god je to potrebno. Na taj način jedno parenje služi za veći broj oplodjenja. Polni organi su smješteni na prednjem dijelu gliste, od 9. do 15. segmenta. U blizini polnih organa nalazi se karakteristično zadebljanje na tijelu zrele gliste, koje se naziva klitelum i u njemu su smještene sluzne žlijezde. Tokom parenja klitelumi luče velike količine sluzi koja pomaže da spermatozoidi prelaze iz jednog sjemenog otvora u drugi. Kada dođe do oplodnje od kliteluma se stvara mali sluzavi prsten koji se kroz tijelo kreće prema jajnicima odakle preuzima jajašca, te sa njima odlazi do sjemenalnog mjehura gdje se preuzima dio spermatozoida. Od ove sluzaste mase se formira kokon pun hranjive tečnosti u kojoj se od oplodjenih jaja razvijaju mlade gliste. Broj mladih glista koje izlaze iz jednog kokona kreće se od 2 do 20, u zavisnosti od vrste. Nakon 14 do 21 dan kokoni se otvaraju i iz njih izlaze mlade gliste. Mlade gliste u kokonu mogu da provedu i do 18 mjeseci, čekajući povoljan trenutak da se izlegu. Kokon služi da zaštiti potomstvo od niske temperature zimi i visoke temperature ljeti. Nakon izlaska iz kokona gliste su bijele i tanke, odmah sposobne da se samostalno hrane i kreću, ali nisu polno sposobne. Polnu sposobnost dostižu od 60-og do 90-og dana. Punu veličinu postižu za oko godinu dana. Prosječan životni vijek u poljskim uslovima procjenjuje se na četiri do osam godina, a većinu vrtnih sorti od jedne do dvije godine. Iako kokoni mogu biti proizvedeni u skoro svako doba godine, proizvodnja je obično sezonska. U umjerenim regionima, najviše kokona se proizvodi u proljeće ili početkom ljeta, i nešto manje u jesen. Odrasla polno zrela glista u optimalnim uslovima može da proizvede od 1200 do 1500 potomaka godišnje (slika 2).



Slika 2. Izgled kokona i tek ispiljenih glista (<https://www.google.com>, 15.02.2023.)

2.2 Značaj glista za zemljište

Gliste pružaju ključne funkcije zemljištu koje favorizuju mnoge pozitivne ekosistemske usluge. One su uobičajeni organizmi u zemljištu u većini okruženja i igraju važnu ulogu u poboljšanju strukture i plodnost zemljišnih ekosistema (Bartlett et al., 2010). Oni modifikuju zemljište organske materije i hemijski i fizički, olakšavaju formiranje i stabilizaciju zemljišnih agregata i poboljšavaju poroznost zemljišta (Lavelle i Spain, 2001, cit. Wang et al., 2012). Gliste mogu predstavljati 60–80% ukupne životinjske biomase u zemljištu (Ouellet et al., 2008; Joukuet et al., 2010 cit. Wang, 2012). One su posebno podložne hemikalijama u zemljištu, za razliku od mnogih drugih organizama koji su zaštićeni gustom kožicom na spoljašnjoj strani tijela (Lanno et al., 2004; Nahmani et al., 2007, cit. Wang et al., 2012.). Možda nijedan drugi živi organizam u zemljištu nije toliko važan kao kišna glista u povećanju zdravlja zemljišta. Gliste povećavaju aeraciju zemljišta, infiltraciju, strukturu, kruženje hranljivih materija, kretanje vode i rast biljaka.

Gliste su jedan od glavnih razlagača organske materije. Hrane se mikroorganizama koji žive na organskoj materiji u zemljištu. Kada se kreću kroz zemljište jedući, gliste formiraju cjevaste kanale ili jazbine. Ovi kanali mogu dugo trajati u zemljištu. Kanali glista povećavaju poroznost zemljišta što povećava količinu vazduha i vode koji ulaze u zemljište. Povećana poroznost takođe smanjuje nasipnu gustinu i povećava razvoj korijena. Izmet ili odliv glista povećavaju plodnost zemljišta jer sadrži azot, fosfor, kalijum i magnezijum. Gliste proizvode vezivne agense koji takođe poboljšavaju strukturu zemljišta i povećavaju stabilnost agregata.

Gliste uspijevaju u gotovo svim tipovima zemljišta. S obzirom na način života, morfološke i fiziološke osobine, kao i osobine životnog ciklusa, gliste se dijele na tri osnovne ekološke grupe: epigeične, endogenične, anecične.

Epigeične vrste glista žive na površini zemljišta, ispod biljnih ostataka ili druge organske materije. Rijetko odlaze u dublje slojeve zemljišta. Njihova staništa su obično stajnjaci ili stelje i zbog toga imaju slab direktan efekat na strukturu zemljišta. Ove vrste su malih dimenzija, najčešće manje od 7,5 cm kada su skroz odrasle, crvenkasto-braon boje. Brzo se kreću i imaju kratke životne cikluse. Imaju veliku stopu reprodukcije, što predstavlja adaptaciju na ekstremno promjenljive uslove staništa na površini zemljišta. Hrane se raspadnutim biljnim materijalom ili drugom organskom materijom. Neke od vrsta koje pripadaju ovoj grupi su: *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Lumbricus rubellus*, *Eiseniella tetraedra*, *Dendrobaena rubida*.

Endogeične vrste glista žive u dubljim mineralnim zemljištima. Kopaju vodoravne hodnike u zemljištu koji nisu permanentni, najčešće na dubini od 10-15 cm od površine zemljišta. Mogu biti različitih veličina i boja (ružičaste, bjelkaste ili se čine tamnijim zbog sadržaja crijeva) i sporo se kreću. Hrane se zemljištem, više ili manje obogaćenim organskim materijama. Po dužini života i trajanju životnog ciklusa nalaze se u sredini između epigeičnih i anecičnih. Tipični predstavnici ove grupe su: *Aporrectodea rosea*, *Octolasion tyrtum* i *Allolobophora caliginosa*.

Anecične vrste glista žive duboko u zemljištu oko 3 m. Vrste ove grupe su velike, odrasli su obično dugački od 12,5-20 cm. Imaju crvenkasto-braon boju i veće su od predstavnika druge dvije grupe. Brzo se mogu uvući u svoje hodnike, ali su generalno veoma spore. Imaju relativno dug životni vijek sa dugim životnim ciklusom. U okviru ove grupe nalaze se vrste kao što su: *Aporrectodea trapezoids*, *Allolobophora longa* i *Lumbricus terrestris*.

Ekološka kategorija vrste je u korelaciji sa načinom života i ponašanja koji su važni faktori u izloženosti kišnih glista zagađivačima. Koncentracija zagađujućih materija se mijenja u zemljištu, a u zavisnosti od dubine na kojoj se nalaze u zemljištu, gliste će biti izložene različitim koncentracijama zagađujućih materija. Koncentracija pesticida u zemljištu je promjenjiva, zbog razlika u procesima transporta, transformacije, adsorpcije i razgradnje pesticida. Adsorpcija pesticida u zemljištu, odnosno njegovo vezivanje za čestice zemljišta, primarni je proces kojim zemljište zadržava pesticide. Pesticidi koji dođu na površinu zemljišta i adsorbuju se usljed različitih transportnih procesa, kao što je ispiranje, dospijeće u dublje slojeve zemljišta. Međutim u većini slučajeva koncentracija pesticida u zemljištu smanjivaće

se povećanjem dubine zbog razgradnje i razrjeđenja. Zbog toga su gliste koje se hrane u površinskim slojevima zemljišta izložene većim koncentracijama pesticida, u odnosu na vrste koje se hrane u dubljim slojevima. Tako na primjer anecične vrste će biti izložene manjim koncentracijama, jer se nalaze u dubljim slojevima zemljišta u odnosu na epigeične vrste koje se hrane na površini zemljišta mogu biti jako izložene djelovanju pesticida. Sa druge strane endogeične vrste će biti izložene manjim koncentracijama, jer se nalaze u dubljim slojevima zemljišta u odnosu na epigeične vrste koje žive u površinskom sloju. Zbog toga je u ekotoksikološkim istraživanjima neophodno voditi računa o ekološkoj kategoriji kojoj pripada svaka vrsta glista.

2.3. Pesticidi i sudbina pesticida u okruženju

Pesticidi (lat. *pestis* – kuga, *occidere* – ubiti) su hemijske supstance sintetičkog ili biološkog porijekla. Oni služe za suzbijanje, odbijanje, regulisanje rasta, uopšteno za kontrolu neželjenih efekata ciljanih organizama, Upotreba pesticida ima široku primjenu u poljoprivrednoj proizvodnji, šumarstvu i javnom zdravstvu. Pesticidi su proizvodi hemijskog ili biološkog porijekla koji su namjenjeni za zaštitu ekonomski značajnih biljaka i životinja od štetnih insekata, korova, biljnih bolesti i uopšte od drugih štetnih organizama. U pesticide se ubrajaju i regulatori rasta, defolijanti, desikanti i supstance koje se koriste prije ili poslije žetve, da bi se spriječilo propadanje prilikom skladištenja i transporta (FAO, 1986). Upotreba pesticida sa sobom nosi negativne posljedice po ekosistem u kom se primjenjuju i na okolne ekosisteme. Smanjenje upotrebe pesticida jedan je od glavnih temelja održive poljoprivrede i ideja održivog razvoja. Prema hemijskim osobinama pesticidi se dijele na: neorganske supstance (sumpor i jedinjenja bakra) i organske sintetičke supstance, a pesticidne osobine mogu imati i prirodne organske supstance, koje potiču iz biljaka, bakterija i gljiva (Antić, 2018, cit. Petrić, 2021). Prema mogućnosti usvajanja od strane biljaka, pesticidi mogu biti kontaktni i sistemični. Kontaktni pesticide djeluju samo na mjestu na koje dospiju na tretiranoj površini, najčešće biljni organ (list, plod ili stablo). Sistemične pesticide biljka usvaja i oni se nakon apsorpcije translociraju na manju ili veću udaljenost od mjesta apsorpcije i stoga imaju „produženo djelovanje“, te tako omogućavaju dugotrajniju zaštitu. Pesticidi mogu biti formulisani u različitim formulacijama, koji u svom sastavu imaju jednu ili dvije aktivne supstance i neke dodatne interne materije. Kod primjene pesticida jako je bitan i važan izbor formulacije zbog vrste tretiranja. Neke od najčešćih formulacija su: kvašljivi prašak (WP), koncentrovana suspenzija (SC), koncentrat za emulziju (EC), koncentrovani rastvor (SL), vododisperzne granule (WG), granule i mikrogranule (G, MG).

EPA je 1978. godine objavila prvi popis pesticida kojima se ograničava upotreba (Ware, 1994, cit. Sekulić 2017). Broj jedinjenja koja imaju osobine pesticida se stalno povećava. Prema podacima koje izdaje EPA, 1991. godine bilo je registrovano 681 pesticidna aktivna materija (Ware, 1991), dok je 2009. godine registrovano čak 1436 pesticidnih aktivnih materija (Tomlin, 2009, cit. Sekulić, 2017).

Ulaskom pesticida u životnu sredinu, oni se raspoređuju između četiri glavne komponente: vode, vazduha, zemljišta i živih organizama i prolaze kroz različite procese. Tri osnovna procesa su: adsorpcija, translokacija i razgradnja. Adsorpcija je primarni proces kojim zemljište zadržava pesticide i definiše se kao vezivanje pesticida na česticama zemljišta. Količina pesticida koja se adsorbuje na čestice zemljišta zavisi od vrste, hemijskih svojstva pesticida (rastvorljivost u vodi, polarnost), sadržaja vlage u zemljištu, pH zemljišta, teksture zemljišta. Za većinu pesticida sadržaj organske materije je najvažnije svojstvo koje kontroliše stepen adsorpcije. Stepem adsorpcije je veći što je veća količina organske materije. Postoji nekoliko načina za translokacije pesticida u životnoj sredini, kao što je isparavanje (kretanje vazduhom), kretanje vodom po površini zemljišta (oticanje), kretanje vodom i dislociranje hemijskih komponenti kroz zemlju (ispiranje) i kretanje pesticida kroz biljke i životinje. Isparavanje je proces kojim se čvrste materije ili tečnosti pretvaraju u gas, dajući pesticidima mogućnost translokacije sa početnog mjesta primjene. Ispiranje je kretanje pesticida u vodi kroz zemljište. Faktori koji utiču na to da li će pesticidi dospjeti u podzemne vode, uključuje svojstva zemljišta i pesticida, kao i njihovu interakciju sa vodom poslije navodnjavanja ili padavina. Ispiranje se može intenzivirati ako je pesticid rastvorljiv u vodi, kada je zemljište pjeskovito, ako dođe do padavina odmah nakon primjene pesticida, ako se pesticid čvrsto ne vezuje za čestice zemljišta. Oticanje je kretanje pesticida u vodi preko nagnute površine. Oticanje je moguće izvesti kada velika količina vode dopiše u zemljište i to mnogo brže nego što ta voda može da se adsorbuje u zemlju. Adsorpcija je dopijevanje pesticida u žive organizme (biljke, životinje, mikroorganizme). Mnogi pesticidi se vrlo brzo razlažu nakon adsorpcije. Pesticidi u životnoj sredini su podložni razgradnji. Idealno je kada pesticid u tretiranom okruženju i tretiranoj površini ostaju dovoljno dugo da proizvede željeni efekat, a zatim da se razgradi u bezopasna jedinjenja.

Postoje tri osnovna načina razgradnje pesticida: biološki (razgradnja uz pomoć mikroorganizama), hemijski (razlaganje hemijskim reakcijama, kao što su hidroliza i redoks reakcije) i fotohemijski (razgradnja ultraljubičastom ili vidljivom svjetlošću).

2.4. Ekotoksikološka istraživanja toksičnosti pesticida na gliste

Termin “ekotoksikologija“ prvi put upotrebljava naučnik Rene Truhaut 1969. godine. Definiše je kao naučnu disciplinu koja opisuje toksične efekte različitih hemijskih agenasa na žive organizme, posebno na ljude. Ekotoksikologija se tako smatra kao istraživanje o prirodnom okruženju i istraživanje o interakcijama toksičnih hemijskih supstanci sa pojedinim živim organizmima. Današnja ekotoksikologija obuhvata različite metode i principe koji mogu da utvrde i procjene uticaje različitih supstanci. Ona ima za cilj da predvidi efekte potencijalnih toksičnih agenasa na prirodne ekosisteme i neciljane organizme.

Posljednjih godina počelo je masovno zagađivanje životne sredine. Negativno djelovanje čovjeka na životnu sredinu dešava se tako brzo da priroda ne može sama da se obnovi i oporavi. Proučavanja štetnih efekata (hemijskih jedinjenja) na različite konstituente ekosistema u životnoj sredini, za šta je čovjek najodgovorniji, postaju izuzetno značajna. Veliki broj organizama koji živi u zemljištu, uključujući i korisnu zemljišnu faunu, rutinski su tako izloženi visokim nivoima zagađenja. Pesticidi su igrali veliku ulogu u obezbjeđivanju i unapređenju proizvodnje hrane, ali su i donijeli mnogo negativnih uticaji na životnu sredinu i ekosistem (Pereira et al., 2009).

Prekomjerna upotreba pesticida može da kontaminira zemljište i na taj način dovede do ekološke neravnoteže u zajednici zemljišnih organizama, što za posledicu može dovesti do ugrožavanja održivosti ekosistema. Početkom primjene pesticida isti su se koristili u većim količinama, a danas se svako jedinjenje podvrgava veoma rigoroznoj kontroli da bi se potvrdilo da je rizik po zdravlje ljudi i životnu sredinu sveden na minimum. Prilikom utvrđivanja ekotoksikoloških svojstava nekog jedinjenja, posebno se prate toksični efekti na različite organizme. Ekotoksikologija se bavi proučavanjem toksičnih efekata koje hemijske supstance mogu imati na žive organizme. To je multidisciplinarna nauka koja uključuje elemente ekologije, toksikologije i hemije. Ekotoksikološki testovi omogućavaju da se otkrije put zagađivanja i da se shvati njegova interakcija sa životnom sredinom.

Pesticidi su prilično dobro prepoznati kao isplativ metod kontrole štetočina, ali ove hemikalije su toksične za druge neciljane i korisne vrste. Oni se ili direktno primjenjuju na zemljište za kontrolu zemljišta od štetočina ili deponuju na zemljište tako što otiču sa listova tretiranih biljaka i ove koncentracije su dovoljno visoke da utiču na makroorganizme u zemljištu (Bezchlebova et al., 2007, cit. Reddy, et al., 2008). Pesticidi, uprkos tome što imaju nekoliko korisnih efekata na poljoprivrednu proizvodnju, predstavljaju neke stalne probleme u izazivanju zagađenja u životnoj sredini. Primjena pesticida u poljoprivredi predstavlja ozbiljnu

opasnost za neciljane organizme i ekosistem, što dovodi do sve veće zabrinutosti širom svijeta zbog neselektivne upotrebe takvih hemikalija (Venkateswara Rao, 2006; Sparling i Fellers, 2007; Kathuria, 2007, cit. Reddy, et al., 2008). Pesticidi čak i kada su prisutni u malim količinama, njihova raznovrsnost, toksičnost i postojanost negativno utiču na ekološki sistem.

Ekotoksikologija zemljišta se bavi korištenjem različitih testova kojim se proučavaju, procjenjuju i kvantifikuju efekti otrovnih supstanci na diverzitet i funkcije kod biljaka i životinja u zemljištu. Efikasni testovi toksičnosti treba da budu tačni, brzi, jednostavni i primjenjivi. Svrstavamo ih u tri grupe. Prva grupa je u pogledu vremena izlaganja (akutna ili hronična), druga grupa u pogledu posmatranog efekta (mortalitet, smanjen rast ili promjenu u reprodukciji), treća grupa u pogledu efektivnog odgovora (letalni ili subletalni). Podaci dobijeni u laboratorijskim testiranjima toksičnosti se koriste da se predvide potencijalni uticaj pesticida na gliste u poljoprivrednom zemljištu i da se procijeni potencijalna opasnost industrijskih hemikalija za kopnene ekosisteme. Ekotoksikološka istraživanja zemljišta zasnivaju se na proučavanju negativnih efekata zagađivača na komponente njegovog ekološkog sistema, te se od beskičmenjaka gliste koriste kao najčešće korišćeni modelni organizmi. One se brzo razmnožavaju, lako održavaju i uzgajaju u laboratorijskim uslovima. Dosta su rasprostranjene, imaju značajnu ekološku ulogu i u stalnom su kontaktu sa zemljištem. Populacija kišnih glista (*Lumbricidae*) čine važan dio biocenoze zemljišta. Zbog svog načina života, kao i biohemijskih i fizioloških svojstava, gliste su pogodni organizmi za biomonitoring zemljišta i čine značajan dio u kopnenoj ekotoksikologiji (Sanchez-Hernandez, 2006, Veliki, 2014). Vrste glista koje se koriste u ovakvim istraživanjima uglavnom su iz porodice *Lumbricidae*. Najčešće su korišćene *E. fetida* i *E. Andrei*. U ovom istraživanju umjesto vrste *Eisenia fetida* korištena je vrsta *Lumbricus rubellus*. U mnogim dosadašnjim studijama o kišnim glistama istraživani su mnogi zagađivači, kao što su pesticidi, metali, policiklični aromatični ugljovodonici itd.

Vrste kišnih glista kao što je *Eisenia fetida* smatraju se pogodnim biomonitorima za određivanje ekološke opasnosti od kontaminiranog zemljišta teškim metalima i hemikalijama, zbog niske cijene, lakog kultivisanja i standardizacije akutnih i subhroničnih ekotoksikoloških testova (Lanno et al., 2004; Xiao et al., 2006, Castellanos and Hernandez, 2007, cit. Reddy, et al., 2008). Takođe je lako kvantifikovati različite parametre životnog ciklusa kišnih glista, kao što su rast, reprodukcija, biohemijski i histološki odgovori (Booth et al., 2000; Venkateswara Rao et al., 2003a, cit. Reddy, et al., 2008). Morfološke i patohistološke studije mogu signalizirati štetni efekat organizma, koji su rezultat prethodne ili tekuće izloženosti toksičnosti agensa.

2.5. Toksičnost pesticida na gliste

Toksičnost pesticida je jedna od važnih osobina koja karakteriše djelovanje nekog pesticida na živi organizam. Toksičnost nekog jedinjenja zavisi od različitih faktora, od fizičkih i hemijskih osobina aktivne supstance, od samog organizma na koji pesticid djeluje, koncentracije pesticida, dužine izloženosti, temperature vode, vazduha i zemljišta, pH vode i zemljišta, sastava zemljišta i drugih. Toksičnost se ispituje uglavnom na miševima, pacovima ili kunićima. Definicija pojma toksičnosti ili otrovnosti nije laka. Neki naučnici smatraju da toksični efekti neke supstance zavise od doze, dok naravno različiti organizmi drugačije reaguju na isto hemijsko jedinjenje. Danas, pod otrovom se podrazumijevaju hemijske supstance koje su stvorene izvan živih organizama ili one supstance koje pak luče živi organizmi, toksini. Unijeti otrovi u organizam čovjeka ili zadržani toksini u organizmu mogu prouzrokovati teška oštećenja različitih organa ili u krajnjem slučaju smrt. Pesticid se ne mora tretirati kao otrov, ali svakodnevno unošenje određene količine datog jedinjenja dovodi do ispoljavanja toksičnog dejstva. Za svaki pesticid postoji određena količina, takozvana granična količina, ispod koje taj pesticid u organizmu ne prouzrokuje dejstva koja se mogu registrovati na današnjem nivou metodike. Ako želimo izraziti otrovnost pesticida koristi se letalna doza. Govori se o srednjoj letalnoj dozi LD_{50} . Srednja letalna doza predstavlja količinu toksične supstance izražene u mg/kg tjelesne težine tretiranih organizama koja izaziva 50% smrtnosti. Možemo reći da je podatak o LD_{50} jedna od najvažnijih karakteristika pesticida, ali ga treba upotrebljavati zajedno sa ostalim karakterističnim toksičnim osobinama pesticida. Pored srednje letalne doze možemo govoriti o minimalnoj letalnoj dozi i maksimalnoj letalnoj dozi. Minimalna letalna doza MDL ili LD_{16} predstavlja najmanju količinu otrova koja će u roku od 24 sata prouzrokovati smrt 16% tretiranih organizama. Maksimalna ili tolerantna dozvoljena doza MDK predstavlja količinu pesticida izražene u miligramima na kilogram tjelesne težine koju čovjek može da konzumira svakodnevno do kraja života bez posljedica na organizam. Postoji još i apsolutna smrtna koncentracija LC_{100} koja predstavlja količinu otrovne supstance koja će u određenom vremenskom period dovesti do 100% smrtnosti kod izloženih individua.

Toksičnost za gliste predstavlja se kao akutna toksičnost- LC_{50} izražena u mg a.s./kg zemljišta nakon ekspozicije glista u trajanju od 14 dana i kao hronična toksičnost za reprodukciju –NOEC, u mg a.s./kg zemljišta. Vrijednosti toksičnosti su prikazane u prilogu master rada, a analizirani podaci u tabeli 1 i tabeli 2.

Tabela 1. Analiza toksičnosti insekticida za kišnu glistu (analizirano prema izvoru: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfords)

Stepen otrovnosti	LC ₅₀ (mg/kg)	Broj analiziranih insekticida
Jaka otrovnost	< 10	4
Otrovnost	10 – 100	6
Štetnost	100 - 1000	19
-	>1000	7
Ukupno		36

Tabela 2. Analiza toksičnosti herbicida za kišnu glistu (analizirano prema izvoru: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfords)

Stepen otrovnosti	LC ₅₀ (mg/kg)	Broj analiziranih herbicida
Jaka otrovnost	< 10	0
Otrovnost	10 – 100	4
Štetnost	100 – 1000	41
-	>1000	28
Ukupno		73

2.6. Insekticidi

Insekticidi su grupa pesticida namijenjena za suzbijanje i uništavanje štetnih insekta, a takođe se koriste za dezinfekciju na javnim površinama, te u veterinarskoj medicini i šumarstvu. To su hemijska jedinjenja, koja su sastavljena od toksičnih supstanci, nosača te supstance (talk, kaolin, voda) i pomoćne materije (koje obezbjeđuju efikasnost). Insekticidi oštećuju površinske mišićne i nervne ćelije insekata izazivajući tako ukočenost ili paralizuju organizma i na kraju smrt. Mogu i mehanički zatvoriti disajne puteve na površini tijela, uništiti crijevni trakt, zaustaviti razvoj ili transformaciju i drugo. Do danas je opisano oko 650.000 vrsta insekata, što čini oko 2/3 svih životinjskih vrsta koje žive na Zemlji. S obzirom na raznovrsno štetno djelovanje insekata, borba protiv njih vodi se u različitim područjima medicine i privrede.

Razvoj insekticida počinje u XIX vijeku, a već polovinom vijeka poznati su bili prirodni insekticidi, na primjer nikotin, piretin, rotenoid, takođe su bili poznati i preparati na bazi arsena. U Njemačkoj je prvi put 1892. godine upotrebljen prvi organski nemetalni insekticid (4,6-dinitro-2-metil-fenol antinonin). On se koristio protiv omorikovog prelca, ali se zbog svoje izrazito visoke toksičnosti nije dugo zadržao u upotrebi.

Prvi poznati insekticidi su bili neorganskog i prirodnog organskog porijekla. Sredinom prošlog vijeka pojavljuju se sintetička organska jedinjenja sa insekticidnim dejstvom, kao što su hlorovani ugljovodonici, organofosfati i karbamati, neki od njih se i danas primjenjuju.

Insekticide, kao i pesticide, možemo podijeliti u dvije velike grupe, na insecticide sa kontaktnim djelovanjem i na insekticide sa sistemskim djelovanjem. Postoji čitav niz jedinjenja koja ispoljavaju specifično djelovanje na insekte. Repelenti ili repulzivna jedinjenja su jedinjenja koja služe za odbijanje insekata, ali i grinja, ptica, glodara. Atraktanti su jedinjenja koja privlače insekte (grinje, ptice i glodare) prema određenom mjestu ili supstratu kako bi se koncentrisano skupili i tako uspješnije suzbili. Hemosterilizanti služe za izazivanje sterilnosti muških i ženskih individua kako bi se smanjile njihove populacije. Feromoni su supstance koje proizvode insekti ili se proizvode hemijskim putem, a privlače insekte suprotnog pola. Upotreba insekticida je od velikog značaja za biljni svijet. Bez upotrebe insekticida, insekti u pojedinim godinama mogu da se namnože toliko da u potpunosti unište gajene biljke.

Među insekticidima koji se koriste u poljoprivrednoj praksi, organofosforni insekticidi i sintetički piretroidi su najčešće korišćeni (Espinoza-Navaroi Bustos-Obregon, 2004, cit. Sekulić, 2017). Upotreba organofosfornih insekticida danas je uveliko smanjena, zbog zabrane upotrebe gotovo svih proizvoda koji sadrže aktivne materije hlorspirifos i diazinon, dok upotreba sintetičkih piretroida postaje sve važnija. Piretroidi su poznati po domino efektu i izraženoj početnoj efikasnosti. Piretroidna jedinjenja ispoljavaju svoje dejstvo na nervne membrane izmjenom natrijumovih i kalijumovih kanala, što rezultira depolarizacijom membrane (Hodgson i Levi, 1997, cit. Sekulić, 2017).

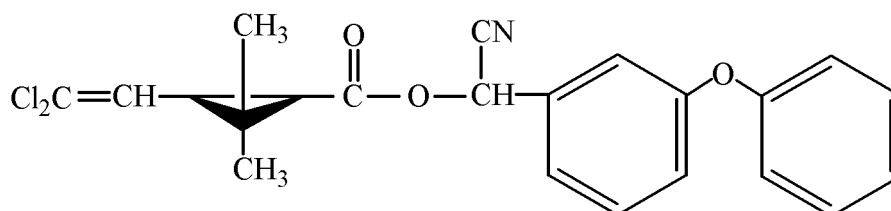
2.6.1. Cipermetrin

Insekticid cipermetrin korišten u ovom istraživanju je u obliku komercijalnog preparata pod nazivom Cipkord, koji sadrži 200 g/l preparata i formuliše se kao koncentrat za emulziju. To je kontaktni insekticid širokog spektra delovanja koji se koristi za suzbijanje štetnih vrsta insekata.

Tabela 3. Karakteristike cipermetrina (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm>, preuzeto 20.01.2023.)

Hemijske osobine cipermetrina	
IUPAC naziv	(RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
CAS naziv	cyano(3-phenoxyphenyl)methyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Empirijska formula	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Molekulska masa	416,3 g·mol ⁻¹

Cipermetrin pripada hemijskoj grupi piretroida, aktivna supstanca cipermetrin (slika 3). Cipermetrin prouzrokuje poremećaj u protoku nervnih impulsa, usljed čega kao krajnja posljedica nastaje uginuće tretiranih jedinki. Koristi se u zasadima kruške, jabuke, vinove loze protiv *Cydia pomonella*, *Lobesia botrana*, *Psylla pyri*, *Eupoecillia ambiguella*, kao i u raznim usjevima protiv *Trialeurodes vaporariorum*, *Leptinotarsa decemlineata*, *Mamestra spp.*, *Pieris brassica*, *Autographa gamma*.



Slika 3. Strukturna formula cipermetrina

2.7. Herbicidi

Herbicidi su različita hemijska jedinjenja organskog porijekla, koji se koriste za suzbijanje biljaka. Selektivnost herbicida u određenim usjevima definisana je mehanizmom njihovog djelovanja, brzinom metabolizma, dozom i načinom njihove primjene. Selektivni herbicidi uništavaju samo određene vrste biljaka, prije svega korovske biljke. Primijenjeni u pravo vrijeme, u odgovarajućoj dozi, odgovarajućim uslovima spoljašnje sredine i odgovarajućim zasadima i usjevima, selektivni herbicidi su veoma djelotvorni za gajene biljke i ne ugrožavaju ih.

Herbicid nakon primjene u biljku može doći na dva načina, preko lista ili preko korijena. Kada herbicid dospije u biljku, on je sposoban da zaustavi ili uspori neki od presudnih fizioloških procesa za rast i razvoj biljke. Za razumijevanje mehanizma djelovanja herbicida potrebno je dobro poznavati biohemijske procese u biljci. Ti procesi su jako složeni, i efekat istih herbicida se može ispoljavati na više različitih mjesta u biljci. Poremećaj jedne aktivnosti vodi do poremećaja čitavog niza procesa, pa mehanizam djelovanja herbicida možemo podijeliti u šest osnovnih grupa, a to su: inhibicija fotosinteze, biosinteze proteina, lipida i aminokiselina, inhibicija dijela ćelije i inhibicija aktivnosti auksina.

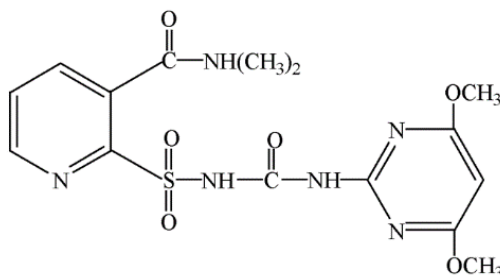
2.7.1. Nikosulfuron

Herbicid nikosulfuron korišten u ovom istraživanju je u obliku komercijalnog preparata pod nazivom Talisman, a koji sadrži 40 g/l preparata i formuliše se kao koncentrovana uljna suspenzija. To je selektivni translokacioni herbicid koji se koristi za suzbijanje travnih i nekih širokolisnih korova u usjevu kukuruza.

Tabela 4. Karakteristike nikosulfurona (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm>, preuzeto 20.01.2023.)

Hemijske osobine nikosulfurona	
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 ormula	C ₁₅ H ₁₈ N ₆ O ₆ S
Molekulska masa	410,41 g·mol ⁻¹

Sadrži aktivnu supstancu nikosulfuron (Slika 4.) iz hemijske grupe sulfonilurea. Korovi ga usvajaju preko lisne mase i korijena (ukoliko ima dovoljno vlage u zemljištu), nakon čega se brzo translocira ksilemom i floemom. Sprečavajući proces obrazovanja acetolaktat sintetaze, ova aktivna supstanca prouzrokuje inhibiciju aminokiselina valin i izoleucin, a potom stopira diobu ćelija. Kod uskolisnih korova dolazi do pojave crvenila i nekroze, a kod osetljivih širokolisnih korova do zadebljanja i deformacije meristemskog tkiva. Koristi se za suzbijanje nekih uskolisnih korova: divlji sirak (*Sorghum halepense*), koštan (*Echinochloa crus-galli*), sivi muhar (*Setaria glauca*), svračica (*Digitaria sanguinalis*), jara divlja zob (*Avena fatua*), pirika (*Agropyron repens*). Pored njih dobro suzbija i veliki broj širokolisnih korova: uzlati dvornik (*Polygonum lapathifolium*), crvena mrtva kopriva (*Lamium purpureum*), hrapavi šćir (*Amaranthus retroflexus*). Srednje dobro djeluje na slijedeće jednogodišnje širokolisne korove: bijela loboda (*Chenopodium album*), evropski mračnjak (*Abutilon theophrasti*), crna pomoćnica (*Solanum nigrum*), slatkasti dvornik (*Polygonum convolvulus*), ptičji dvornik (*Polygonum aviculare*), veliki dvornik (*Polygonum persicaria*), srednja mišjakinja (*Stellaria media*).



Slika 4. Strukturna formula nikosulfurona

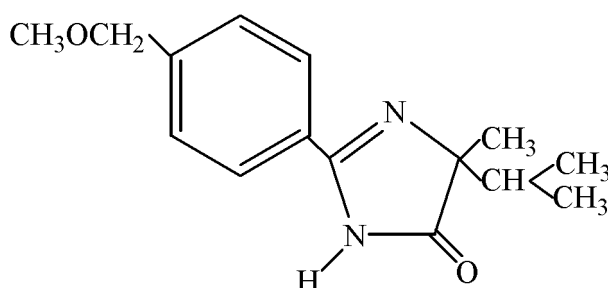
2.7.2. Imazamoks

Herbicid korišten u ovom istraživanju je u obliku komercijalnog preparata pod nazivom Kvazar, a koji sadrži 40 g/l preparata i formulirane se kao koncentrovani rastvor. To je selektivni herbicid koji se koristi za suzbijanje širokolisnih i uskolisnih korova u usjevu suncokreta (hibridi tolerantni na imidazolinon), soje, graška, pasulja i lucerke u zasnivanju.

Tabela 5. Karakteristike imazamoksa (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm>, preuzeto 20.01.2023.)

Hemijske osobine imazamoksa	
IUPAC naziv	2-[(RS)-4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl]-5-methoxymethylnicotinic acid
CAS naziv	2-[4,5-dihydro-4-methyl-4-(1-methylethyl)-5-oxo-1H-imidazol-2-yl]-5-(methoxymethyl)-3-pyridinecarboxylic acid
Empirijska ormula	C ₁₅ H ₁₉ N ₃ O ₄
Molekulska masa	305,34 g·mol ⁻¹

Sadrži aktivnu materiju imazamoks (Slika 5.). Nakon aplikacije usvaja se folijarno, ali i preko korijena i translocira se do nadzemnih dijelova korova. Dovodi do inhibicije enzima acetolaktat sintetaze što za krajnju posljedicu ima zaustavljanje sinteze aminokiselina i uginuće korovskih biljaka. Koristi se za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih korova: lipica teofrastova (*Abutilon theophrasti*), obična boca (*Xanthium strumarium*), obični štir (*Amaranthus retroflexus*), jednogodišnji čistač (*Stachys annua*), bljutavi štir (*Amaranthus blitoides*), obična pomoćnica (*Solanum nigrum*), pelenasta ambrozija (*Ambrosia artemisifolia*), poljska gorušica (*Sinapis arvensis*), obični taržučak (*Capsella bursa-pastoris*), veliki dvornik (*Polygonum lapathifolium*), obična pepeljuga (*Chenopodium album*), hibridna pepeljuga (*Chenopodium hybridum*), tatula (*Datura stramonium*); jednogodišnjih uskolisnih korova: veliki muhar (*Echinochoa crus-galli*), sivi muhar (*Setaria glauca*), divlji sirak, sjemenski, (*Sorghum halepense*); uskolisni višegodišnji korovi: sirak divlji iz rizoma, (*Sorghum halepense*).



Slika 5. Strukturna formula imazamoksa

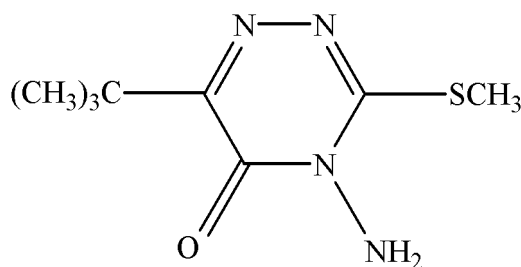
2.7.3. Metribuzin

Herbicid korišten u ovom istraživanju je u obliku komercijalnog preparata pod nazivom Dancor, a koji sadrži 700 g/kg preparata i formuliše se kao vododisperzibilne granule. On je selektivni sistemski herbicid koji se primjenjuje za suzbijanje širokolisnih korova u usjevu krompira, soje i paradajza. Djeluje na proces fotosinteze, kao inhibitor transporta elektrona u fotosistemu II. Selektivni, translokacioni herbicid. Usvaja se predominantno korijenom, mada može i listom nakon čega se translocira ksilemom do svih biljnih dijelova. Djelovanje ispoljava u hloroplastima, na tilakoidnim membranama.

Tabela 6. Karakteristike metribuzina (izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/484.htm>, preuzeto 20.01.2023.)

Hemijske osobine metribuzina	
IUPAC naziv	4-amino-6-tert-butyl-4,5-dihydro-3-methylthio-1,2,4-triazin-5-one
CAS naziv	4-amino-6-(1,1-dimethylethyl)-3-(methylthio)-1,2,4-triazin-5(4H)-one
Empirijska ormula	C ₈ H ₁₄ N ₄ OS
Molekulska masa	214.29 g·mol ⁻¹

Sadrži aktivnu materiju metribuzin (Slika 6.). Koristi se za suzbijanje jednogodišnjih širokolisnih korova: teofrastova lipica (*Abutilon theophrasti*), štirevi (*Amaranthus spp.*), ambrozija pelenasta (*Ambrosia artemisifolia*), repica crna (*Brassica nigra*), hoću-neću (*Capsella bursa-pastoris*), pepeljuga (*Chenopodium spp.*), lubeničarka njivska (*Hibiscus trionum*), dvornici (*Polygonum spp.*), tušt obični (*Portulaca oleracea*), rotkva divlja (*Raphanus raphanistrum*), gorušica poljska (*Sinapis arvensis*), čistac jednogodišnji (*Stachys annua*), loboda obična (*Atriplex patula*), konica obična (*Galinsoga parviflora*), posunac običan (*Heliotropium europium*), tatula obična (*Datura stramonium*).



Slika 6. Strukturna formula metribuzina

3. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja bio je da se ispita u laboratorijskim uslovima uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus*. Istraživanja u ovom radu zasnovana su na hipotezi da pesticidi u životnoj sredinu utiču pored ciljanih organizama i na neciljane, što se kroz lance ishrane odražava i na više trofičke nivoe, a u krajnjem slučaju i na čovjeka.

Rad pod naslovom „Uticaj pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“ ima za zadatak:

- Utvrditi uticaj izabranog insekticida (a.s. Cipermetrin, preparat Cipkord), na test organizam *L. rubellus* u laboratorijskim uslovima kroz analizu pokazatelja toksičnosti, kao što su mortalitet (nakon 7 dana i 14 dana ekspozicije) i reproduktivna sposobnost (nakon 28 dana i 56 dana ekspozicije);
- Utvrditi uticaj izabranih herbicida (a.s. Nikosulfuron, preparat Talisman, a.s. Imazamoks, preparat Kvazar i a.s. Metribuzin, preparat Dancor) na test organizam *L. rubellus* u laboratorijskim uslovima kroz analizu krajnjih tačaka kao što su mortalitet (nakon 7 dana i 14 dana ekspozicije) i reproduktivna sposobnost (nakon 28 dana i 56 dana ekspozicije).

4. MATERIJAL I METOD RADA

Eksperimenti su izvođeni u Laboratoriji za toksikologiju i ekotoksikologiju pesticida na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Banjoj Luci. Istraživanja su vršena u skladu sa protokolom i metodikom koju je preporučila Organizacija za ekonomsku saradnju i razvoj (Organisation for Economic Co-operation and Development – OECD) u svom dokumentu Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*).

4.1. Test organizmi

Gliste (*Lumbricus rubellus*), koje su korištene u ovim ogledima nabavljene su od lokalnog proizvođača kalifornijske crvene gliste. Korištene su samo odrasle, polno zrele gliste sa jasno vidljivim klitelumom. Odabrane gliste su prije korištenja aklimatizovane u zemljištu koje će se koristiti i u eksperimentu. Nakon 24h aklimatizacije gliste su korištene u eksperimentu. Tokom ovog perioda gliste su hranjene usitnjenim zrelim goveđim stajnjakom, koji je stavljen na vrh posude sa supstratom. Na isti način su se gliste hranile i tokom eksperimenta. Nakon aklimatizacije u trajanju od 24 sata nasumičnim izborom uzimano je po 10 polno zrelih glista.

4.2. Zemljišni supstrat

Osnovni supstrat koji se koristio u eksperimentima je pravljen miješanjem dva uzorka baštenskog zemljišta, industrijskog pijeska i komercijalnog treseta. Supstrat je bio sljedećeg sastava pojedinih sastojaka, iskazanih kroz maseni udio pojedinih vazdušno suvih sastojaka (Slika 7.):

- 40% baštenskog zemljišta tipa 1, koji je imao pH vrijednost od 5,76 do 6,57 i bio bez vidljivih biljnih ostataka;
- 40% industrijskog pijeska (osušen na vazduhu), u kojem preovladava fini pijesak sa više od 50% čestica veličine od 0,05 do 0,2 mm;
- 10% komercijalnog treseta;
- 10% baštenskog zemljišta tipa 2, koji je imao pH vrijednost od 5,57 do 6,53 i bio bez vidljivih biljnih ostataka.

Svi sastojci supstrata su pomiješani zajedno u jednoj posudi. Supstrat se pripremao na način da se izmiješaju četiri vrste komponenti (baštensko zemljište tipa 1, baštensko zemljište tipa 2, pijesak i komercijalni treset). Ukupna količina osnovnog supstrata iznosila je 500 g za svaki uzorak. Supstrat je zatim navlažen dovoljnom količinom destilovane vode, da bude dobro natopljeno, ali ne prekriveno vodom. Sadržaj vlage praćen je sedmično.



Slika 7. Postupak pravljenja zemljišnog supstrata (a) pojedinačni uzorci zemljišta, pijeska i treseta, b) smješa supstrata, c) vazdušno suvi uzorci supstarata pripremljeni za dalji rad)

4.3. Pesticidi

Pesticidi korišćeni u ovim eksperimentima su insekticidi i herbicidi, čije su karakteristike prikazane u tabeli 7.

Tabela 7. Karakteristike korišćenih pesticida

Aktivna supstanca (preparat, sadržaj a.s.)	Formulacija	Toksičnost za gliste
Cipermetrin (Cipkord, 200 g a.s./L)	EC	LC ₅₀ (mg/kg)= > 100 (ex. 14 dana, akutna toksičnost) NOEC= > 5,3 mg/kg (hronična toksičnost, reprodukcija)
Nikosulfuron (Talisman, 40 g a.s./L)	OD	LC ₅₀ (mg/kg)=>1000 (ex. 14 dana, akutna toksičnost) NOEC=0,1 mg/kg (hronična toksičnost, reprodukcija)
Imazamoks (Kvazar, 40 g a.s./L)	SL	LC ₅₀ (mg/kg)= > 901 (ex. 14 dana, akutna toksičnost) NOEC=5,85 mg/kg (hronična toksičnost, reprodukcija)
Metribuzin (Dankor, 700 g a.s./kg)	WG	LC ₅₀ (mg/kg)= 427 (ex. 14 dana, akutna toksičnost) NOEC= > 52,3mg/kg (hronična toksičnost, reprodukcija)
Legenda: ex.= dužina ekspozicije		

Korištene su različite koncentracije pesticida koje su prikazane u tabeli 8. U kontrolnim tretmanima, umjesto pesticida, korišćena je destilovana voda.

Tabela 8. Koncentracije korišćenih pesticida

Aktivna supstanca	Preparat	Udio preparata (ml/0,5 kg ili g/0,5 kg)	Maseni udio aktivne supstnace (mg a.s /kg supstrata)
Cipermetrin	Cipkord	0,0625 ml/0,5 kg	25 mg/kg
		0,125 ml/0,5 kg	50 mg/kg
		0,25 ml/0,5 kg	100 mg/kg
		0,5 ml/0,5 kg	200 mg/kg
		1,0 ml/0,5 kg	400 mg/kg
Nikosulfuron	Talisman	3,125 ml/0,5 kg	250 mg/kg
		6,25 ml/0,5 kg	500 mg/kg
		9,375 ml/0,5 kg	750 mg/kg
		12,5 ml/0,5 kg	1000 mg/kg
		15,625ml/0,5 kg	1250 mg/kg
Imazamoks	Kvazar	3,75 ml/0,5 kg	300 mg/kg
		7,5 ml/0,5 kg	600 mg/kg
		11,25 ml/0,5 kg	900 mg/kg
		15 ml/0,5 kg	1200 mg/kg
		18,75 ml/0,5 kg	1500 mg/kg
Metribuzin	Dankor	0,071 g/0,5 kg	99,4 mg/kg
		0,142 g/0,5 kg	198,8 mg/kg
		0,285 g/0,5 kg	399 mg/kg
		0,5 g/0,5 kg	700 mg/kg
		0,7 g/0,5 kg	980 mg/kg

4.4. Postavka ogleda

Prethodno pripremljene gliste postavljene su na površini oglednog supstrata, koji se nalazio u eksperimentalnim plastičnim saksijama dimenzija 17×17 cm. Saksije su napunjene sa 500 g vazdušno suvog supstrata. Supstrat je potom navlažen dovoljnom količinom destilovane vode, da bude dobro natopljen, ali ne prekriven vodom.

Gliste su aklimatizovane u laboratoriji u trajanju od 24 sata, nakon čega je nasumično izabrano po 10 polno zrelih glista, koje su nakratko isprane i osušene filter papirom, koje su potom unesene u supstrat. Ogled je rađen tako da su gliste izlagane ispitivanim pesticidima na način da se pesticid u određenim masenim udjelima miješao sa supstratom, a zatim su u taj supstrat unesene gliste. Pored saksija koje su sadržavale pesticide, bile su i kontrolne saksije, sa netretiranim supstratom. Saksije su bile pokrivene aluminijumskom folijom koja je naknadno probušena (perforirana), kako bi se obezbjedila razmjena gasova između supstrata i atmosfere i omogućio pristup svjetlosti, a ujedno spriječio izlazak glista. Tokom istraživanja temperatura vazduha bila je $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Tokom ogleda vršeno je opažanje ponašanja glista, kako

u kontroli, tako i u tretiranom supstratu. Sagledavan je mortalitet jedinki, kao i reprodukcija glista.

Gliste su hranjene sa 5 g suvog, dobro usitnjenog zrelog goveđeg stajnjaka. Suvi stajnjak je navlažen sa 10 ml destilovane vode i prethodno dobro usitnjen kako bi bio što pristupačniji glistama. Hranjenje je vršeno jednom nedjeljno tokom cjelokupnog trajanja eksperimenta. Ako bi hrana ostala na površini do sljedećeg hranjenja, sljedeći put je količina hrane bila smanjena, kako ne bi došlo do razvoja gljiva i plijesni.



Slika 8. Postavka ogleda (a) izdvojene gliste, (b) saprane gliste spremne za unošenje u supstrat, (c) supstrat sa rastvorom pesticida, (d) unošenje glista u supstrat, (e) saksije sa supstratom i glistama u laboratoriji)

Test mortaliteta praćen je nedeljno i trajao je 14 dana. Jedinka se smatrala uginulom ako nije reagovala na bockanja u prednjem dijelu tijela. Test reprodukcije trajao je osam nedjelja. Nakon četiri nedjelje izlaganja, pratili su se i efekti na reprodukciju, tj. broj kokona, a na kraju eksperimenta i broj izleglih mladih glista.

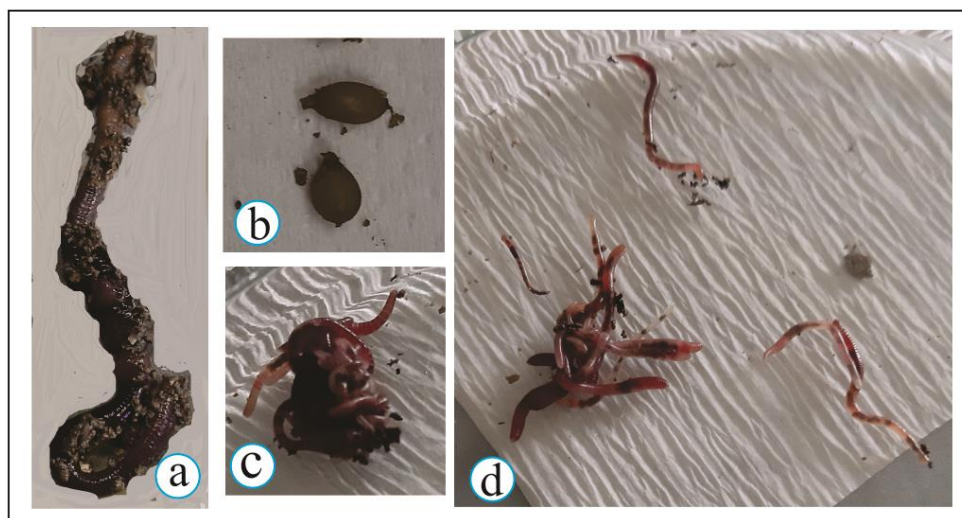
5. REZULTATI

5.1. Praćenje gliste tokom ogleda

Tokom ogleda vršeno je kontrolno ispitivanja uticaja pesticida na kalifornijsku glistu *Lumbricus rubellus*, tj. pored saksija koje su sadržavale pesticide, istovremeno bile su i kontrolne saksije, sa supstratom u kojem nije bilo insekticida i herbicida, nego je vlažnost održavana destilovanom vodom. Kontrolnim ispitivanjem praćen je mortalitet i reproduktivna sposobnost glista. Mortalitet je praćen nakon 7 i nakon 14 dana od ekspozicije. Reprodukativna sposobnost je praćena nakon 28 i nakon 56 dana od ekspozicije. U kontroli nije bilo mortaliteta.

Kada je u pitanju broj kokona u kontroli, koja nije tretirana pesticidima, tu je bilo brojne razlike između 28 i 56 dana, u zavisnosti od herbicida i insekticida. Tačnije, kokoni su se pojavili u svim kontrolama, osim u kontroli sa Talismanom (a.s. Nikosulfuron) gdje se u prvih 28 dana nije pojavio ni jedan kokon. Kada je u pitanju brojna razlika možemo zaključiti da se broj kokona povećao u svim kontrolama nakon 56 dana u odnosu na prvih 28 dana.

Kada su u pitanju izlegle gliste u kontroli, tu postoji razlika u odnosu na broj kokona. U prvih 28 dana gliste se nisu izlegle u kontrolama kod insekticida Cipkord (a.s. Cipermetrin) i kod herbicida Dankor (a.s. Metribuzin), dok su se pojavile u ostalim kontrolama, samo u malom broju. Nakon 56 dana, gliste su se izlegle u svim kontrolama, a broj izleglih se povećao kod kontrola sa herbicidima Kvazar (a.s. Imazamoks) i Talisman (a.s. Nikosulfuron) u odnosu na prvih 28 dana.



Slika 9. Razmnožavanje glista u kontroli (a) parenje, b) izgled kokona, c) pilenje mladih glista iz kokona, c) mlade gliste)

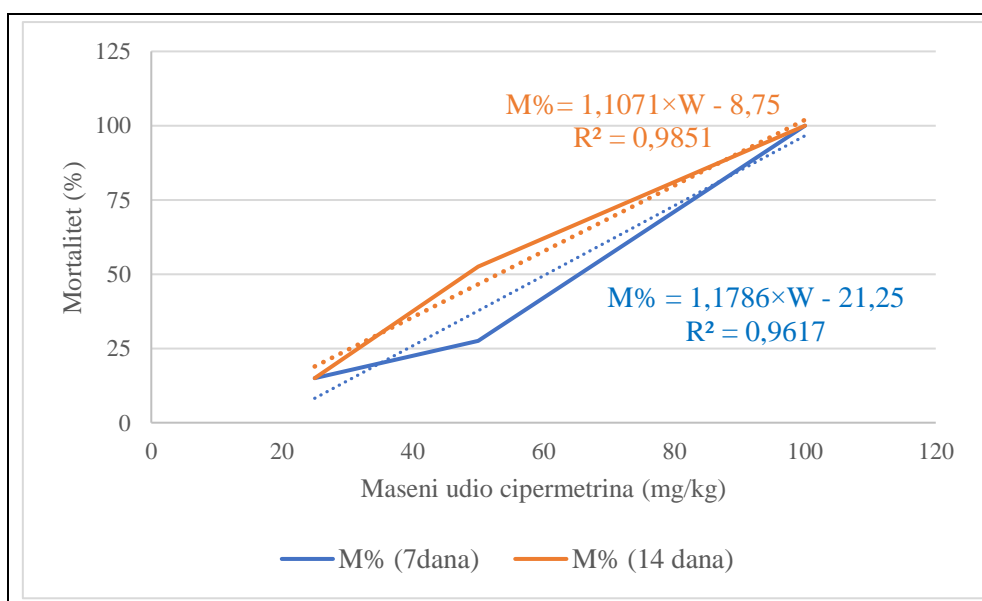
5.2. Uticaj insekticida Cipkord (a.s. cipermetrin) na vrstu *Lumbricus rubellus*

Stopa mortaliteta *Lumbricus rubellus* izloženih različitim koncentracijama Cipkorda tokom različitog trajanja, kao i kontrola prikazana je u tabeli 9. Mortalitet od 100 % bio je kod kalifornijskih glista izloženih koncentracijama od 100, 200 i 400 mg/kg insekticida ciperkord. U koncentraciji dva ($2,75 \pm 3,095$) smanjena je smrtnost, kao i u koncentraciji jedan ($1,50 \pm 1,29$). U odnosu na tretirane gliste, u kontrolnim saksijama nije bilo smrtnosti. Nakon 14 dana nije bilo promjene u koncentraciji jedan, dok se smrtnost povećala u koncentraciji dva ($5,25 \pm 1,70$). Takođe, nakon 14 dana nije bilo promjene ni u kontroli, sve jedinke su preživjele. Na kraju eksperimenta postojala je značajna razlika između stopa mortaliteta u kontrolnim grupama i grupama izloženim pesticidima. Izračunata LC_{50} vrijednost nakon 7 dana je iznosila 60,48 mg/kg, a nakon 14 dana $LC_{50} = 53,07$ mg/kg (Grafikon 1.).

Tabela 9. Uticaj različitih koncentracija insekticida cipermetrin na mortalitet kalifornijskih glista (*Lumbricus rubellus*) nakon 7 i 14 dana izlaganja

W	7 dan		14 dan	
	broj uginulih	% uginulih	broj uginulih	% uginulih
Kontrola	0	0	0	0
W-1	$1,50 \pm 1,29$	15	$1,50 \pm 1,29$	15
W-2	$2,75 \pm 3,09$	27,5	$5,25 \pm 1,70$	52,5
W-3	$10,00 \pm 0,00$	100	$10,00 \pm 0,00$	100
W-4	$10,00 \pm 0,00$	100	$10,00 \pm 0,00$	100
W-5	$10,00 \pm 0,00$	100	$10,00 \pm 0,00$	100

Legenda: Vrijednosti su predstavljene kao srednja aritmetička vrijednost \pm standardna devijacija (SD), W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola **Napomena:** W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg)



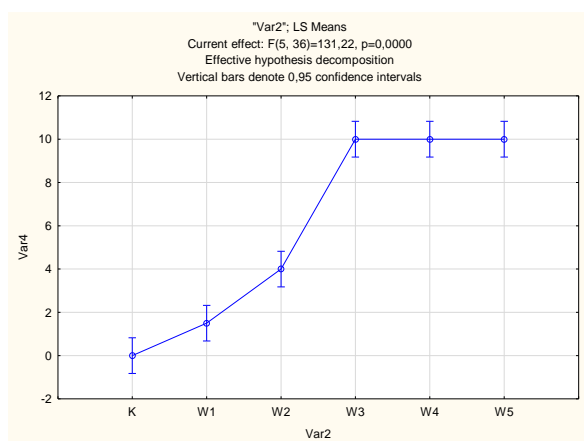
Grafikon 1. Regresiona zavisnost procenta mortaliteta glista od masenog udjela cipermetrina

Tabela 10. Analiza varijanse za broj uginulih glista nakon izlaganja insekticidom Cipkord (a.s. Cipermetrin)

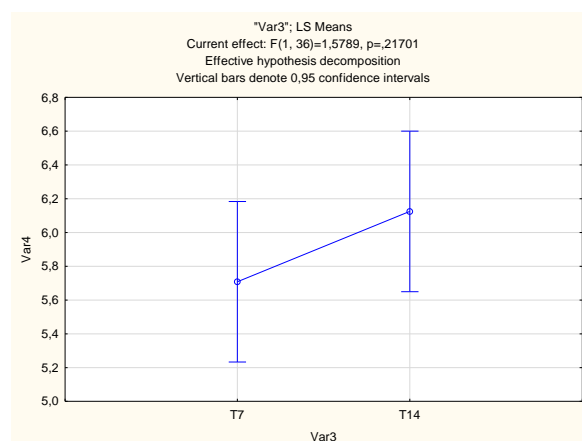
Izvor varijacija	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	865,66	5	173,13	131,21***	<0,001
Vrijeme (B)	2,08	1	2,08	1,57 ^{NZ}	0,21
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	10,41	5	2,08	1,57 ^{NZ}	0,19
Greška	47,50	36	1,31		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za $p < 0,001$ za nivo značajnosti $\alpha = 0,001$, ^{NZ} za $p > 0,05$

Analiza varijanse za tretman insekticidom Cipkord, sa interakcijskim efektima prikazana je u tabeli 10. Analiza varijanse pokazuje da na mortalitet gliste visoko značajano utiče maseni udio, dok vrijeme kao i interakcija masenog udjela i vremena nemaju značajan uticaj.



Grafikon 2. Mortalitet glista u zavisnosti od masenog udjela insekticida cipermetrin, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=131,22^{***}$; $p < 0,00001$)



Grafikon 3. Mortalitet glista u zavisnosti od vremena izlaganja insekticidu cipermetrin, isključujući maseni udio ($F(1,36)=1,579^{NZ}$, $p=0,21705$)

Srednja vrijednost broja kokona glista i procentualne promjene u različitim koncentracijama insekticida Cipkord (a.s. Cipermetrin) navedena je u tabeli broj 11. Maksimalan broj kokona kod kontrolnih glista nakon 28 dana bio je 9 ($1,50 \pm 0,57$). Gliste koje su bile izložene insekticidu proizvele su manji broj kokona u odnosu na kontrolu. Minimalan broj kokona u prvih 28 dana pojavio se u koncentraciji dva ($0,50 \pm 0,57$), što je u odnosu na kontrolu manje za 66,66%. U koncentraciji jedan, takođe je bilo manje kokona ($1,00 \pm 0,81$) u odnosu na kontrolu, što je procentualno manje od kontrole za 33,33%. Nakon još 28 dana, tj. 56 dan broj kokona u kontroli se smanjio za 50% u odnosu na prvih 28 dana. U tretiranim uzorcima smanjen je broj kokona nakon još 28 dana, tj. kokoni su se pojavili samo u

koncentraciji jedan ($0,25 \pm 0,50$), što je manje u odnosu na kontrolu za 66,66%. Iz ovoga možemo zaključiti da je značajno manji broj kokona u uzorcima koji su bili tretirani sa insekticidom cipkord, u odnosu na kontrolu. Takođe došlo je do smanjenja broja kokona i u kontrolnim uzorcima. Ovdje možemo zaključiti da vrijeme i maseni udio utiču na proizvodnju kokona, što je prikazano i u tabeli broj 12.

Tabela 11. Broj kokona nakon izlaganja glista insekticidu Cipkord (a.s. Cipermetrin)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)	W	56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	1,50±0,57	0	K	0,75±0,50	0
W1	1,00±0,81	33,33%	W1	0,25±0,50	66,66%
W2	0,50±0,57	66,66%	W2	0	100
W3	0	100	W3	0	100
W4	0	100	W4	0	100
W5	0	100	W5	0	100

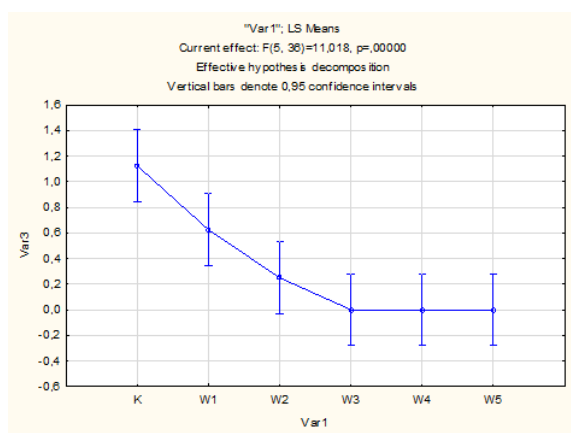
Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; (K-W/K)×100 (%)= Redukcija broja kokona pod uticajem pesticida u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg)

Tabela 12. Analiza varijanse za broj kokona nakon izlaganja glista insekticidu Cipkord (a.s. Cipermetrin)

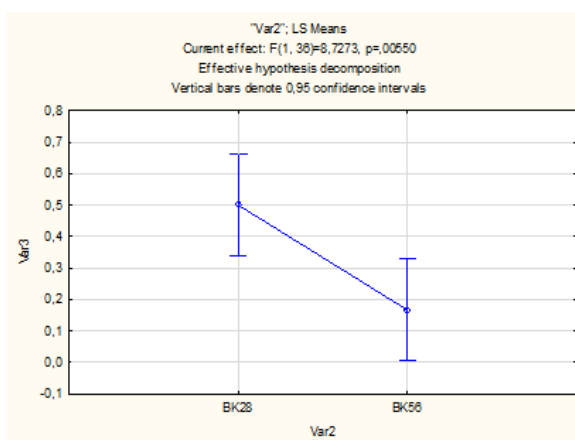
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	8,416667	5	1,683333	11,01818***	0,000002
Vrijeme (B)	1,333333	1	1,333333	8,72727***	0,0055
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	1,416667	5	0,283333	1,85455 ^{NZ}	0,127
Greška	5,500000	36	0,152778		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za p<0,001 za nivo značajnosti $\alpha=0,001$, **za p<0,01 za nivo značajnosti $\alpha=0,01$; ^{NZ} za p>0,05

Analiza varijanse pokazuje da na proizvodnju kokona visoko značajano utiče maseni udio i vrijeme, dok interakcija masenog udjela i vremena nema značajan uticaj, što se može vidjeti u tabeli 12.



Grafikon 4. Produkcija kokona u zavisnosti od masenog udjela insekticida cipermetrin, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju)



Grafikon 5. Produkcija kokona u zavisnosti od vremena izlaganja insekticida cipermetrin, isključujući maseni udio

(F(5,36)=11,018***, p< 0,0001)

(F(1,36)=8,7273**, p= 0,0055)

Tabela 13. Broj izleglih glista nakon izlaganja insekticidu Cipkord (a.s. Cipermetrin)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)	W	56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	0	-	K	6,50±7,32	0%
W1	0	-	W1	1,00±1,15	84,60%
W2	0	-	W2	0,75±0,50	88,46%
W3	0	-	W3	0	100%
W4	0	-	W4	0	100%
W5	0	-	W5	0	100%

Legenda: W= maseni udio aktivne supstancne (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; **(K-W/K)×100 (%)**= Redukcija broja ispiljenih glista u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg)

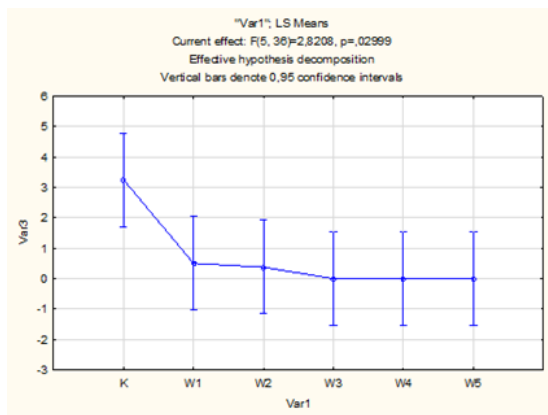
Kada su u pitanju izlegle jedinke nakon 28 dana nije ih bilo ni u kontroli ni kod tretiranih glista, što je prikazano u tabeli 13. Nakon 56 dana broj izleglih glista u kontroli bio je 26 (6,50±7,32). Kod glista koje su bile izložene insekticidu broj izleglih jedinki je značajno manji. U koncentraciji jedan bilo ih je samo 4 (1,00±1,15), što je u odnosu na kontrolu manje za 84,6 %, dok u kontroli dva samo 3 (0,75±0,50), što je u odnosu na kontrolu manje za 88,46%. Ovdje možemo zaključiti da vrijeme i maseni udio utiču na broj izleglih jedinki, što je prikazano i u tabeli broj 14.

Tabela 14. Analiza varijanse za broj ispiljenih glista nakon izlaganja insekticidu Cipkord (a.s. Cipermetrin)

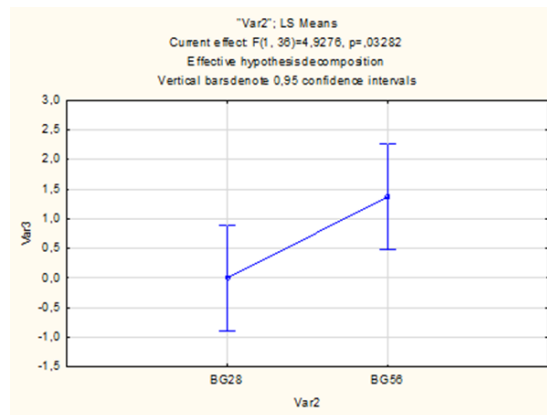
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	64,93	5	12,98	2,82*	0,02
Vrijeme (B)	22,68	1	22,68	4,92*	0,03
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	64,93	5	12,98	2,82*	0,02
Greška	165,75	36	4,60		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; * za p<0,05 za nivo značajnosti $\alpha=0,05$

Analiza varijanse pokazuje da na broj izleglih značajano utiče maseni udio i vrijeme, kao i interakcija masenog udjela i vremena (F=2,82*), što se može vidjeti u tabeli 14. Na osnovu gore prikazanih rezultata možemo zaključiti da insekticid Cipkor utiče na mortalitet, proizvodnju kokona i na broj izleglih jedinki.



Grafikon 6. Broj ispljenih jedinki u zavisnosti od masenog udjela insekticida cipermetrin, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=2,8208^*$; $p=0,0299$)



Grafikon 7. Broj ispljenih jedinki u zavisnosti od vremena izlaganja insekticidu cipermetrin, isključujući maseni udio ($F(1,36)=4,9276^*$; $p=0,0328$)

5.3. Uticaj herbicida Kvazar (a.s. imazamoks) na *Lumbricus rubellus*

Maksimalna stopa mortaliteta kod tretiranih glista sa kvazarom u prvih sedam dana bila je u koncentraciji pet ($2,50 \pm 3,00$). Minimalna stopa mortaliteta bila je u koncentraciji jedan ($0,50 \pm 0,57$). Nakon 14 dana broj uginulih se povećao, pa je opet u koncentraciji pet ($3,00 \pm 2,30$) bilo najviše uginulih, dok je u koncentraciji jedan bilo najmanje uginulih ($0,50 \pm 0,57$), što je prikazano u tabeli 15. U kontrolnim saksijama u odnosu na tretirane gliste nije bilo smrtnosti u prvih sedam dana. Nakon 14 dana ništa se nije mijenjalo, tako da u kontroli nije bilo uginulih glista za 14 dana. Možemo zaključiti da je na kraju eksperimenta postojala značajana razlika u stopi mortaliteta između kontrolne grupe i grupe izložene herbicidu Kvazar (a.m. Imazamoks). Takođe, ovdje treba naglasiti da maseni udio i vrijeme nisu značajno uticali na mortalitet, što se može vidjeti u grafikonima 8 i 9. U rasponu ispitivanih koncentracija herbicida imazomoks pri najvećem masenom udjelu od 1500 mg/kg je došlo do mortaliteta od 25% nakon 7 dana, odnosno 30%, nakon 14 dana, te se nije mogla utvrditi LC_{50} za ovaj herbicid.

Tabela 15. Uticaj različitih koncentracija herbicida imazomoks na mortalitet kalifornijskih glista (*Lumbricus rubellus*) nakon 7 i 14 dana izlaganja

W	7 dana		14 dana	
	broj uginulih	% uginulih	broj uginulih	% uginulih
Kontrola	0	0	0	0
W-1	$0,50 \pm 0,57$	5	$0,50 \pm 0,57$	5
W-2	$0,75 \pm 0,50$	7,5	$1,25 \pm 0,95$	12,5
W-3	$1,00 \pm 1,15$	10	$2,75 \pm 3,40$	27,5
W-4	$1,25 \pm 1,89$	12,5	$2,75 \pm 3,59$	27,5
W-5	$2,5 \pm 3,00$	25	$3,00 \pm 2,30$	30

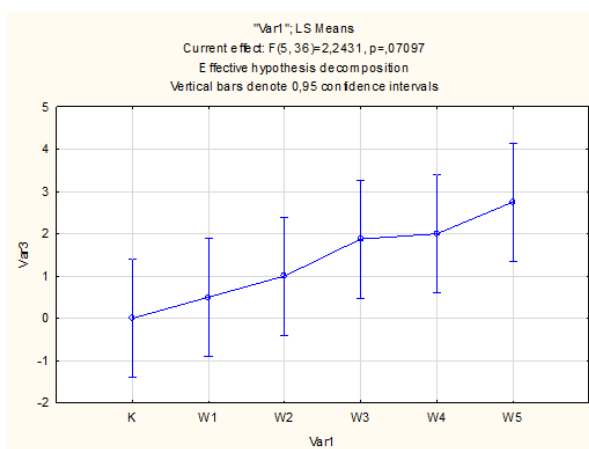
Legenda: Vrijednosti su predstavljene kao srednja aritmetička vrijednost \pm standardna devijacija (SD), W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; **Napomena:** W-1 (300 mg/kg), W-2 (600 mg/kg), W-3 (900 mg/kg), W-4 (1200 mg/kg), W-5 (1500 mg/kg)

Tabela 16. Analiza varijanse za broj uginulih glista nakon izlaganja herbicidu Kvazar (a.s. Imazamoks)

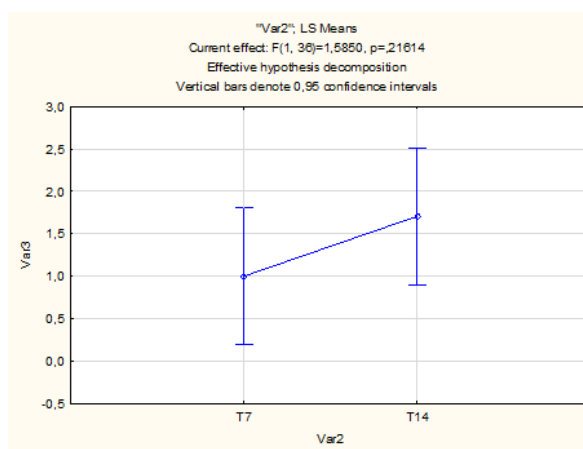
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	42,6042	5	8,52083	2,24314 ^{NZ}	0,070966
Vrijeme (B)	6,0208	1	6,02083	1,58501 ^{NZ}	0,216143
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	5,6042	5	1,12083	0,29506 ^{NZ}	0,912492
Greška	136,7500	36	3,79861		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ^{NZ} za p>0,05 uticaj

Analiza varijanse za tretman herbicidom Kvazar, sa interakcijskim efektima prikazana je u tabeli 16. Analiza varijanse pokazuje da maseni udio i vrijeme kao i interakcija masenog udjela i vremena, nisu značajno uticali na mortalitet gliste.



Grafikon 8. Mortalitet glista u zavisnosti od masenog udjela herbicida imazamoks, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) (F(5,36)=2,243^{NZ}; p= 0,07097)



Grafikon 9. Mortalitet glista u zavisnosti od vremena izlaganja herbicidu imazamoks, isključujući maseni udio (F(1,36)=1,585^{NZ}; p=0,21614)

Proizvodnja kokona koja je izražena procentualno, kao i srednja vrijednost prikazana je u tabeli 17. U tretiranim saksijama najviše kokona 28 dan bilo je u koncentraciji jedan (6,25±3,77), dok se taj broj smanjivao u svakoj narednoj većoj koncentraciji. Minimalan broj kokona 28 dan bio je u petoj koncentraciji (1,50±2,38). Za razliku od tretiranih glista, u kontrolnim saksijama je bilo značajno više kokona (9,75±6,65).

Nakon 56 dana broj kokona se značajno povećao, kako u kontrolnim saksijama, tako i u tretiranim uzorcima sa herbicidom Kvazar (a.m. imazamoks). Broj kokona u tretiranim uzorcima daleko je manji u odnosu na kontrolu, što je prikazano u tabeli 17. Najviše kokona nakon 56 dana bilo je u koncentraciji jedan (22,000±6,055), a najmanje u koncentraciji pet (5,250±5,500). Kao i u prvih 28 dana, tako i ovdje dosta više kokona je bilo u kontrolnim saksijama (26,000±6,782). Ovdje možemo zaključiti da vrijeme i maseni udio utiču na proizvodnju kokona, što je prikazano i u tabeli broj 18.

Tabela 17. Broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Kvazar (a.s. Imazamoks)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)	W	56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	9,75±6,65	0	K	26,00±6,78	0
W1	6,25±3,77	35,89	W1	22,00±6,05	15,38
W2	5,75±4,19	41,02	W2	14,75± 8,65	43,38
W3	2,00±2,30	79,48	W3	14,50±17,23	44,23
W4	2,00±1,82	79,48	W4	12,75±0,95	50,96
W5	1,50±2,38	84,61	W5	5,25±5,50	79,80

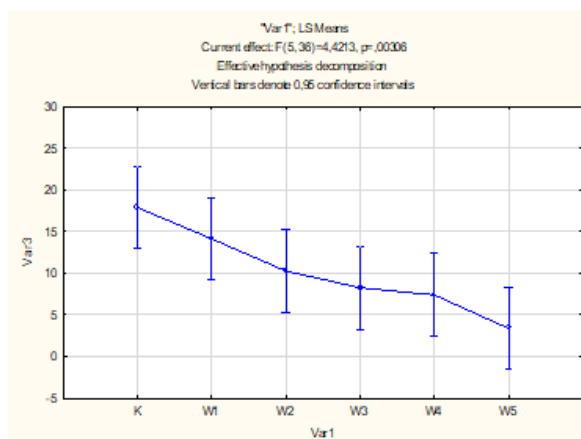
Legenda: W= maseni udio aktivne supstancne (mg a.s /kg supstrata), K= kontrola; (K-W/K)×100 (%)= Redukcija broja kokona pod uticajem pesticida u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (300 mg/kg), W-2 (600 mg/kg), W-3 (900 mg/kg), W-4 (1200 mg/kg), W-5 (1500 mg/kg)

Tabela 18. Analiza varijanse za broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Kvazar (a.s. Imazamoks)

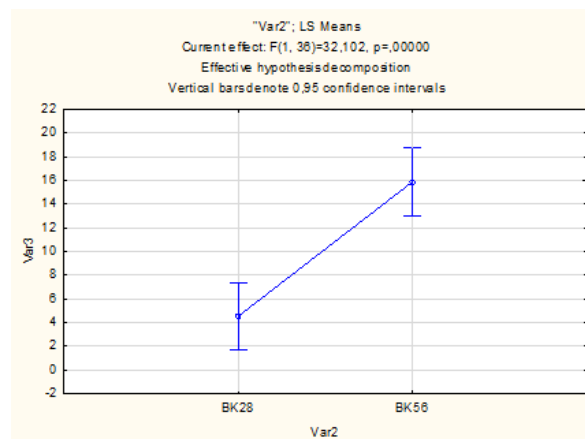
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	1061,417	5	212,283	4,42**	0,003057
Vrijeme (B)	1541,333	1	1541,333	32,10***	0,000002
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	216,667	5	43,333	0,9025 ^{NZ}	0,490114
Greška	1728,500	36	48,014		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za p<0,001 za nivo značajnosti $\alpha=0,001$, **za p<0,01 za nivo značajnosti $\alpha=0,01$; ^{NZ} za p>0,05

Analiza varijanse pokazuje da na broj kokona visoko značajano utiče maseni udio i vrijeme, dok interakcija masenog udjela i vremena nema značajan uticaj, što se može vidjeti u tabeli 18.



Grafikon 10. Produkcija kokona u zavisnosti od masenog udjela herbicida imazamoks, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) (F (5,38)=4,42**; p=0,0006)



Grafikon 11. Produkcija kokona u zavisnosti od vremena izlaganja herbicidu imazamoks, isključujući maseni udio (F (1,36)=32,102***; p<,00001)

Ovdje je interesantno da je u prvih 28 dana došlo do izleganja mladih glista u kontroli (3,000±3,464) i koncentraciji jedan (0,500±1,000), što je prikazano u tabeli 19. Broj izleglih mladih glista, takođe se značajno povećao nakon 56 dana, kako u kontrolnim grupama, tako i u tretiranim. Tako je u kontroli broj mladih glista nakon 56 dana uznosio (36,250±26,787). U

tretiranim uzorcima najviše izleglih jedinki je bilo u koncentraciji jedan (22,00±7,11), dok se taj broj smanjivao sa povećanjem koncentracije, tako da je najmanje ispiljenih bilo u koncentraciji pet (2,50±3,00). Na kraju možemo zaključiti da maseni udio i vrijeme značajno utiče na broj ispiljenih glista, što je prikazano u tabeli 20.

Tabela 19. Broj ispiljenih glista nakon izlaganja herbicidu Kvazar (a.s. Imazamoks)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)	W	56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	3,00±3,46	0	K	36,25±26,78	0
W1	0,50±1,00	83,33	W1	22,00±7,11	39,31
W2	0	100	W2	17,00±12,93	53,10
W3	0	100	W3	10,25±4,19	71,72
W4	0	100	W4	10,25±12,01	71,72
W5	0	100	W5	2,50±3,00	93,10

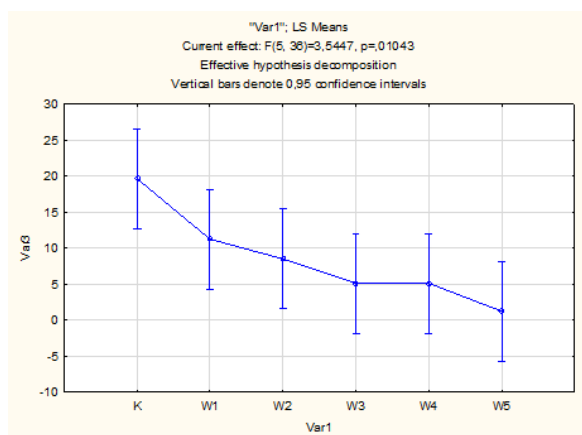
Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K= kontrola; (K-W/K)×100 (%)= Redukcija broja kokona pod uticajem pesticida u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (300 mg/kg), W-2 (600 mg/kg), W-3 (900 mg/kg), W-4 (1200 mg/kg), W-5 (1500 mg/kg)

Tabela 20. Analiza varijanse za broj ispiljenih glista nakon izlaganja herbicidu Kvazar (a.s. Imazamoks)

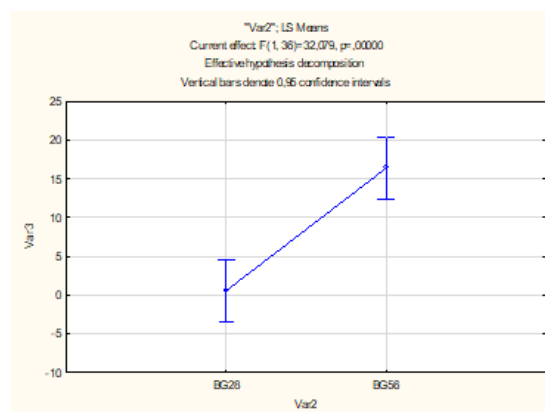
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	1653,354	5	330,671	3,55*	0,010434
Vrijeme (B)	2992,521	1	2992,521	32,08***	0,000002
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	1153,854	5	230,771	2,478 ^{NZ}	0,050250
Greška	3358,250	36	93,285		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za p<0,001 za nivo značajnosti $\alpha=0,001$, *za p<0,05 za nivo značajnosti $\alpha=0,05$; ^{NZ} za p>0,05

Analiza varijanse pokazuje da na proizvodnju kokona visoko značajano utiče maseni udio i vrijeme, dok interakcija masenog udjela i vremena nema značajan uticaj, što se može vidjeti u tabeli 20.



Grafikon 12. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od masenog udjela herbicida imazamoks, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) (F (5,36)=3,5447; p=0,01043)



Grafikon 13. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida imazamoks, isključujući maseni udio (F (1,36)=32,079***; p<0,00001)

5.4. Uticaj herbicida Dankor (a.s. metribuzin) na vrstu *Lumbricus rubellus*

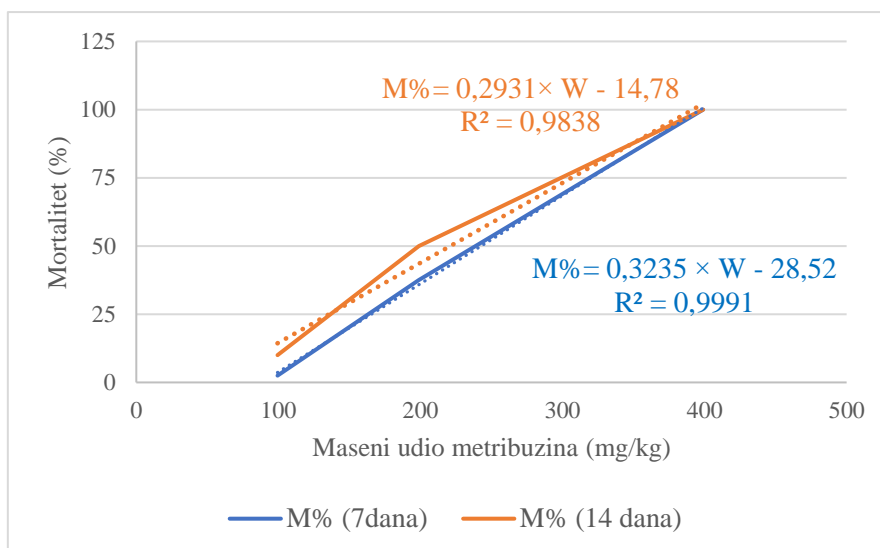
U prvih sedam dana smrtnost od 100% se javlja u tri koncentracije, odnosno u koncentraciji tri (399 mg/kg), zatim kocentraciji četiri (700 mg/kg) i najvišoj koncentraciji pet (980 mg/kg). U preostale dvije koncentracije smrtnost jedinki je dosta manja, naročito u koncentraciji jedan (0,25±0,50). Nakon 14 dana u prvoj (1,00±0,81) i drugoj (5,00±2,94) koncentraciji broj uginulih jedinki se neznatno povećao, što je prikazano u tabeli broj 21. U kontrolnim saksijama u prvih sedam dana nije bilo mortaliteta. Nakon 14 dana nije bilo promjene u kontrolnim grupama, sve jedinke su preživjele. Na kraju eksperimenta možemo zaključiti da je bila značajna razlika u mortalitetu između kontrolnih jedinki i jedinki koje su bile u tretiranim grupama, što se može vidjeti u tabeli broj 21.

Tabela 21. Uticaj različitih koncentracija herbicida metribuzin na mortalitet kalifornijskih glista (*Lumbricus rubellus*) nakon 7 i 14 dana izlaganja

W	7 dana		14 dana	
	broj uginulih	% uginulih	broj uginulih	% uginulih
Kontrola	0,00±0,00	0	0,00±0,00	0
W-1	0,25±0,50	2,5	1,00±0,81	10
W-2	3,75±1,50	37,5	5,00±2,94	50
W-3	10,00±0,00	100	10,00±0,00	100
W-4	10,00±0,00	100	10,00±0,00	100
W-5	10,00±0,00	100	10,00±0,00	100

Legenda: Vrijednosti su predstavljene kao srednja aritmetička vrijednost ± standardna devijacija (SD), W= maseni udio aktivne supstnace (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; **Napomena:** W-1 (99,4 mg/kg), W-2 (198,8 mg/kg), W-3 (399 mg/kg), W-4 (700 mg/kg), W-5 (980 mg/kg)

Herbicid metribuzin je pri masenom udjelu od 198,8 mg/kg izazvao 37,5% uginulih glista nakon 7 dana, odnosno 50% uginulih glista nakon 14. dana. Pri masenom udjelu ovog herbicida od 399 mg/kg došlo je do potpunog uginuća ispitivanih glista, kako nakon 7 dana, tako i nakon 14 dana. Linearnom regresijom, korišćenjem odnosa masena koncentracija : procenat mortaliteta, je ustanovljeno da je srednja letalna koncentracija ovog herbicida za kalifornijsku glistu nakon 7 dana LC50= 242,72 mg/kg, a nakon ekspozicije od 14 dana LC50=221,02 (Grafikon 14.).



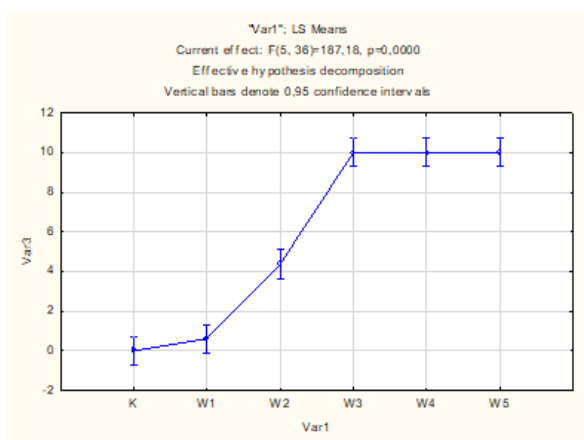
Grafikon 14. Regresiona zavisnost procenta mortaliteta glista od masenog udjela metribuzina

Tabela 22. Analiza varijanse za broj uginulih glista nakon izlaganja herbicidu Dankor (a.s. Metribuzin)

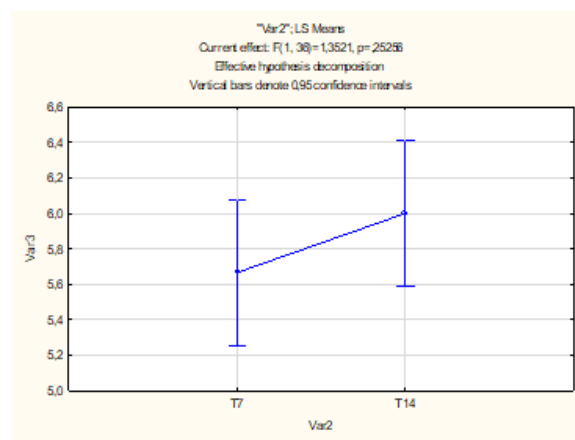
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	922,917	5	184,583	187,183***	<0,000001
Vrijeme (B)	1,333	1	1,333	1,352 ^{NZ}	0,252559
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	2,917	5	0,583	0,592 ^{NZ}	0,706410
Greška	35,500	36	0,986		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za p<0,001 za nivo značajnosti $\alpha=0,001$, ^{NZ} za p>0,05

Analiza varijanse za tretman herbicidom Dankor, sa interakcijskim efektima prikazana je u tabeli 22. Analiza varijanse pokazuje da na mortalitet gliste visoko značajano utiče maseni udio, dok vrijeme nema značajan uticaj, kao i interakcija masenog udjela i vremena.



Grafikon 15. Mortalitet glista u zavisnosti od masenog udjela herbicida metribuzin, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) (F(5,36)=187,18***; p<0,0001)



Grafikon 16. Mortalitet glista u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida metribuzin, isključujući maseni udio (F(1,36)=1,3521^{NZ}; p=0,25256)

Proizvodnja kokona u prvih 28 dana bila je daleko manja kod tretiranih jedinki, u odnosu na kontrolu. Broj kokona prvih 28 dana u kontroli bio je $6,250 \pm 4,645$. Gliste koje su bile izložene herbicidu proizvele su kokone samo u prvoj koncentraciji ($1,750 \pm 1,258$), što je manje za 72% u odnosu na kontrolu. Nakon 56 dana, nije bilo značajne razlike u odnosu na prvih 28 dana, kako u kontroli, tako i kod tretiranih jedinki. U kontroli se broj kokona povećao ($12,50 \pm 8,66$). Kod glista koje su bile izložene herbicidu kokoni su se pojavili i u drugoj koncentraciji ($0,50 \pm 0,57$), dok ih je u prvoj koncentraciji ($2,75 \pm 1,25$) bilo više u odnosu na prvih 28 dana. Na kraju možemo zaključiti da postoji visoko značajna razlika između broju kokona u kontroli i broja kokona kod tretiranih jedinki (tabela 24). Procentualna razlika u proizvodnji kokona prikazana je u tabeli 23.

Tabela 23. Broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Dankor (a.s. Metribuzin)

W	28 dana	$(K-W/K) \times 100$ (%)	W	56 dana	$(K-W/K) \times 100$ (%)
K	$6,25 \pm 4,64$	0	K	$12,50 \pm 8,66$	0
W1	$1,75 \pm 1,25$	72%	W1	$2,75 \pm 1,25$	78%
W2	0	100	W2	$0,50 \pm 0,57$	96%
W3	0	100	W3	0	100
W4	0	100	W4	0	100
W5	0	100	W5	0	100

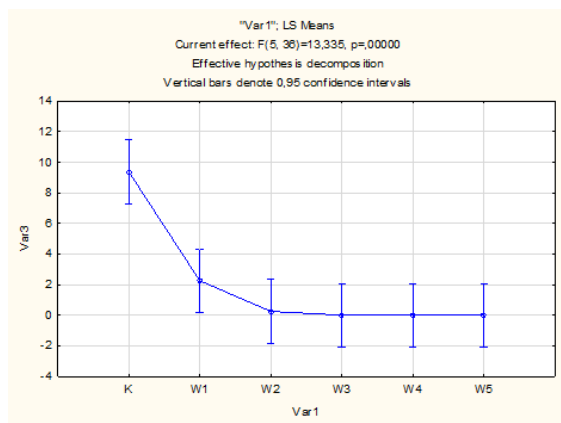
Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; $(K-W/K) \times 100$ (%)= Redukcija broja kokona pod uticajem pesticida u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (99,4 mg/kg), W-2 (198,8 mg/kg), W-3 (399 mg/kg), W-4 (700 mg/kg), W-5 (980 mg/kg)

Tabela 24. Analiza varijanse za broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Dankor (a.s. Metribuzin)

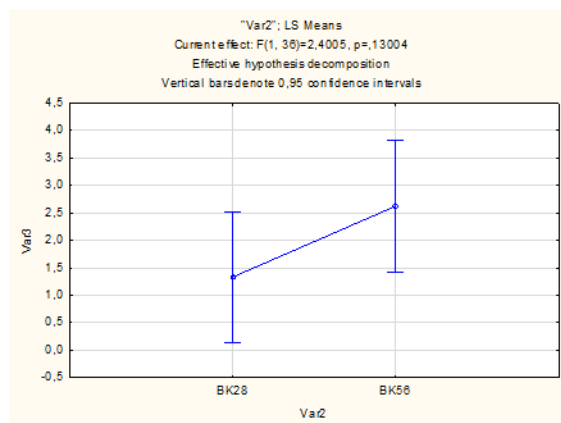
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	556,1042	5	111,2208	13,33539***	<0,000001
Vrijeme (B)	20,0208	1	20,0208	2,40050 ^{NZ}	0,130044
Maseni udio \times Vrijeme (A \times B)	60,6042	5	12,1208	1,45329 ^{NZ}	0,229244
Greška	300,2500	36	8,3403		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za $p < 0,001$ za nivo značajnosti $\alpha = 0,001$; ^{NZ} za $p > 0,05$

Analiza varijanse pokazuje da na proizvodnju kokona visoko značajano utiče maseni udio, dok vrijeme nema značajan uticaj na proizvodnju kokona, kao i interakcija masenog udjela i vremena, što je prikazano u tabeli 24.



Grafikon 17. Produkcija kokona u zavisnosti od masenog udjela herbicida metribuzin isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=13,335^{***}$; $p<0,00001$)



Grafikon 18. Produkcija kokona u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida metribuzin, isključujući maseni udio ($F(1,36)=2,4005^{NZ}$; $p=0,13004$)

Tabela 25. Broj ispiljenih glista nakon izlaganja herbicidu Dankor (a.s. Metribuzin)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)	W	56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	0*	-	K	12,50±10,87	0
W1	0	-	W1	3,50±2,51	72,00
W2	0	-	W2	0	100
W3	0	-	W3	0	100
W4	0	-	W4	0	100
W5	0	-	W5	0	100

Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; (K-W/K)×100 (%)= Redukcija broja ispiljenih glista u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (99,4 mg/kg), W-2 (198,8 mg/kg), W-3 (399 mg/kg), W-4 (700 mg/kg), W-5 (980 mg/kg); *0= nije bilo ispiljenih glista

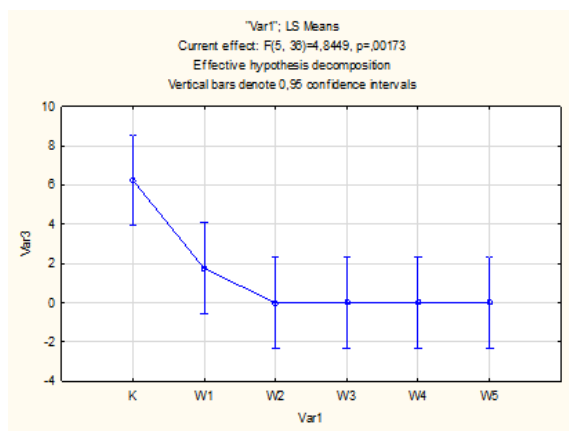
Kada su u pitanju izlegle jedinke nakon 28 dana nije ih bilo u kontroli ni kod tretiranih glista. Nakon 56 dana došlo je do značajne promjene, gdje je u kontrolu bilo ukupno 50 izleglih jedinki (12,500±10,878). Kod glista koje su bile izložene herbicidu broj izleglih jedinki je značajno manji. U koncentraciji jedan bilo ih je samo 4 (3,500±2,516), dok se u koncentraciji dva nije izlegla ni jedna glista. Rezultati su prikazani u tabeli broj 25.

Tabela 26. Analiza varijanse za broj ispiljenih glista nakon izlaganja herbicidu Dankor (a.s. Metribuzin)

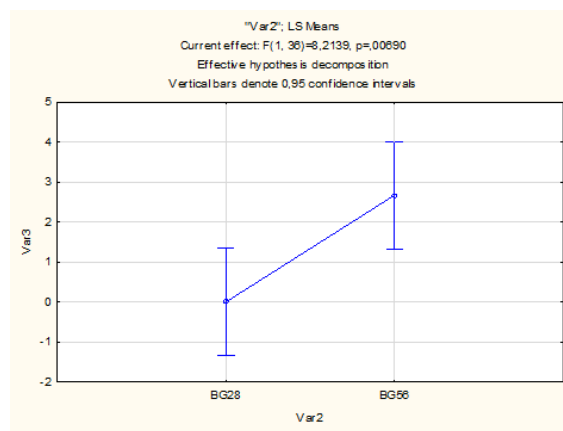
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	251,67	5	50,33	4,84**	0,001726
Vrijeme (B)	85,33	1	85,33	8,21**	0,006901
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	251,67	5	50,33	4,84**	0,001726
Greška	374,00	36	10,39		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; **za $p<0,01$ za nivo značajnosti $\alpha=0,01$

Analiza varijanse za tretman herbicidom Dankor (a. s. Metribuzin), sa interakcijskim efektima prikazana je u tabeli 26. Analiza varijanse pokazuje da na izlegle jedinke glista visoko značajano utiče maseni udio i vrijeme, kao i interakcija masenog udjela i vremena ($F=4,84^{**}$),



Grafikon 19. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od masenog udjela herbicida metribuzin, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=4,8449^{**}$; $p=0,00173$)



Grafikon 20. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida metribuzin, isključujući maseni udio ($F(1,36)=8,2139^{**}$; $p=0,00690$)

5.5. Uticaj herbicida Talisman (a.s. nikosulfuron) na vrstu *Lumbricus rubellus*

Nakon izlaganja od sedam dana mortaliteta nije bilo u kontrolnim grupama. Isti slučaj je i sa grupama koje su bile izložene herbicidima. Rezultati se nisu značajno mijenjali ni nakon 14 dana od izlaganja. Nije bilo gotovo nikakvih razlike između tretiranih i netretiranih jedinki. Stopa mortaliteta *Lumbricus rubellus* izloženih različitim koncentracijama Talismana tokom različitog trajanja, kao i kontrola prikazana je u tabeli 27. Možemo zaključiti da herbicid Talisman sa aktivnom materijom Nikosulfuron nije imao gotovo nikakav uticaj na izložene jedinke, gdje su tokom eksperimenta uginule samo dvije gliste.

Tabela 27. Uticaj različitih koncentracija herbicida nikosulfuron na mortalitet kalifornijskih glista (*Lumbricus rubellus*) nakon 7 i 14 dana izlaganja

W	7 dana		14 dana	
	broj uginulih	% uginulih	broj uginulih	% uginulih
Kontrola	0*	0	0	0
W-1	0	0	0	0
W-2	0	0	0	0
W-3	0	0	0	0
W-4	0,25±0,50	2,5	0,25±0,50	2,5
W-5	0	0	0	0

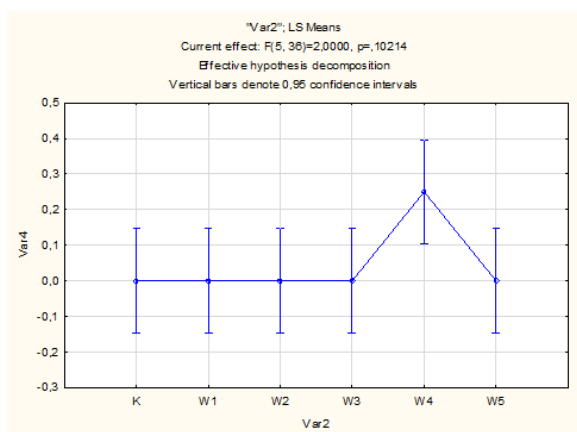
Legenda: Vrijednosti su predstavljene kao srednja aritmetička vrijednost ± standardna devijacija (SD), W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata); K=kontrola; *0= nije bilo uginulih glista; **Napomena:** W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg)

Tabela 28. Analiza varijanse za broj uginulih glista nakon izlaganja herbicidu Talisman (a.s. Nikosulfuron)

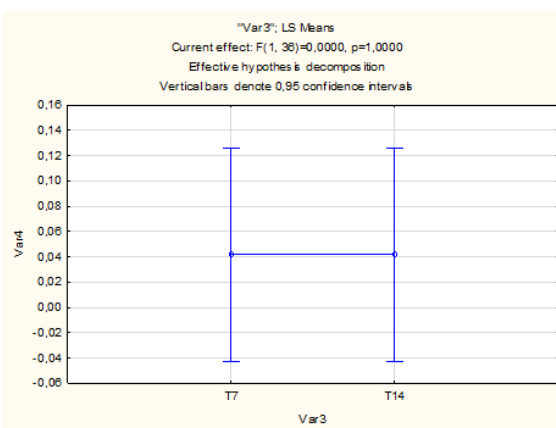
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	0,42	5	0,083333	2,000000 ^{NZ}	0,102139
Vrijeme (B)	0,000000	1	0,000000	0,000000 ^{NZ}	1,000000
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	0,000000	5	0,000000	0,000000 ^{NZ}	1,000000
Greška	1,500000	36	0,041667		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ^{NZ} za p>0,05

Analiza varijanse za tretman herbicidom Talisman (a. s. Nikosulfuron), sa interakcijskim efektima prikazana je u tabeli 28.



Grafikon 21. Mortalitet glista u zavisnosti od masenog udjela herbicida nikosulfuron, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) $F(5,36)=2,00^{NZ}$; $p=0,10214$



Grafikon 22. Mortalitet glista u zavisnosti od vremena izlaganja nikosulfuron, isključujući maseni udio $F(1,36)=0^{NZ}$; $p=1,0$

U ovom ogledu u prvih 28 dana nije bilo proizvedenih kokona kod tretiranih glista. Isti slučaj bio je i sa kontrolom. Nakon 56 dana, došlo je do značajne promjene u proizvodnji kokona, kako u kontroli, tako i kod tretiranih glista. Od tretiranih glista najviše kokona je bilo u koncentraciji jedan ($18,75 \pm 2,62$). Sa povećanjem koncentracije broj kokona se smanjivao, tako da je u petoj koncentraciji bilo najmanje kokona ($5,00 \pm 2,16$). Ukupan broj kokona u kontroli bio je 123 ili po ponavljanjima $30,75 \pm 10,46$. Srednja vrijednost proizvodnje kokona glista i procentualne promjene u različitim koncentracijama talismana navedene su u tabeli 29.

Tabela 29. Broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Talisman (a.s. Nikosulfuron)

W	28 dana	(K-W/K)×100 (%)		56 dana	(K-W/K)×100 (%)
K	0*	-	K	$30,75 \pm 10,46$	0
W1	0	-	W1	$18,75 \pm 2,62$	39,02
W2	0	-	W2	$15,75 \pm 1,70$	48,78
W3	0	-	W3	$12,50 \pm 3,10$	59,34
W4	0	-	W4	$8,75 \pm 2,75$	71,54
W5	0	-	W5	$5,00 \pm 2,16$	83,73

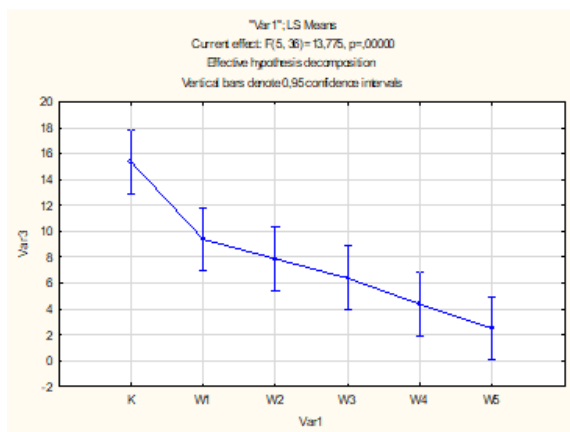
Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s. /kg supstrata); K=kontrola; *0= nije bilo kokona; $(K-W/K) \times 100$ (%)= Redukcija broja kokona pod uticajem pesticida u odnosu na kontrolu
Napomena: W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg)

Tabela 30. Analiza varijanse za broj kokona nakon izlaganja glista herbicidu Talisman (a.s. Nikosulfuron)

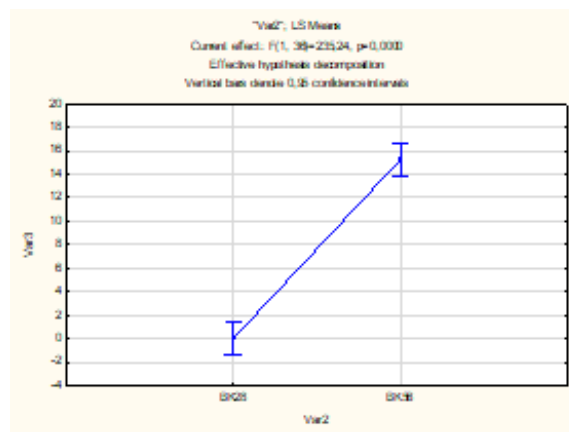
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	812,604	5	162,521	13,7746***	<0,000001
Vrijeme (B)	2775,521	1	2775,521	235,2413***	<0,000001
Maseni udio × Vrijeme (A×B)	818,104	5	163,621	13,8678***	<0,000001
Greška	424,750	36	11,799		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za p<0,001 za nivo značajnosti $\alpha=0,001$

Analiza varijanse pokazuje da na proizvodnju kokona visoko značajano utiče maseni udio i vrijeme, kao i interakcija masenog udjela i vremena ($F=13,8678***$), što se može vidjeti u tabeli 30.



Grafikon 23. Produkcija kokona u zavisnosti od masenog udjela herbicida nikosulfuron, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=13,775$; $p<0,000001$)



Grafikon 24. Produkcija kokona u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida nikosulfuron, isključujući maseni udio ($F(1,36)=235,24***$; $p<0,00001$)

Tabela 31. Broj izleglih glista nakon izlaganja herbicidu Talisman (a.s. Nikosulfuron)

W	28 dana	$(K-W/K) \times 100$ (%)	W	56 dana	$(K-W/K) \times 100$ (%)
K	0,25±0,50	0	K	3,25±3,94	0
W1	0*	100	W1	2,75±2,06	15,38
W2	0	100	W2	2,25±2,62	30,76
W3	0	100	W3	1,00±2,00	69,23
W4	0	100	W4	1,00±2,00	69,23
W5	0	100	W5	0,75±1,50	76,92

Legenda: W= maseni udio aktivne supstance (mg a.s /kg supstrata), K=kontrola; $(K-W/K) \times 100$ (%)= Redukcija broja ispiljenih glista u odnosu na kontrolu; **Napomena:** W-1 (25 mg/kg), W-2 (50 mg/kg), W-3 (100 mg/kg), W-4 (200 mg/kg), W-5 (400 mg/kg); *0= nije bilo izleglih glista

Kad je riječ o izleglim glistama, u prvih 28 dana pojavile su se samo u kontroli (0,25±0,50), dok ih u tretiranim uzorcima nije bilo. Nakon 56 dana došlo je do promjene. U tretiranim uzorcima najviše ih je bio u koncentraciji jedan (2,75±2,06), dok ih je najmanji broj

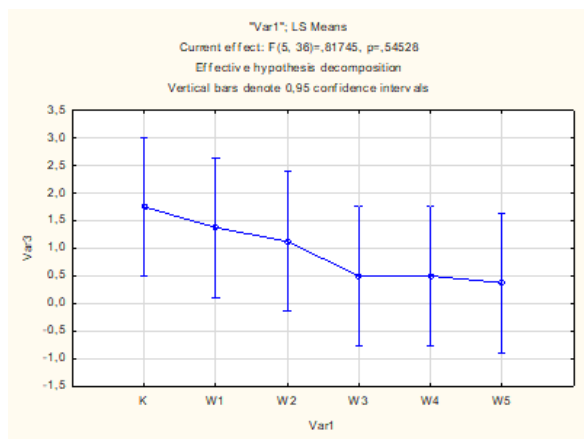
bio u koncentraciji pet ($0,75 \pm 1,50$). Kada je riječ o kontroli i tu je došlo do povećanja broja izleglih jedinki ($3,25 \pm 3,94$). Procentualne promjene u piljenju mladih jedinki prikazane su u tabeli 31.

Tabela 32. Analiza varijanse za broj glista nakon izlaganja herbicidu Talisman (a.s. Nikosulfuron)

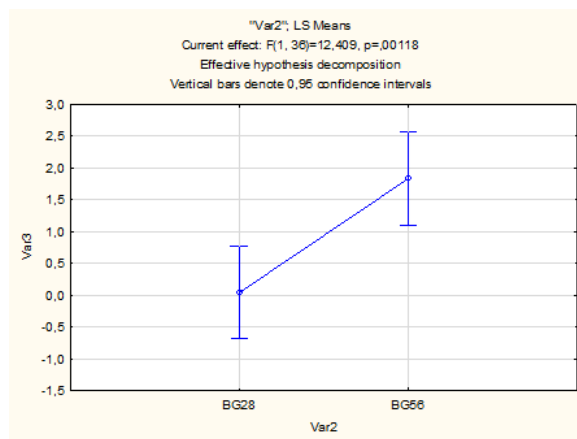
Izvor variranja	SS	d.f.	MS	F	p-vrij.
Maseni udio (A)	12,6875	5	2,53750	0,81745 ^{NZ}	0,545281
Vrijeme (B)	38,5208	1	38,52083	12,40940***	0,001182
Maseni udio \times Vrijeme (A \times B)	9,8542	5	1,97083	0,63490 ^{NZ}	0,674388
Greška	111,7500	36	3,10417		

Legenda: SS= suma kvadrata; d.f.= stepeni slobode; MS= sredina kvadrata; ***za $p < 0,001$ za nivo značajnosti $\alpha = 0,001$; ^{NZ} za $p > 0,05$

Analiza varijanse pokazuje da na broj izleglih glista visoko značajano utiče vrijeme, dok maseni udio nema značajan uticaj, kao i interakcija masenog udjela i vremena, što se može vidjeti u tabeli 32.



Grafikon 25. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od masenog udjela herbicida nikosulfuron, isključujući vrijeme izlaganja (ekspoziciju) ($F(5,36)=0,81745^{\text{NZ}}$; $p=0,54$)



Grafikon 26. Broj ispiljenih jedinki u zavisnosti od vremena izlaganja herbicida nikosulfuron, bez obzira na maseni udio ($F(1,36)=12,409^{**}$, $p=0,00118$)

6. DISKUSIJA

Pesticidi imaju važnu ulogu u zaštiti biljaka od štetnih organizama, ali istovremeno njihovom primjenom dolazi do određenog toksikološkog rizika za beskičmenjake kao što su gliste. Neizbježno je da će pesticidi uticati na gliste jer su one važna komponenta ekosistema zemljišta koji se javlja na različitim dubinama zemljišta gdje stupaju u interakciju sa biljkama i drugim organizmima. Ne samo da pesticidi mogu izazvati trenutnu smrt u nekim slučajevima, već mogu uticati i na funkciju, rast, reprodukciju i opšte zdravlje glista. Zbog toga je važno biti svjestan mogućih efekata koje bilo koja hemikalija može imati na gliste prije nego što je primijenimo na zemljište ili usjeve.

Ekotoksikološka ispitivanja sa glistama se široko koriste i obavezna su za procjenu rizika od pesticida prije registracije i komercijalne upotrebe. Trenutna vrsta modela za standardizovane testove je *Eisenia fetida* ili *Eisenia andrei*. Međutim, ove vrste su odsutne na poljoprivrednim zemljištima i često su manje osjetljive na pesticide od drugih vrsta glista koje se nalaze u mineralnim zemljištima. Da bi se krenulo ka boljoj procjeni uticaja pesticida na ne ciljane organizme, postoji potreba analize koristeći testove za relevantne vrste (Sylvan et al, 2018).

U ovom ogledu je korišćena epigeična vrsta *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister). Nakon informacija o taksonomiji, biologije i ekologije, predstavljena su trenutna saznanja o njezinoj osjetljivosti na neke pesticide. Standardiziranim testovima poput onih korišćenih u ovom radu moguće je procijeniti uticaj različitih onečišćivanja na eksperimentalne organizme.

Rezultati ovog istraživanja su pokazali da je pod uticajem insekticida Cipkord (a.s. cipermetrin) već u prvih sedam dana došlo do smrtnosti glista u svim koncentracijama, a u tri najveće koncentracije je došlo do potpunog uginuća glista. Nakon 14 dana bilo je značajne razlike između kontrole i izloženih jedinki insekticidu (25 mg/kg i 50 mg/kg). Slična situacija je i sa proizvodnjom kokona, kao i sa izleglim mladim glistama. Broj kokona i mladih glista se smanjivao pri koncentraciji većoj od 25 mg/kg u odnosu na kontrolu kako je vrijeme odmicalo, tj nakon 56 dana, koliko je trajao ogled.

Wang et al. (2012) testirali su 24 vrste insekticida. Oni su kao test organizam vrstu koristili *Eisenia fetida*, koristeći standardne procedure OECD 222, gdje je između ostalih korišten i cipermetrin. Na osnovu akutne toksičnosti za 48 sati, cipermetrin je okarakterisan kao veoma toksičan, dok su na osnovu hroničnih testova zaključili da je znatno manje toksičan nego što su to prvobitno zaključili. Rezultati do kojih se došlo u ovim istraživanjima pokazali su da je cipermetrin visoko toksičan pri masenom udjelu od 100 mg/kg, što znači da bi se

mogao okarakterisati kao otrovan. Zhou et al. (2008) su istraživali uticaj cipermetrina na smrt, rast i razmnožavanje odraslih i juvenilnih glista. Rezultati do kojih su došli Zhou et al. (2008) pokazuju da akutna toksičnost cipermetrina nema većeg značajna ni za jedan od stadijuma, za razliku od hroničnih testova, u kojima jedinke imaju manju masu. Takođe, u testovima hronične toksičnosti proizvodnje kokona je značajno smanjena pri koncentracijama većim od 10 mg/kg, kao i izleganje juvenilnih jedinki, dok je u ovim istraživanjima došlo do redukcije broja u odnosu na kontrolu pri masenom udjelu cipermetrina od 25 mg/kg za 33,3% u odnosu na kontrolu, nakon 28 dana, a za 56 broj kokona je bio manji za 66,6%.

Nikosulfuron djeluje na acetolaktat sintazu u biljkama i mikroorganizama. Phaceli et al. (2022.) vršili su testiranje na tri herbicida 2,4-D, glifosat i nikosulfuron. Koristili su vrstu *Eudrilus eugeniae*. Utrvdili su da nikosulfuron negativno utiču na život glista *Eudrilus eugeniae*. Naveli su da gliste bježe iz kontaminiranih sredina u zavisnosti od koncentracije korištenog herbicida. Takođe su primijetili toksični efekat u testovima reprodukcije. Kod tretiranih jedinki došlo je i do smanjenja broja položenih kokona tretiranjem ovim herbicidom. Koncentracija od 0,2 g/l indukovala je nižu stopu izbjegavanja u poređenju sa 0,66 g/l zbog količine herbicida koji se koriste za prskanje.

Kada je u pitanju herbicid nikosulfuron u našim istraživanjima nije bilo smrtnosti tokom 14 dana ispitivanja, kako u kontroli, tako i kod jedinki koje su bile izložene herbicidu. Kada je u pitanju reprodukcija, u prvih 28 dana nije bilo kokona. Takođe u prvih 28 dana nije bilo ni ispiljenih jedinki, osim u kontroli, gdje je ispiljena samo jedna glista. Nakon 56 dana došlo je do nagle pojave kokona, ali piljenje mladih jedinki i dalje je bilo slabo. Ovdje možemo zaključiti da je nikosulfuron uticao na reprodukciju kod *Lumbricus rubellus*, odnosno da je uticao na piljenje mladih jedinki.

Smanjenje broja kokona za 2,4-D, herbicidi glifosata i nikosulfuron bi se mogli objasniti stresom koji gliste trpe zbog prisustva zagađivača u životnoj sredini. U stresnim uslovima, gliste bi smanjile svoju reprodukciju i njihova energija bi se usmjerila u mehanizme preživljavanja (Reinecke et al. 2002). Smanjenje broja kokona glista *Eisenia foetida* od 2,4-D, glifosat herbicidi su takođe primijećeni u laboratoriji naveli su Correia et al. (2010).

U našoj studiji herbicid sa aktivnom materijom metribuzin pokazao je značajnu razliku između tretiranih jedinki i jedinki koje su bile u kontroli. U prvih sedam dana mortalitet se javio u svim tretiranim uzorcima, osim u kontroli. U tri najviše koncentracije metribuzina došlo je do 100 % uginuća. Što se tiče mortaliteta nakon 14 dana, došlo je do povećanja mortaliteta u prve dvije koncentracije (0,071 g/0,5 kg i 0,142 g/0,5 kg). U kontroli nije bilo promjene u odnosu na prvih sedam dana. Što se tiče reprodukcije kokoni su se u prvih 28 dana pojavili

samo u najnižoj koncentraciji i kontroli, dok ispiljenih jedinki nije bilo ni u kontroli ni u tretiranim uzorcima glista. Nakon 56 dana došlo je do povećanja broja kokona, kao i izleganja mladih, s tim da su se mlade pojavile samo u najnižoj koncentraciji. Na osnovu dobijenih rezultata možemo zaključiti da metribuzin ipak utiče na mortalitet i samu reprodukciju glista.

Prema Moslehu et al. (2003), čak i ako je značaj kišnih glista u ekotoksikološkim studijama dobro priznat, još uvek postoji potreba za dalji istraživanjima o toksičnosti specifičnih pesticida na takve neciljane organizme. Većina objavljenih ekotoksikoloških studija o kišnim glistama je fokusirana na metale, dok su dejstva pesticida manje proučavana (Pelosi et al., 2014). Travlos et al., (2017) naveli su da su njihovi rezultati na tri herbicida od kojih je jedan i metribuzin, otkrili značajne efekte metribuzina na rast i preživljavanje kišnih glista. Štaviše, bilo je značajno interakcija količine herbicida i vremena nakon tretmana, sa najvećim smanjenjem tretmana sa duplo više od preporučenih stopa. Međutim, ekstrapolacija uočenih efekata pesticida u laboratorijskim studijama na efekte u studijama na terenu mogu ometati varijable životne sredine kao što su parametri zemljišta i vremenski uslovi kako navode Yasmin et al., (2010), a samim tim i dalje studije u nizu okruženja su potrebni. Ipak, upotreba sredstava za zaštitu bilja poput herbicida uvijek treba da bude u skladu sa registracijama kako bi se obezbijedila njihova održivost i minimizirali štetni efekti, uz druge kulturne ili nehemijske metode u integrisanom kontekst upravljanja usjevima i korovom. Elham S. K. (2022.) naveli su da je metribuzin izazvao 100% mortalitet pri visokim dozama već nakon 3-4 h nakon izlaganja na filter papir.

Kada je u pitanju herbicid Kvazar (a.s. Imazamoks) u kontrolnim uslovima nije bilo uginulih nakon sedam i nakon 14 dana. U tretirani uzorcima došlo je do pojave mortaliteta u prvih sedam dana. Mortalitet se blago povećavao sa povećanjem koncentracije. Takođe, nakon 14 dana došlo je do povećanja uginulih jedinki. Kada je u pitanju reprodukcije, kokoni su se pojavili već u prvih 28 dana. Broj kokona se povećavao nakon 56 dana, kako u kontroli, tako i kod tretiranih uzoraka. Piljenje jedinki u prvih 28 dana bilo je samo u kontroli i najnižoj koncentraciji. Nakon 56 dana došlo je do pojave ispiljenih jedinki u svim tretiranim uzorcima i kontroli.

7. ZAKLJUČAK

Gliste poput *Lumbricus rubellus* veoma su važne i korisne za zemljišnu faunu. Svojom aktivnošću obogaćuju zemljište organskim materijama i utiču na plodnost zemljišta. Zbog toga i mnogih drugih razloga potrebno je poznavati i istražiti kako pesticidi utiču na gliste i druge organizme u zemljištu. U ovom radu su korišten je insekticid Cipkord (a.s. Cipermetrin) i tri herbicida Talisman (a.s. Nikosulfuron), Dankor (a.s. Metribuzin) i Kvazar (a.s. Imazamoks) koji su lokalno najčešće u upotrebi. Ispitivanja su sprovedena na osnovu smjernica OECD-a. Laboratorijska ispitivanja su rađena od decembra do maja. Svaki od pesticida, koji je procjenjivan korišćenjem vještačkog testa zemljišta, pokazao je drugačiji stepen toksičnosti na vrsti *Lumbricus rubellus*. U kontrolnim saksijama nije bilo uginulih, sve jedinke su preživjele. Cipkord je uticao na smrtnost gliste, kao i na proizvodnju kokona. Takođe uticao je i na izlegle jedinke, tj. odložio je vrijeme izleganja mladih jedinki. Izračunata LC_{50} vrijednost je iznosila 50,70 mg/kg, što je približno našoj drugoj koncentraciji.

Dugoročna upotreba preparata Cipkord bi dovela do značajnog smanjenja broja glista, što dalje dovodi do pogoršanja kvaliteta zemljišta. Pogoršanjem kvaliteta zemljišta proizvodnja slabi, što ima za posljedice nedostatak hrane, a time direktno utiče i na samog čovjeka.

Rezultati za Talisman pokazuju da je ovaj herbicid nije imao prevelik uticaj na mortalitet glista. Što se tiče proizvodnje kokona možemo reći da je ovaj herbicid usporio njihovu proizvodnju. Takođe je usporio i piljenje mladih glista, što gledano dugoročno ne bi izazvalo velike promjene u broju glista, a samim tim ni u pogledu kvaliteta zemljišta.

Takođe u ovom ogledu smo koristili i herbicid Kvazar, čiji su rezultati pokazali da ni ovaj herbicid nije imao prevelik uticaj na mortalitet glista. Ovdje možemo zaključiti da je u kontroli bilo značajno više kokona u odnosu na tretirane jedinke, što znači da je i ovaj herbicid blago uticao na proizvodnju kokona. Za razliku od ostalih herbicida ovdje su se u najnižoj koncentraciji, kao i u kontroli, pojavile ispiljene gliste. Takođe i ovdje možemo zaključiti da je herbicid usporio piljenje mladih jedinki.

Posljednji korišten herbicid u ogledu bio je Dankor. Dankor je uticao na mortalitet glista, naročito u visokim koncentracijama. Što se tiče proizvodnje kokona, došlo je do njihovog smanjenja sa povećanjem koncentracije, što je isti slučaj i sa izleglim glistama.

Rezultati toksikoloških istraživanja pokazuju da su gliste na osnovu krajnjih tačaka kao što su rast i reprodukcija veoma osjetljive na ispitivanje herbicida. Bez obzira, što ne utiče na smrt, utiče na subletalne krajnje tačke, koje su znatno osjetljiviji parametri za procjenu, što u dužem vremenskom intervalu, znači uticaj na samu populaciju glista.

8. LITERATURA

- Anisetti, S. S., Patnaik, A. (2018). Impact of soil physico-chemical properties on distribution of earthworm populations across different land use patterns in southern India. *The Journal of Basic and Applied Zoology*. 79. 10.1186/s41936-018-0066-y.
- Bart, S., Amossé, J., Lowe, C.N., Mougin, C., Pery, A.R.R., et al. (2018). *Aporrectodea caliginosa*, a relevant earthworm species for a posteriori pesticide risk assessment: current knowledge and recommendations for culture and experimental design. *Environ Sci Pollut Res* 25, 33867–33881. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2579-9>
- Bartlett, M., Briones, M., Neilson, R., Schmidt, O., Spurgeon, D., Creamer, R. (2010): A critical review of current methods in earthworm ecology: From individuals to populations. *European Journal of Soil Biology*. 46 (2): 67-73 (doi: 10.1016/j.ejsobi.2009.11.006)
- Blouin, M., Hodson, M. E., Delgado, E. A., Baker, G., Brussaard, L., Butt, K. R., Dai, J., Dendooven, L., Peres, G., Tondoh, J. E., Cluzeau, D., Brun, J. J. (2013). A review of earthworm impact on soil function and ecosystem services. *Eur J Soil Sci*, 64: 161-182 (<https://doi.org/10.1111/ejss.12025>).
- Booth, L.H., Hodge, S., O'Halloran K. (2000). Use of cholinesterase in *Aporrectodea caliginosa* (Oligochaeta; Lumbricidae) to detect organophosphate contamination: Comparison of laboratory tests, mesocosms, and field studies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19 (2): 417–422 (doi: [org/10.1002/etc.5620190222](https://doi.org/10.1002/etc.5620190222))
- Budimir, M., Radivojević, Lj., Brkić, D., Nešković, N. (2005). Ekotoksikološka svojstva herbicida. Sulfoniluree. Institut „Srbija“, Centar za pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd-Zemun.
- Čaćija, M., Štivičić A., Grubišić D., Juran I. (2021). Uloga i značaj gujavica iz porodica Lumbricidae i Enchytraeidae u ekosustavima tla. Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za poljoprivrednu zoologiju, Agencija za plaćanja u poljoprivredi, ribarstvu i ruralnom razvoju.
- Chaudhuri, P., Debnath, S. (2020). Growth and Reproductive Biology of Earthworms in Organic Waste Breakdown Under the Indian Condition. In: Bhat, S., Vig, A., Li, F., Ravindran, B. (eds) *Earthworm Assisted Remediation of Effluents and Wastes*. Springer, Singapore (doi: 10.1007/978-981-15-4522-1_11)
- Edwards, C.A., Bohlen, P.J. (1996). The influence of environmental factors on earthworms. In: Edwards, C.A., Bohlen, P.J. (eds.). *Biology and ecology of earthworms*. 3rd ed. London: Chapman and Hall. pp. 134-162
- Elichama Desiree P. A., Mama, K., Baba, S. D., Florent, H. J., Roland N. K., Ardjouma, D. (2022). Effect of Herbicides Used in Vegetable and Fruit Crops (2,4-D, Glyphosate and Nicosulfuron) on Earthworms (*Eudrilus eugeniae*). *International Journal of Ecotoxicology and Ecobiology*. Vol. 7, No. 2, pp. 15-23. (doi: 10.11648/j.ijee.20220702.11).
- Escudero, G. J., Lagerlöf, J., Martínez Debat, C., Pérez, C. A. (2019). Identification of Earthworm Species in Uruguay Based on Morphological and Molecular Methods. *Agrociencia Uruguay*, Vol. 23, No.1, pp. 37-46 (On-line ISSN 2301-1548)

- Gkotsi, T., Roussis, I., Charis-Konstantina, K., Kakabouki, I., Bilalis, D. (2017). Effects of the herbicides benfluralin, metribuzin and propyzamide on the survival and weight of earthworms (*Octodrilus complanatus*). *Plant, Soil and Environment*. 63. 117-124. (doi: 10.17221/811/2016-PSE).
- Gowri, S., Thangaraj, R., (2020). Studies on the toxic effects of agrochemical pesticide (Monocrotophos) on physiological and reproductive behavior of indigenous and exotic earthworm species, *International Journal of Environmental Health Research*, , 30:2, 212-225 (doi: 10.1080/09603123.2019.1590538)
- Gowri, S., Thangaraj, R. (2019). Studies on the toxic effects of agrochemical pesticide (Monocrotophos) on physiological and reproductive behavior of indigenous and exotic earthworm species. *INTERNATIONAL JOURNAL OF ENVIRONMENTAL HEALTH RESEARCH*. 30:2, 212-225, (<https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1590538>)
- Grahovac, N. L. (2016). Praćenje ostataka sulfonilurea u zemljištu u realnim uslovima primenom visoko-pritisne tečne hromatografije. Doktorska disertacija. Univerzitet u Novom Sadu; Tehnološki fakultet Novi Sad.
- Hale, C., Frelich, L., Reich, P., Pastor, J. (2005). Effects of European earthworm invasion on soil characteristics in northern hardwood forest of Minnesota, USA. *Ecosystems*, 8, 911-927(doi: 10.1007/s10021-005-0066-x.)
- Hayo M.G. van der Werf (1996). Assessing the impact of pesticides on the environment, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Volume 60, Issues 2–3, pp. 81-96 (ISSN 0167-8809, [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(96\)01096-1](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01096-1)).
- Lemtiri, A., Liénard, A., Alabi, T., Brostaux, Y., Cluzeau, D., Francis, F., Colinet, G. (2016). Earthworms *Eisenia fetida* affect the uptake of heavy metals by plants *Vicia faba* and *Zea mays* in metal-contaminated soils. *Applied Soil Ecology*, Vol. 104, pp. 67-78 (ISSN 0929-1393, doi: 10.1016/j.apsoil.2015.11.021).
- Lopes Pereira, J., Alberto da Silva A., Coutinho Picanço, M., Cristi de Barros E., Jakelaitis, A. (2005). Effects of Herbicide and Insecticide Interaction on Soil Entomofauna Under Maize Crop, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 40:1, 45-54, (doi: 10.1081/PFC-200034212).
- Lyons, K. G., Brigham, C. A., Traut, B. H., Schwartz, M. W. (2005). Rare species and ecosystem functioning. *Conserv. Biol.*, Vol. 19, No. 4, pp. 1019–1024.
- Mosleh, Y. Y., Paris-Palacios, S., Couderchet, M., Vernet, G. (2003). Effects of the herbicide isoproturon on survival, growth rate, and protein content of mature earthworms (*Lumbricus terrestris* L.) and its fate in the soil. *Applied Soil Ecology*, Vol. 23, Issue 1, pp. 69-77 (ISSN 0929-1393, doi: 10.1016/S0929-1393(02)00161-0).
- Митровић, М. (1999): Лумбрикултура- гајење глиста, ДИП НОЛИТ и ИШП ЕВРО, Београд, 1-73.
- OECD (2016), Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264264496-en>.

- Pal Vig, A., Singh, J., Suthar, S., (2022). Earthworm Engineering and Applications. Nova Science Publishers, Inc., New York (ISBN 9781685076412 (adobe pdf), doi.org/10.52305/VLNM4957)
- Patel, P., Prajapati, RT. (2020). Possible Toxicological Effect of Pesticides, Cypermethrin on Earthworm (*Eisania fetida*). International Journal of Research in Engineering, Science and Management, Vol. 3, No. 12, pp. 138–143, (https://doi.org/10.47607/ijresm.2020.425)
- Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y. et al. (2014). Pesticides and earthworms. A review. Agron. Sustain. Dev. 34, 199–228 (https://doi.org/10.1007/s13593-013-0151-z)
- Pereira, V. J., da Cunha, J.P.A.R., de Moraes, T.P., Ribeiro-Oliveira, J-P., de Moraes, J.B. (2016). *Physical-chemical properties of pesticides: Concepts, applications, and interactions with the Environment*. Biosci. J., Uberlândia, v. 32, n. 3, 627–641.
- Reddy Chakra, N., Venkateswara Rao, J. (2008): Biological response of earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) to a organophosphorous pesticide, profenofos. Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol. 71, p. 574–582 (https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.01.003.)
- Samadi Kalkhoran, E., Alebrahim, M. T., Mohammaddoust Chamn Abad, H. R., Streibig, J. C., Ghavidel, A., Tseng, T. M. P. (2022). The Survival Response of Earthworm (*Eisenia fetida* L.) to Individual and Binary Mixtures of Herbicides. Toxics 2022, Vol. 10, Issue 6, 320. (https://doi.org/ 10.3390/toxics10060320).
- Stjepanović, N. (2017). Utjecaj herbicida na različite molekularne biomarkere kod gujavice vrste *Dendrobaena veneta* (Rosa, 1886). Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, odjel za biologiju.
- Секулић, Ј. (2017). Фаунистичка и екотоксиколошка студија Lumbricidae (Annelida: Oligochaeta) централне Србије. Докторска дисертација. Универзитет у Крагујевцу; Природно-математички факултет.
- Šunjka, D., Lazić, S., Vuković, S. (2012). Zagađenje podzemnih voda pesticidima. Biljni lekar, Vol. 40, br. 1, 64–73.
- Travlos, I. S., Gkotsi, T., Roussis, I., Kontopoulou, C., Kakabouki, I., Bilalis, D. J. /2017). Effects of the herbicides benfluralin, metribuzin and propyzamide on the survival and weight of earthworms (*Octodrilus complanatus*). Plant Soil Environ.; 63 (3):117-124. doi: 10.17221/811/2016-PSE.
- Trivić, D. (2017). Intenzivna proizvodnja kalifornijskih glista i lumbrihumusa u našim prostorima. Završni rad. Univerzitet u Banjoj Luci, Poljoprivredni fakultet.
- Ulukütük, S., Ciğerci, İ. H. (2020). Genotoxic Evaluation of Bentazone and Chloridazon Herbicides in *Eisenia hortensis* Coelomocytes. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 20 (6), 963-967 (doi: 10.35414/akufemubid.827228)
- Velki, M. (2014). Usporedba triju sustava testiranja toksičnosti pesticida dimetoata, pirimifos metila i deltametrina upotrebom molekularnih biljega gujavica (Lumbricidae). Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet- biološki odsjek.
- Venkateswara Rao, J., Surya Pavan, Y., Madhavendra, S. S. (2003). Toxic effects of chlorpyrifos on morphology and acetylcholinesterase activity in the earthworm, *Eisenia foetida*. Ecotoxicology and Environmental Safety, Volume 54, Issue 3, pp. 296-301 (ISSN 0147-6513, doi: 10.1016/s0147-6513(02)00013-1)

- Vrbat, G. (2017). Utjecaj nanočestica cinka na ekspresiju biokemijskih biljega izloženosti kod kompostne gujavice (*Eisenia fetida*). Diplomski rad. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, odijel za biologiju
- Wang, Y., Cang, T., Zhao, X., Yu, R., Chen, L., Wu, C., Wang, Q. (2012). Comparative acute toxicity of twenty-four insecticides to earthworm, *Eisenia fetida*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol. 79, pp. 122-128 (ISSN 0147-6513, doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.12.016).
- Zhou S P, Duan C Q, Wang X H, Wong H G M, Yu Z F, Fu H, 2008. Assessing cypermethrin-contaminated soil with three different earthworm test methods. *Journal of Environmental Sciences*, 20 (11): 1381–1385.
- Shahla, Y., D'Souza, D. (2010). Effects of Pesticides on the Growth and Reproduction of Earthworm: A Review. *Applied and Environmental Soil Science*, Vol. 2010, Article ID 678360, 9 pages, <https://doi.org/10.1155/2010/67836>.

9. PRILOZI

Prilog 1: Pregled toksičnosti insekticida za kišnu glistu*

Aktivna supstanca	IRAC klasifikacija		Toksičnost za kišnu glistu	
	Glavna grupa	Podgrupa	Akutna	Hronična
			LC50 (mg kg ⁻¹) ex. 14 dana	NOEC (mg kg ⁻¹)
Karbamati (<i>Carbamates</i>)				
Formetanate	1	1A	1048	1,8
Oxamyl	1	1A	112	6,4
Pirimicarb	1	1A	653	5,46
Organofosfati (<i>Organophosphates</i>)				
Fosthiazate	1	1B	209	100
Malathion	1	1B	306	-
Piretroidi, Piretrini (<i>Pyrethroids, Pyrethrins</i>)				
Lambda-Cyhalothrin	3	3A	> 500	3,125
gamma-Cyhalothrin	3	3A	> 650	0,25
Cypermethrin	3	3A	> 100	> 5.3
Deltamethrin	3	3A	> 645	0,165
Esfenvalerate	3	3A	10,6	-
Tau-Fluvalinate	3	3A	> 500	1,44
Tefluthrin	3	3A	1	0,16
Neonikotinoidi (<i>Neonicotinoids</i>)				
Acetamiprid	4	4A	9	1,26
Sulfoksimines (<i>Sulfoximines</i>)				
Sulfoxaflor	4	4C	0,855	0,1
Butenolidi (<i>Butenolides</i>)				
Flupyradifurone	4	4D	185,6	-
Spinosini (<i>Spinosyns</i>)				
Spinetoram	5	/	> 500	9,33
Piriproksifen (<i>Pyriproxyfen</i>)				
Pyriproxyfen	7	7C	> 500	-
Generatori metil izotiocijanata (<i>Methyl isothiocyanate generators</i>)				
Dazomet	8	8F	6,5	-
Metam-potassium	8	8F	> 400	-
Heksitiazoks (<i>Hexythiazox</i>)				
Hexythiazox	10	10A	> 52.5	-
Buprofezin (<i>Buprofezin</i>)				
Buprofezin	16	/	> 500	125
Diacilhidrazini (<i>Diacylhydrazines</i>)				
Chromafenozide	18	/	> 500	-
Methoxyfenozide	18	/	> 607	2,04
Tebufenozide	18	/	> 1000	> 1000
Bifenazati (<i>Bifenazate</i>)				
Bifenazate	20	20D	> 429	9,75

*izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire,
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>

- nastavak tabele u prilogu 1

Aktivna supstanca	IRAC klasifikacija		Toksičnost za kišnu glistu	
	Glavna grupa	Podgrupa	Akutna	Hronična
			LC50 (mg kg ⁻¹) ex. 14 dana	NOEC (mg kg ⁻¹)
Meti akaricidi i insekticidi (<i>Meti acaricides and insecticides</i>)				
Fenazaquin	21	21A	> 13.25	0,6
Fenpyroximate	21	21A	34,7	2,71
Pyridaben	21	21A	19	0,29
Semikarbazoni (<i>Semicarbazones</i>)				
Metaflumizone	22	22B	> 500	3,46
Derivati tetronične i tetramične kiseline (<i>Tetronic and tetramic acid derivatives</i>)				
Spiromesifen	23	/	> 1000	> 4.32
Spirotetramat	23	/	> 1000	100
Fosfidi (Phosphides)				
Aluminium phosphide	24	24A	663,5	-
Derivati beta-ketonitrila (<i>Beta-ketonitrile derivatives</i>)				
Cyflumetofen	25	25A	> 1000	-
Diamidi (<i>Diamides</i>)				
Chlorantraniliprole	28	/	> 1000	350
Flubendiamide	28	/	> 500	500
Flonicamid (<i>Flonicamid</i>)				
Flonicamid	29	/	> 1000	-
*izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm				

Prilog 2: Pregled toksičnosti herbicida za kišnu glistu*

Aktivna supstanca	HRAC i WSSA klasifikacija		Datum uvrštavanja a.s. u EU	Toksičnost za kišnu glistu	
	HRAC (naslijeđeni)	HRAC/WSSA		Akutna (mg kg ⁻¹)	Hronična (mg kg ⁻¹)
Ariloksifenoksipropionati (AOPPs ili FOPs)					
Clodinafop-propargil	A	1	30/04/2024	197	-
Diklofop-methyl	A	1	31/05/2023	> 500	-
Fenoxaprop-P-ethyl	A	1	31/12/2022	> 500	>= 28.0
Fluazifop-P-butyl	A	1	31/12/2023	> 500	-
Propaquizafop	A	1	30/11/2022	> 500	1,95
Quizalofop-P-ethyl	A	1	30/11/2022	> 500	250
Quizalofop-P-tefuryl	A	1	30/11/2022	> 500	-
Cikloheksandioni (CHD ili DIMs)					
Clethodim	A	1	31/05/2023	65	-
Cycloxydim	A	1	31/05/2023	> 500	-
Fenilpirazolin (DENs)					
Pinoxaden	A	1	30/06/2026	> 500	-
Imidazolinoni					
Imazamox	B	2	31/10/2025	> 901	5,85
Sulfonylamino-carbonyl-triazolinones					
Thiencarbazone-methyl	B	2	30/09/2024	> 1000	-
Sulfonylureas					
Amidosulfuron	B	2	31/12/2022	> 1000	42,5
Bensulfuron-methyl	B	2	31/10/2022	> 1000	-
Flazasulfuron	B	2	31/07/2032	> 15.75	8,0
Foramsulfuron	B	2	31/05/2035	453	>= 2.75
Halosulfuron-methyl	B	2	30/09/2023	> 1000	-
Mesosulfuron-methyl	B	2	30/06/2032	> 1000	125
Metsulfuron-methyl	B	2	31/03/2023	> 1000	>= 0.83
Nicosulfuron	B	2	31/12/2022	> 1000	0,1
Prosulfuron	B	2	31/07/2024	> 1000	0,73
Rimsulfuron	B	2	30/04/2023	> 1000	-
Sulfosulfuron	B	2	31/12/2030	> 848	>= 0.13
Tribenuron-methyl	B	2	30/01/2034	> 1000	3,2
Thifensulfuron-methyl	B	2	31/10/2031	> 2000	34,3
Triflurosulfuron-methyl	B	2	31/12/2022	> 1000	125
Tritosulfuron	B	2	30/11/2022	> 1000	7,5
Triazolopyrimidine					
Florasulam	B	2	31/12/2030	> 1320	> 1320
Penoxsulam	B	2	31/07/2023	> 1000	> 115.5
Pyoxsulam	B	2	30/04/2025	> 78.0	1,07
Triazines					
Terbuthylazine	C1	5	31/12/2024	> 141.7	-
Triazinones					
Metamitron	C1	5	31/08/2022	914	28
Metribuzin	C1	5	31/07/2020	427	> 52.3

*izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>

-nastavak tabele iz priloga 2

Aktivna supstanca	HRAC i WSSA klasifikacija		Datum uvrštavanja a.s. u EU	Toksičnost za kišnu glistu	
	HRAC (naslijeđeni)	HRAC/WSSA		Akutna (mg kg ⁻¹)	Hronična (mg kg ⁻¹)
Uracils					
Lenacil	C1	5	31/12/2020	> 1000	1000
Phenylcarbamates					
Phenmedipham	C1	5	31/07/2023	36	>= 10
Ureas					
Fluometuron	C1	5	31/08/2024	> 500	15
Metobromuron	C1	5	31/12/2024	233	-
Phenyl-pyridazines					
Pyridate	C2	7	31/12/2030	125	-
Benzothiadiazinone					
Bentazone	C2	7	31/05/2025	> 1000	-
Diphenyl ethers					
Bifenox	E	14	31/12/2022	> 500	> 2,55
Oxyfluorfen	E	14	31/12/2024	> 500	12
Phenylpyrazoles					
Pyraflufen-ethyl	E	14	31/03/2031	> 500	>= 250
Triazolinones					
Carfentrazone-ethyl	E	14	31/07/2033	> 410	17,72
N-Phenyl-phthalimides					
Flumioxazin	E	14	28/02/2037	> 491	-
Pyridine carboxamides					
Picolinafen	F1	12	30/06/2031	> 500	1,675
Diflufenican	F1	12	31/12/2022	> 500	> 500
Other					
Flurochloridone	F1	12	31/05/2023	> 227	10
Triketones					
Mesotrione	F2	27	31/05/2032	> 2000	10,85
Sulcotrione	F2	27	31/08/2023	> 1000	-
Tembotrione	F2	27	31/07/2024	> 1000	1,25
Isoxazoles					
Isoxaflutole	F2	27	31/07/2034	> 500	8,9
Glycines					
Glyphosate	G	9	15/12/2022	> 5600	> 21,31
Dinitroanilines					
Benfluralin	K1	3	28/02/2023	> 500	30,8
Pendimethalin	K1	3	30/11/2024	> 1000	33,45
Benzamides					
Propyzamide	K1	3	30/06/2025	> 173	3,3
Benzamide					
Isoxaben	L	21	31/08/2024	> 500	3,34
Chloroacetamides					
Dimethachlor	N	8	31/12/2022	102	70
Dimethenamid-P	N	8	31/08/2034	294,4	25,4
Metazachlor	N	8	31/07/2023	500	> 2,31
Pethoxamid	N	8	30/11/2033	316	0,8

*izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>

-nastavak tabele iz priloga 2

Aktivna supstanca	HRAC i WSSA klasifikacija		Datum uvrštavanja a.s. u EU	Toksičnost za kišnu glistu	
	HRAC (naslijeđeni)	HRAC/WSSA		Akutna (mg kg ⁻¹)	Hronična (mg kg ⁻¹)
Thiocarbamates					
Tri-allate	N	8	31/12/2022	> 274.5	13,62
Benzofurans					
Ethofumesate	N	8	31/10/2031	134	> 4.42
Pyridine-carboxylates					
Picloram	O	4	31/12/2022	> 4475	0,167
Clopyralid	O	4	30/09/2036	> 1000	>= 1,97
Aminopyralid	O	4	31/12/2024	> 1000	-
Pyridine-carboxylates					
2,4-D	O	4	31/12/2030	350	62,5
2,4-DB	O	4	31/10/2032	> 1000	10
Dichlorprop-P	O	4	30/04/2023	> 500	309
Benzoates					
Dicamba	O	4	31/12/2022	> 1000	51,25
Quinoline-carboxylates					
Quinmerac	O	4	31/07/2024	> 1000	0,775
Unknown					
Aclonifen	Z	26	31/07/2023	150	45
Pelargonic acid	Z	26	31/08/2023	> 105	250
Napropamide	Z	26	31/12/2023	282	30
*izvor: PPDB: Pesticide Properties DataBase, University of Hertfordshire, http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm					

10. BIOGRAFIJA

Rajko Lazendić je rođen 16.02.1991. godine u Mrkonjić Gradu, stalno nastanjen takođe u Mrkonjić Gradu. Osnovnu školu je završio u Mrkonjić Gradu 2006. godine. Nakon toga upisao je Gimnaziju u Mrkonjić Gradu, gdje je maturirao 2010. godine. Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Banjoj Luci upisao je školske 2010/2011 godine. Završni rad prvog ciklusa studija pod nazivom „Ispitivanje fitotoksičnosti folijarnih herbicida u krmnim leguminozama“ uspješno je odbranio 28.05.2015. godine sa ocjenom izuzetan (10), čime je stekao zvanje diplomirani inženjer poljoprivrede za biljnu proizvodnju, usmjerenje zaštita biljaka – 180 ECTS bodova. Prosječna ocjena tokom studija prvog ciklusa iznosi 7,31.

Studije drugog ciklusa studija upisao je 2016. godine, na Studijskom programu BILJNE NAUKE, Usmjerenje ZAŠTITA BILJAKA Poljoprivrednog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci.



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF AGRICULTURE



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
10/3. 2561/23
02-10-2023

**КОМИСИЈА ЗА ПРЕГЛЕД, ОЦЈЕНУ И ОДБРАНУ ЗАВРШНОГ- МАСТЕР РАДА
НА ДРУГОМ ЦИКЛУСУ АКАДЕМСКИХ СТУДИЈА ПОЉОПРИВРЕДНОГ
ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БАЊОЈ ЛУЦИ**

1. **Др Бранимир Њежић**, ванредни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област: Заштита здравља биљака и агроекологија- председник;
2. **Др Небојша Савић**, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област: Рибарство, Сточарство - члан.
3. **Др Сениша Митрић**, редовни професор, Пољопривредни факултет Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област: Заштита здравља биљака и агроекологија- ментор-члан.

Одлуком Научно – наставног вијећа Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци број 10/3.351-7-11/23, од 4. фебруара 2023. године именовани смо у Комисију за преглед, оцјену и одбрану мастер рада кандидата Рајка Лазендића, дипл. инж., студента II циклуса студија, под насловом: „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“.

ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени урађеног мастер рада под насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“, студента другог циклуса студија Рајка Лазендића, дипл. инж.

**НАСТАВНО- НАУЧНОМ ВИЈЕЋУ ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БАЊОЈ ЛУЦИ**

Мастер рад под насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“, студента другог циклуса студија Рајка Лазендића, дипл. инж. на студијском програму БИЉНЕ НАУКЕ- Усмјерење ЗАШТИТА БИЉАКА, је рађен под менторством проф. др Сенише Митрића.

Рад је написан на 55 страница, од којих је 5 страница Прилога и садржи 32 табеле, 26 графикана и 9 слика. Мастер рад садржи сљедећа поглавља: Апстракт на српском и енглеском језику, Садржај, Увод, Преглед литературе, Циљ истраживања, Материјал и методе рада, Резултати истраживања, Дискусија, Закључци, Литература, Прилог и Биографија аутора.

ПРИКАЗ АНАЛИЗЕ МАСТЕР РАДА ПО ЦЈЕЛИНАМА (ПОГЛАВЉИМА)

У **УВОДУ** кандидат смјешта, сасвим оправдано, подручје својих истраживања у област екотоксикологије. Тако у **УВОДУ** и дефинише екотоксикологију као мултидисциплинарну науку која се бави проучавањем штетних ефеката хемијских супстанци на организме у популацијама и екосистемима. Екотоксикологија описује и квантификује штетне ефекте које могу да изазову загађујуће материје (хемикалије) на живе организме у животној средини. Када штетна материја наноси штету екосистему, ради се о њеном екотоксичном дејству. Екотоксикологија се некад назива и екотоксикологијом животне средине, с тим да то укључује и ефекте хемикалија на животну средину и на човјека. У уводу кандидат пише о методама за испитивање токсичности хемикалија на бескичмењаке у земљишту, а што укључује и коришћење глиста као тест организма и праћење краткотрајних (акутних) одговора као што је преживљавање, односно утврђивање морталитета. Кандидат наглашава да се осим мјерења морталитета данас користе и други бројни тестови помоћу којих се прати и утицај на репродукцију, тј. на смањење или повећање репродукције односно повећање или смањење броја положених кокона, броја излеглих младих јединки и њихово понашање. У уводу кандидат истиче и значај земљишта; указујући да се земљиште сматра најстаријом радно производном категоријом, као што је пољопривредна производња најстарија производна дјелатност човјека или друштва. Земљиште представља значајну компоненту човјекове околине и најважнији природни ресурс, који може бити један од кључних ограничавајућих фактора биљне производње. Са друге стране истиче се да су неки аутори глисте означили као инжењере екосистема, због њихове важне улоге у развоју и одржавању физичко-хемијских својстава земљишта претварањем биоразградивих материја и органског отпада у хумус богат хранљивим материјама. Запремина земљишта на коју директно утичу глисте назива дрилосфера. Дрилосфера се такође може назвати жариштем земљишта које има позитиван утицај на функције екосистема, као што су кружење хранљивих материја и раст биљака. Количина глиста у земљишту показује општи здравствени квалитет екосистема земљишта и ниво безбједности животне средине. Прекомјерна употреба пестицида доводи до могуће контаминације земљишта, а самим тим и до уништавања глиста, а што доводи до смањења његове плодности.

Поглавље **ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ** кандидат описује биологију глиста, те њихов значај у екосистему, а прије свега за земљиште. У овом поглављу се наводе и бројни литературни наводи о утицају пестицида на глисте, тј. о екотоксиколошком утицају пестицида на глисте. Поглавље **ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ** је написано на 15 страница. У поднаслову *Глисте-биологија и екологија* се констатује да су глисте или кишне глисте животиње које припадају реду Oligochaeta, који има око 8000 врста, које су груписане у око 800 родова. Једна од важних породица терестичних глиста у Европи су *Lumbricidae*. Могу се наћи у многим регионима свијета, осим у пустињама и областима које су стално под ледом и снијегом. Потом кандидат, у оквиру овог поднаслова детаљно описује морфологију и анатомију глиста, те начин размножавања глиста. Даље се у поднаслову *Значај глиста за земљиште* указује на огроман значај које глисте имају за побољшање структуре и плодности земљишта. У оквиру овог поднаслова указује се и на могућу изложеност глиста агрохемикалијама и њиховом могућем негативном утицају на епигеичне врсте. У поднаслову *Пестициди и судбина пестицида* у окружењу кандидат укратко дефинише пестициде, те основне путеве разградње пестицида у земљишту. Посебно детаљно су размотрена *Екотоксиколошка истраживања токсичности пестицида на глисте*, као и *Токсичност пестицида на глисте* и ова два поднаслова заузимају 4 странице, са значајним бројем савремених и

актуелних литературних навода. На крају овог поглавља кандидат је посебно издвојио и литературним наводима поткријепо утицај инсектицида циперметрин, те хербицида: никосулфурон, имазамокс и метрибузин на глисте које живе у земљишту.

Поглавље **ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА** је написано јасно и прецизно. Кандидат наводи да је циљ овог истраживања био је да се у лабораторијским условима испита утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus*. Истраживања у овом раду заснована су на хипотези да пестициди у животној средину утичу поред циљаних организама и на нециљане, што се кроз ланце исхране одражава и на више трофичке нивое, а у крајњем случају и на човјека. Рад под насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“ има за задатак:

- Утврдити утицај изабраног инсектицида (а.с. Циперметрин, препарат Cipkord), на тест организам *L. rubellus* у лабораторијским условима кроз анализу показатеља токсичности, као што су морталитет (након 7 дана и 14 дана експозиције) и репродуктивна способност (након 28 дана и 56 дана експозиције);
- Утврдити утицај изабраних хербицида (а.с. Никосулфурон, препарат Talisman, а.с. Имазамокс, препарат Kvazar и а.с. Метрибузин, препарат Dancor) на тест организам *L. rubellus* у лабораторијским условима кроз анализу крајњих тачака као што су морталитет (након 7 дана и 14 дана експозиције) и репродуктивна способност (након 28 дана и 56 дана експозиције).

Поглавље **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА** је написано на 4 странице, и има 2 табеле и 2 слике. Истраживања су вршена у складу са протоколом и методиком коју је препоручила Организација за економску сарадњу и развој (*Organisation for Economic Co-operation and Development- OECD*) у свом документу *Test No. 222: Earthworm Reproduction Test*. У оквиру овог поглавља под насловом *Тест организам* описан је одабир глиста за извођење истраживања, те начин њиховог чувања и исхране у периоду прије поставке истраживања и током истраживања. У оквиру поднаслова *Земљишни супстрат* описан је начин прављена земљишног супстрата као средине у којој ће се глисте излагати пестицидама. Супстрат је био сљедећег састава појединих састојака, исказаних кроз масени удио појединих ваздушно сувих састојака:

- 40% баштенског земљишта типа 1, који је имао рН вриједност од 5,76 до 6,57 и био без видљивих биљних остатака;
- 40% индустријског пијеска (осушен на ваздуху), у којем преовладава фини пијесак са више од 50% честица величине од 0,05 до 0,2 mm;
- 10% комерцијалног тресета;
- 10% баштенског земљишта типа 2, који је имао рН вриједност од 5,57 до 6,53 и био без видљивих биљних остатака.

Кандидат је у поднаслову *Пестициди* дао основне податке о препаратима пестицида који су кориштени за испитивање њиховог токсичног утицаја на глисте. Поред тога су наведени и масени удјели активних супстанци у земљишном супстрату којима су глисте биле изложене. Кандидат масене удјеле пестицида није униформисао него их је прилагођавао до сада познатим вриједностима средње леталне концентрације за глисте одабраних пестицида. Глисте су излагане укупно са 5 концентрација сваког одабраног пестицида. Распон масених удјела концентрација је ишао од најмање ка највећој. Активна супстанца циперметрин је кориштена у распону концентрација од 25 mg/kg до 400 mg/kg, активна супстанца никосулфурон од 250 до 1250 mg/kg, активна супстанца имазамокс од 300 до 1500 mg/kg, а метрибузин од 99,4 до 980 mg/kg. У поднаслову *Поставка огледа* кандидат је описао цјелокупну поставку огледа, коју је илустровао

сликом у облику колажа који је представио издвајање глиста, припрему глиста за уношење у супстрат, начин мијешања супстрата са раствором пестицида, уношење глиста у контаминирани супстрат, те изглед посуда са глистама у лабораторијским условима.

Тест морталитета праћен је недељно и трајао је 14 дана. Јединка се сматрала уинулом ако није реаговала на боцкања у предњем дијелу тијела. Тест репродукције трајао је осам недеља. Након четири недеље излагања, пратили су се и ефекти на репродукцију, тј. број кокона, а на крају експеримента и број излеглих младих глиста.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА** је најобимније и подијељено је на пет подналова и садржи 24 табеле, 26 графика и једну слику.

У поднаслову *Праћење глиста током огледа* колега је посматрао глисте у контролним саксијама, са циљем утврђивања природног морталитета, као и репродуктивних способности глиста. Контролне саксије су биле постављене уз сваки пестицид истовремено, тако да су глисте биле у истим условима, како у контроли, тако и у земљишном супстрату у којем је инкорпориран испитивани пестицид. Кандидат ни у једној контролној саксији није установио морталитет глиста након 7, односно након 14 дана посматрања. Поред морталитета, мјерен је и број кокона у контроли, као и број излеглих глиста у контроли и то након 28 дана и након 56 дана.

Испитујући утицај инсектицида циперметрин на врсту *Lumbricus rubellus* кандидат је установио да је дошло до потпуног угинућа глиста на концентрацијама већ од 100 mg/kg овог инсектицида, како након 7, тако и након 14 дана. Кандидат је установио да на морталитет глиста високо значајно утиче масени удио инсектицида циперметрин, док вријеме излагања при испитиваним масеним удјелима инсектицида нема статистички значајан утицај на морталитет. Поред смртности под утицајем циперметрина дошло је и до снажне редукције броја кокона, тако да је на масеном удјелу 25 mg/kg редукција броја кокона након 28 дана излагања била 33,33%. Инсектицид циперметрин након 28 дана излагања при масеном удјелу од 50 mg/kg је довео до редукције броја кокона од 66,66%, да би почев од масеног удјела 100 mg/kg редукција броја кокона била потпуна, како након 28 дана посматрања, тако и након 56 дана посматрања. У истраживању утицаја циперметрина на број излеглих глиста нису уочене новоизлегле глисте након 28 дана од експозиције, како у контролним саксијама, тако и у оним са инсектицидом. Међутим након 56 дана посматрања број излеглих глиста на контроли је био 6,5, али је под утицајем инсектицида дошло до снажне редукције излеглих глиста већ при масеном удјелу од 25 mg/kg, док излеглих глиста није било, почев од масеног удјела циперметрина од 100 mg/kg. Вриједност средње леталне концентрације за циперметрин након 7 дана експозиције износи 60,48 mg/kg, док након 14 дана експозиције износи 53,07 mg/kg.

Хербицид имазамокс је узроковао значајно мањи морталитет од претходно истраживаног инсектицида циперметрин, тако да се у распону масених удјела имазамокса од 300 mg/kg до 1500 mg/kg, проценат морталитета у односу на контролу кретао од 5 до 25%, након експозиције од 7 дана, а морталитет након 14 дана је износио од 5 до 30%. Такође и код броја кокона уочавамо да је у овом распону масених удјела имазамокса дошло до њихове редукције након 28 дана од 35,89% при масеном удјелу од 300 mg/kg, док је при масеном удјелу од 1500 mg/kg редукција броја кокона, у односу на контролу, износила 84,61%. Слична тенденција, у смислу процента редукције, је уочена и након посматрања од 56 дана, с тим да је након 56 дана у контролним саксијама уочен значајан број кокона од $26 \pm 6,78$. Број испиљених глиста је међутим значајно редукован, тако да је након 28 дана, почев од масеног удјела 600 mg/kg нису уочене испиљене глисте, тј. редукција је била 100%. Након 56 дана од излагања имазамоксу у распону масених удјела овог хербицида од 300 mg/kg до 1500 mg/kg, редукција броја излеглих глиста се кретала од 39,31 до 93,1%.

Хербицид метрибузин је показао значајно већу токсичност на глисте од хербицида имазамокс. Вриједност средње леталне концентрације за метрибузин након 7 дана експозиције износи 242,72 mg/kg, док након 14 дана експозије износи 221,02 mg/kg. Тако у погледу морталитета, већ при масеном удјелу од 399 mg/kg долази до 100% морталитета, како након 7, тако и након 14 дана излагања. Производња кокона у првих 28 дана била је далеко мања код јединки третираних метрибузином, у односу на контролу. Број кокона првих 28 дана у контроли био је 6,25. Глисте које су биле изложене хербициду произвеле су коконе само у првој концентрацији и то мање за 72% у односу на контролу. Након 56 дана, није било значајне разлике у односу на првих 28 дана, како у контроли, тако и код третираних јединки. Код глиста које су биле изложене хербициду кокони су се појавили и у другој концентрацији, док их је у првој концентрацији било више у односу на првих 28 дана. Излеглих јединки након 28 дана није их било како у контроли, тако ни код третираних глиста изложених метрибузину. Након 56 дана дошло је до значајне промјене, гдје је у контроли било укупно 50 излеглих јединки. Код глиста које су биле изложене хербициду број излеглих јединки је значајно мањи. У концентрацији један било их је само 3,50, док се при концентрацији 198,8 mg/kg није излегла ни једна глиста.

Хербицид никосулфурон је показао веома малу токсичност за глисте. Тако након излагања од седам дана морталитета није било у контролним групама, што је и очекивано, али морталитета није утврђен ни у групама које су биле изложене никосулфурону. Резултати се нису значајно мијењали ни након 14 дана од излагања. Није било готово никаквих разлике између третираних и нетретираних јединки. Можемо закључити да хербицид никосулфурон није имао готово никакав утицај на изложене јединке, гдје су током експеримента угинуле само двије глисте. У овом дијелу огледа кандидат у првих 28 дана није уочио да је дошло до појаве кокона, не само на третираном супстрату, већ и у контроли. Након 56 дана, дошло је до значајне промјене у производњи кокона, како у контроли, тако и код третираних глиста. Од третираних глиста највише кокона је било у концентрацији један ($18,75 \pm 2,62$). Са повећањем концентрације број кокона се смањивао, тако да је у петој концентрацији било најмање кокона ($5,00 \pm 2,16$). Број кокона у контроли у просјеку је $30,75 \pm 10,46$.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** колега Лазендић је сажео резултате својих истраживања и упоредио их са литературним наводима. Поглавље дискусија је написано на 3 стране.

Поглавље **ЗАКЉУЧЦИ** је написано на једној страни и ту су сажето изведена сазнања до којих се дошло кроз ова истраживања.

У поглављу **ЛИТЕРАТУРА** је наведен 41 литературни извор који су цитирани у овом мастер раду.

На крају мастер рада су наведени **ПРИЛОЗИ** у којима је кандидат дао преглед литературних података о токсичности хербицида и инсектицида за глисте, који се данас користе.

ОЦЈЕНА НАУЧНЕ ВАЛИДНОСТИ РАДА

Колега Рајко Лазендић, дипл. инж. је у свом мастер раду под насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“ ушао у подручје екотоксиколошких истраживања утицаја инсектицида и хербицида на глисте. Оглед је урадио стрпљиво, предано и са великим смислом за организацију истраживачких послова. Посебну тежину његовом раду даје то што је један од првих истраживача на овом простору, који се упустио у ова екотоксиколошка истраживања. Резултати до којих је дошао су несумњиво вриједни и потврђују сву сложеност дјеловања агрохемикалија у

земљишту на живе организме у овом случају на калифорнијску глисту. Екотоксиколошка истраживања морају да се планирају тако да обухвате, што је могуће више потенцијално негативних ефеката које на изложене организме могу да проузрокују хемикалије. Тако су и ова истраживања доказала да морталитет, као показатељ акутне токсичности пестицида на глисте, није једини потребан показатељ, него се далеко боља и свеобухватнија слика дјеловања пестицида има уколико узмемо у обзир и утицај пестицида на репродуктивну способност глиста, као показатељ субхроничне токсичности.

ЗАКЉУЧАК

На основу увида у садржај мастер рада колеге Рајко Лазендић, дипл. инж. под насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“, можемо констатовати да се ради о оригиналном и самосталном научном раду у којем је колега показао систематичност у истраживању, те обради и презентовању добијених резултата. Прегледом мастер рада програмом URKUND (OURIGINAL), у циљу потврђивања оригиналности, утврђено је да овај мастер рад има 7% сличности са раније објављеним радовима, а што се односи на опште дефиниције и констатције и називе активних супстанци наведене у *Прегледу литературе*.

Комисија са задовољством констатује да се мастер рад насловом „Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)“, може јавно бранити и да је колега Рајко Лазендић, дипл. инж. заслужио да стекне звање мастер заштите биљака- 300 ECTS. Предлажемо Научно - наставном вијећу Пољопривредног факултета Универзитета у Бањој Луци да усвоји овај Извјештај и да омогући јавну одбрану овог мастер рада.

У Бањој Луци, 02. 10. 2023. год.

КОМИСИЈА



Проф. др Бранимир Њежић, Предсједник



Проф. др Небојша Савић - члан



Проф. др Сениша Митрић, ментор- члан

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

**Изјављујем да је
мастер/магистарски рад**

Наслов рада Утицај пестицида на калифорнијску глисту Lumbricus rubellus (Hoffmeister)

Наслов рада на енглеском језику The effect of pesticides on the California earthworm Lumbricus rubellus (Hoffmeister)

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да мастер/магистарски рад, у цјелини или у дијеловима, није био предложен за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

У Бањој Луци 24.12.2022.

Потпис кандидата

Ђорђе Лозенџић

**Изјава којом се овлашћује Пољопривредни факултет/ Академија умјетности
Универзитета у Бањој Луци да мастер/магистарски рад учини јавно доступним**

Овлашћујем Пољопривредни факултет/ Академију умјетности Универзитета у Бањој Луци да
мој мастер/магистарски рад, под насловом

Утицај пестицида на калифорнијску глисту Lumbricus rubellus (Hoffmeister)

који је моје ауторско дјело, учини јавно доступним.

Мастер/магистарски рад са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату,
погодном за трајно архивирање.

Мој мастер/магистарски рад, похрањен у д и г и т а л н и р е п о з и т о р и ј у м Универзитета
у Бањој Луци, могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце
Креативне заједнице (*Creative Commons*), за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство - некомерцијално
3. Ауторство - некомерцијално - без прераде
4. Ауторство - некомерцијално - дијелити под истим условима
5. Ауторство - без прераде
6. Ауторство - дијелити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је
на полеђини листа).

У Бањој Луци 24. 11. 2023.

Потпис кандидата

Ђошко Лоренцети

Изјава 3

**Изјава о идентичности штампане и електронске
верзије мастер/магистарског рада**

Име и презиме аутора Рајко Лазендић

Наслов рада Утицај пестицида на калифорнијску глисту *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister)

Ментор Проф. Др Синиша Митрић

Изјављујем да је штампана верзија мог мастер/магистарског рада идентична електронској верзији коју сам предао/ла за дигитални репозиторијум Универзитета у Бањој Луци.

У Бањој Луци 24. 11. 2021.

Потпис кандидата

Рајко Лазендић