



**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**  
Департман за фитомедицину и заштиту  
животне средине



**Милица Трапара, дипл. Инг**

**ДИНАМИКА ДЕГРАДАЦИЈЕ ХЕРБИЦИДА ТЕМБОТРИОН У  
ЗЕМЉИШТУ ПОД УСЕВОМ КУКУРУЗА**

**МАСТЕР РАД**

**Нови Сад, 2024.**

**УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ**  
**ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ**  
Депарتمان за фитомедицину и заштиту  
животне средине

Кандидат:

Милица Трапара, дипл.инг

Ментор:

Проф. др Драгана Шуњака

**ДИНАМИКА ДЕГРАДАЦИЈЕ ХЕРБИЦИДА ТЕМБОТРИОН У**  
**ЗЕМЉИШТУ ПОД УСЕВОМ КУКУРУЗА**

МАСТЕР РАД

Нови Сад, 2024.

# КОМИСИЈА ЗА ОДБРАНУ И ОЦЕНУ МАСТЕР РАДА

---

**др Драгана Шуњка, ванредни професор**  
Ужа научна област фитофармација  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
Ментор

---

**др Сања Лазић, редовни професор**  
Ужа научна област фитофармација  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
Председник

---

**др Маја Меселција, редовни професор**  
Ужа научна област фитофармација  
Пољопривредни факултет, Нови Сад  
Члан

## САДРЖАЈ

1. УВОД .....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	3
2.1. ЗЕМЉИШТЕ .....	3
2.2. ПЕСТИЦИДИ .....	5
2.2.1. ХЕРБИЦИДИ .....	6
2.3. ТРИКЕТОНИ.....	8
2.3.1. ТЕМБОТРИОН .....	9
2.4. ПЕСТИЦИДИ И ЗЕМЉИШТЕ .....	11
2.4.1. Доспевање пестицида у земљиште .....	11
2.4.2. Судбина пестицида у земљишту .....	12
2.4.3. Разградња пестицида у земљишту.....	13
2.4.4. Деловање остатака хербицида у земљишту на наредне усеве .....	15
3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА .....	16
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА.....	17
4.1. ПОСТАВЉАЊЕ ОГЛЕДА И ПРЕПРЕМА УЗОРАКА ЗА АНАЛИЗУ .....	17
4.2. ОПРЕМА И ХЕМИКАЛИЈЕ КОРИШТЕНЕ У ИСПИТИВАЊУ.....	18
4.2.1. Опрема .....	18
4.2.2. Хемикалије .....	19
4.3. ПРИПРЕМА РАСТВОРА.....	19
4.4. ПРОВЕРА ПРИНОСА ЕКСТРАКЦИЈЕ ТЕМБОТРИОНА ИЗ ЗЕМЉИШТА .....	20
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	22
5.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ОСТАКА ТЕМБОТРИОНА ПРИМЕНОМ <i>HPLC/DAD</i> .....	22
5.2.1. ЛИНЕАРНОСТ ОДЗИВА ДЕТЕКТОРА.....	25
5.2.2. ЛИМИТ ДЕТЕКЦИЈЕ ( <i>LOD</i> ) И ЛИМИТ КВАНТИФИКАЦИЈЕ ( <i>LOQ</i> ) .....	26
5.2.3. ПРЕЦИЗНОСТ.....	26
5.2.4. ТАЧНОСТ ОДРЕЂИВАЊА ТЕМБОТРИОНА У ЗЕМЉИШТУ .....	27
5.3 ПРАЂЕЊЕ РАЗГРАДЊЕ ТЕМБОТРИОНА У ЗЕМЉИШТУ .....	28
6. ЗАКЉУЧАК .....	33
7. ЛИТЕРАТУРА .....	34

## **ДИНАМИКА ДЕГРАДАЦИЈЕ ХЕРБИЦИДА ТЕМБОТРИОН У ЗЕМЉИШТУ ПОД УСЕВОМ КУКУРУЗА**

### **Резиме**

У овом раду су представљени резултати динамике деградације хербицида темботрион у земљишту типа чернозем. Темботрион (22 g/l, OD) је примењен у усеву кукуруза у BBCH 12-18 фази развоја, у препорученој количина од 44 g a.s./l. Земљиште је узорковано са дубине 0-30 cm, одмах по примени препарата, и на сваких 7 дана до скидања усева. Екстракција темботриона из земљишта урађена је модификованом QuEChERS методом, а анализа HPLC-DAD. Валидација методе је спроведена у складу са захтевима стандарда SANTE/2020/12830, Rev.1. Просечна вредност приноса екстракције износи 96,3%, LOD је 0,01 mg/kg, а LOQ 0,03 mg/kg. Почетни депозит темботриона у земљишту одмах након примене препарата износио је 0,14 mg/kg. На дубини земљишта од 0-30 cm садржај хербицида се постепено смањивао у периоду од 15 недеља, са полувеком разградње (DT<sub>50</sub>) од 11 дана. Резултати показују да особине земљишта, као и климатски услови имају знатан утицај на постојаност темботриона у земљишту током сезоне у којој је примењен.

## **DISSIPATION DYNAMIC OF HERBICIDE TEMBOTRIONE IN SOIL UNDER MAIZE CROP**

### **Summary**

This study presents the results of the dissipation dynamics of the herbicide tembotrione in chernozem soil. Tembotrione (22 g/l, OD) was applied to the maize crop (BBCH 12-18), in the recommended amount of 44 g/l. The soil was sampled from a depth of 0-30 cm, immediately after applying the preparation, and every 7 days until harvesting. The extraction of tembotrione from the soil was performed using a modified QuEChERS method, followed by HPLC-DAD analysis. The method's validation was carried out per the requirements of the standard SANTE/2020/12830, Rev.1. The average recovery was 96.3%, the LOD 0.01 mg/kg, and the LOQ 0.03 mg/kg. The initial deposit of tembotrione in the soil immediately after application of the preparation was 0.14 mg/kg. At a soil depth of 0-30 cm, the herbicide content gradually decreased over 15 weeks, with a half-life (DT<sub>50</sub>) of 11 days. The results show that the soil characteristics, as well as the climatic conditions, significantly influence the persistence of tembotrione in the soil during the season in which it was applied.

## 1. УВОД

Земљиште као основна јединица пољопривредне производње, представља изворе енергије, минералних материја, микроелемената, хранљивих материја за биљке, које су преко ланца исхране извор живота за сва жива бића. С обзиром на чињеницу да земљиште све више постаје жртва технолошког развоја, овом природном ресурсу неопходно је посветити непрекидну пажњу (*Секулић и сар., 2003*). Земљиште може још да се дефинише као површински растресити, биолошки активан слој Земљине коре у коме су укоренење биљке. То је необновљиви ресурс са могућом високом стопом деградације, што се одражава на делимично или потпуно нарушавање једне или више функција (*Симић, 2016*). Земљиште представља сложену и специфичну природну творевину у којој долази до сједињавања мртвог и живог дела наше планете, односно материја које се добијају распадањем и трансформацијом продуката литосфере и биосфере. Осим што представља место развоја кореновог система, треба нагласити да се биљке из земљишта снабдевају хранљивим материјама и водом. Због тога се земљиште сматра једним од најважнијих природних богатстава и неопходан је предуслов за опстанак биљака, те је и његова улога у производњи хране незаменљива.

У земљиште након примене доспевају бројна пестицидна једињења, која су изложена разним физичким, хемијским и биолошким процесима разградње, и зависе не само од особина једињења, него и од читавог низа фактора, као што су физичке, хемијске и биолошке карактеристике земљишта, али и фактори климе. У процесима разградње пестицида у земљишту велику улогу имају микроорганизми. Пестициди обухватају биоциде и средства за заштиту биља, односно једињења намењена примени у пољопривредној производњи у сврху спречавања или ограничавања штетног ефекта биолошких агенаса. Међутим, примену пестицида често прати ризик од непожељних ефеката по животну средину (*Радиојевић и сар., 2007*).

Узимајући у обзир сложеност интеракције пестицида и земљишта, као и чињеницу да

је интензитет интеракције истог једињења са различитим земљиштима различит, све су бројнија испитивања утицаја најважнијих земљишних параметара у поменутиим процесима (Буровић, 2011).

Негативне последице примене пестицида, а нарочито хербицида, осим што нарушавају здравље људи, доводе и до појаве резистентних биотипова. Поред овог, перзистентни пестициди у земљишту могу изазвати оштећења наредних усева у плодореду (фитотоксичност). На основу изнетог, јасно је да загађење земљишта пестицидима узрокује проблеме који захтевају систематско праћење (Шовљански и Лазућ, 2007).

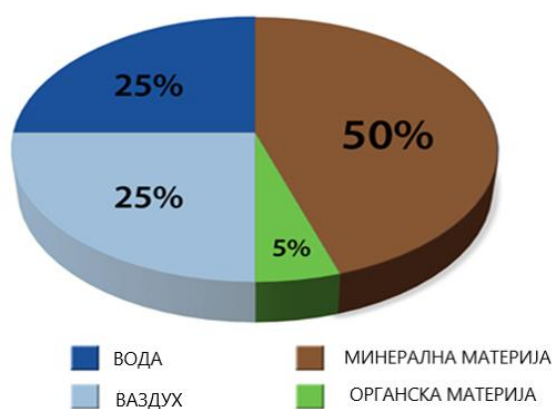
Темботрион, 2-{2-хлор-4-месил-3-[(2,2,2- трифлуоретокси)метил]бензоил} циклохексан-1,3-дион, је активна супстанца хербицида из групе трикетона, препарата Laudis, који је коришћен у овом истраживању. Користи се у усеву кукуруза као хербицид са применом после ницања и ефикасан је у сузбијању једногодишњих и вишегодишњих широколисних корова (Su et al., 2020). Темботрион је мање перзистентан од осталих хербицида из групе трикетона, међутим, основни и деградациони производи могу показати токсичност на нециљане организме, као што су алге, рибе и многе друге бескичмењаке (Rani et al., 2020).

С обзиром на наведено, циљ истраживања овог мастер рада је праћење деградације хербицида темботрион у земљишту, под усевом кукуруза током вегетације, у сврху провере садржаја остатака овог једињења у земљишту и одређивања полу-века разградње.

## 2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 2.1. ЗЕМЉИШТЕ

Земљиште је кључни ресурс у производњи хране и биљака, а такође игра важну улогу у одржању квалитета животне средине. Хранљиве материје земљишта и вода, соларна енергија и угљен–диоксид претварају се фотосинтезом у једињења којима хране људски и анимални свет и омогућава снабдевање горивом (Слика 1) (Falkenmark and Rockstrom, 2004).



Слика 1. Однос фаза земљишта (Извор: <https://www.zelenavizija.com/Zemljiste.html>)

У земљишту се одвијају процеси распадања органске материје, циркулације хранљивих материја и регулације протока гасова у/из атмосфере. Такође, земљиште може да филтрира токсичне и нетоксичне супстанце, адсорпцијом кроз површински слој (Palm et al., 2007). Као ограничено и уништиво добро, с једне стране се споро образује у процесу педогенезе, а с друге стране врло брзо долази до његовог



уништавања и оштећења, односно деградације. Најчешћи узорци деградације земљишта су ширење насеља, индустријски, рударски, енергетски и саобраћајни објекти, ерозија узрокована водом или ветром (еолска ерозија), заслањивање земљишта, губитак хранљивих материја, хемијско загађење индустријских извора, механичка оштећења земљишта приликом употребе тешких машина за обраду, поплаве и други чиниоци (Слика 2) (Кљајић и сар., 2012).



Слика 2. Утицај спољашњих фактора на земљиште (Извор: Blum, 2004)

Механички састав земљишта је важан параметар у проучавању особина и систематике земљишта. Механички елементи су примарне честице у земљишту, које су различитих величина и не могу се мењати под утицајем сила благог дејства. Присуство механичких елемената различитих димензија у одређеном проценту представљају механички састав земљишта. Са агрономског становишта, најбоља су она земљишта која имају однос фракција песак – прах – глина 35 – 40%, 35 – 40%, 20 – 30% (Белић и сар., 2014).

Физичке особине земљишта одређују водни, ваздушни и топлотни режим земљишта, уз то и хемијске и биогене особине земљишта, а тиме и принос гајених биљака. Ове особине не служе само за добијање општег приказа стања земљишта, него дају смернице за активности које се примењују у сврху очувања и унапређења плодности и производне вредности (Васин, 2016).

Земљишта су подложна деградацији у највећој мери под утицајем човека у процесима кориштења земљишта. На основу познавања водно – ваздушних својстава земљишта, могу се отклонити проблеми настали под утицајем вишка воде. Упознавајући се са физичким особинама земљишта, човек итекако може да допринесе повећању и стабилности приноса ратарских и других гајених култура, а нарочито се ставља акценат на земљишта са неповољним водно – ваздушним особинама. Уколико се приступи побољшавању физичких особина земљишта, може се побољшати и водно – ваздушни режим датог земљишта, применом читавог низа мелиоративних и агромилиоративних захвата (*Васин, 2016*).

Човек за живот и рад користи енергију која се црпи из земљишта, заправо све оно што угрожава земљиште, угрожава и његово здравље и опстанак. Иако је данас евидентан велики напредак науке и технике, у земљишту долази до разних негативних промена, а оне су све веће са унапређењем технологије обраде земљишта, и уз то велики утицај има и повећање животног стандарда код људи и интензивирањем урбанизације и индустријализације (*Кљајић и сар., 2012*).

Из базе података за Републику Србију (*CLC – Corine Land Cover, 2006.*) установљено је присуство 28 до 44 класе земљишта. Највише су присутна пољопривредна земљишта (45%), док 26% територије чине ненаводњаване оранице, 16% мешовита плодна земљишта, а 13% обухвата пољопривредна земљишта са површинама под природном вегетацијом (*Грујић, 2020*).

Типови земљишни заступљени у равничарским и брежуљкастим површинама Србије су чернозем, смоница, гајњача, црвеница, параподзоли и ритске црнице (*Кљајић и сар., 2012*).

## 2.2. ПЕСТИЦИДИ

Пестицид (латински: *pestis* – куга, *occidere* - убити) је заједнички термин за једињења која се производе за примену у пољопривредној производњи, с циљем спречавања и ограничавања штетних ефеката биолошких агенаса, као што су инсекти, глодари, проузроковачи биљних болести, корови и друге штеточине (средства за заштиту биља) (*Радивојевић и сар., 2007*) и једињења које се примњују у другим областима попут комуналне хигијене, шумарства и слично (биоциди). Представљају веома важну групу агрохемикалија, али поред користи коју пружају, доносе са собом и

одређене нежељене последице. У групи штетних ефеката, прво место поред контаминације пољопривредних производа, заузима опасност од загађења животне средине (Буровић, 2011). Остаци пестицида могу се наћи свуда. Могу контаминирати површинске и подземне воде, негативан ефекат може да се одрази и на гајеним биљкама, корисним организмима у земљишту, корисним атроподама, сисарима и птицама, а могу да се остаци пронађу и у храни и да доведу до појаве резистентности биолошких агенаса (Нешковић 1988, Freemark and Boutin, 1995).

Узимајући у разматрање да су пестициди мање или више токсичне супстанце, постоји растући интерес за њихово присуство у животној средини и деловање на здравље људи. Од 60-их година прошлог века па све до данас успостављени су критеријуми и нормативи, који су имали за циљ свођење остатака пестицида у води и храни на минимум и омогућили услове за развој пестицида са најмањим могућим штетним ефектом. Из тог разлога, данашња производња пестицида иде ка једињењима која ће имати специфичан начин деловања са израженом селективношћу, као и задовољавајуће екотоксиколошке особине (Hodgson et al., 1998, Stetter, 1992).

Истраживањима је установљено да чак и мале дозе пестицида могу да буду штетне за човека. Приликом примене пестицида јако је важно водити рачуна о примењеној дози, односно количини и знати разлику између токсичне и леталне дозе. Токсична доза је минимална количина примењеног средства која може да проузрокује тровање организма, а под леталном дозом подразумева се минимална количина која унесена у организам изазива смрт. Средња смртна доза доза ( $LD_{50}$ ) је количина токсичних материја које могу да изазову смрт 50% јединки које су апсорбовале ту дозу (Дроњак, 2016).

Пестициди могу да се класификују на више начина, а најчешћи су (Томачевић, 2010):

1. према намени,
2. према начину доспевања у организам и механизму деловања и
3. према хемијској структури.

### 2.2.1. ХЕРБИЦИДИ

Хербициди су хемијска средства која се користе за уништавање коровских биљака. Ова једињења могу имати селективно дејство, када се користе само против појединих врста корова, а постоје и хербициди са тоталним деловањем, односно они који

уништавају све врсте корова. Почетком примене првих хербицида (гвожђе – сулфат, натријум – хлорид и бакар – сулфат) сматра се 19. век. Први органски хербицид био је динитро – ортокрезол (*DNOC*), који се почео користити 30–их година прошлог века, док је 1944. година била прекретница индустријске производње и примене хербицида, открићем 2,4 – дихлорфенокси сирћетне киселине и њених изванредних особина (*Дроњак, 2016*).

Примена хербицида може да се оствари њиховим наношењем на листове или земљиште. Активна супстанца која доспе на лист, пролази кроз кутикулу, епидерм, палисадно ткиво и свој пут завршава у флоему, а потом се транслоцира на место деловања. Други начин доспевања хербицида је путем земљишта. Током падавина хербициди се спирају у зону корена биљака и пролазе кроз епидермис, кортекс и ендодерм и долазе до ксилема, а затим се транспортују до места деловања (*Дроњак, 2016*).

Поред позитивних страна примене хербицида, долази и до одређених недостатака, као што је појава резистентности и фитотоксичности (*Лазих и Шовљански, 2007*). Фитотоксичност хербицида заснива се на нарушавању биохемијске равнотеже у биљци, што је последица сметњи и заустављања клијања, фотосинтезе и ензимских процеса (*Дроњак, 2016*).

Упркос овоме, хербициди остају најефикаснији и најекономичнији начин сузбијања корова, а њихово тржиште наставља да расте чак и са мноштвом генеричких производа. Развојем толерантних усева, употреба хербицида се повећава широм света што је резултирало озбиљном контаминацијом животне средине (*Singh and Singh, 2014*).

Праћење остатака хербицида у земљишту могуће је извршити помоћу ефикасне методологије припреме узорака и аналитичких техника са високом прецизношћу, поновљивошћу и осетљивошћу. Конвенционалне аналитичке методе не дозвољавају идентификацију трагова и квантификацију матичног једињења и њихових производа разградње, те је прилично изазовно одвојити остатке из сложеног матрикса земљишта (*Rani et al., 2020*).

Важан параметар за одређивање перзистентности хербицида у земљишту је ( $DT_{50}$ ), односно полу – век разградње, време (у данима, месецима или годинама) које је неопходно да се разгради 50% од унете количине хербицида. Означава се као  $RL_{50}$  (енгл. residue life, 50% полу – век остатка) или  $DT_{50}$  (енгл. *disappearance time*, 50%

време ишчезавања) (Шовљански и Лазих, 2007). Фактор на основу којег се може израчунати покретљивост хербицида у земљишту је индекс релативне покретљивости хербицида ( $R_f$ ) (Helling and Turner, 1968).

### 2.3. ТРИКЕТОНИ

Група трикетонских хербицида представља молекуле нове генерације који су произведени природним путем или су добијени хемијским побољшањем природних молекула. Природни трикетони, присутни су у неколико дрвенастих биљака породице *Mirtaceae*, а прва откривена интересантна чињеница је била њихова антибактеријска активност, укључујући грам – позитивне сојеве отпорне на антибиотике, гљиве, вирусе, инсекте и мекушце. Истовремено, истраживачки рад на синтези нових инхибитора ацетил – коензим А карбоксилазе је неочекивано довео до синтезе трикетонских једињења која имају хербицидна својства. Утврђено је да су нека једињења веома ефикасна, али су искључена из употребе због непожељних својстава као што су прекомерна постојаност у земљишту, недостатак селективности усева или висока токсичност за људе. Након неколико година оптимизације, издвојени су трикетони као група хербицида широког спектра деловања са добром селективношћу за кукуруз. Ова група хербицида садржи четири комерцијално доступне активне супстанце – нитизинон, сулкотрион, мезотрион и од надавно темботрион (Dumas et al., 2017).

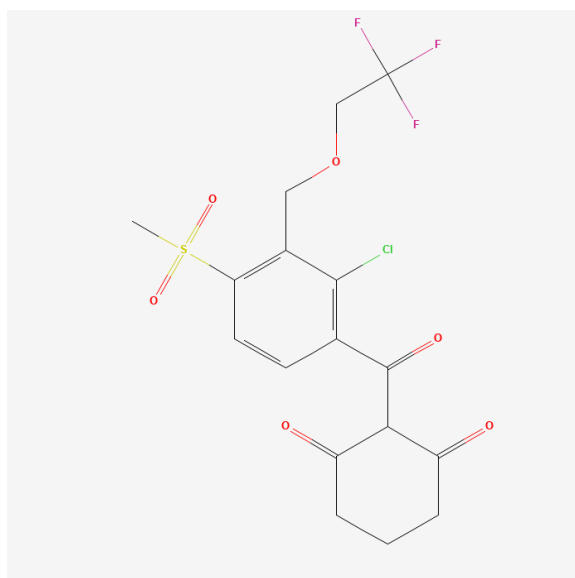
Синтетички трикетони су слабо кисели молекули, неиспарљиви, лако растворљиви и стабилни у води. Могу се наћи у различитим таутомерним облицима у зависности од услова средине, посебно рН вредности. Сви синтетички трикетонски хербициди су дефинисани као „еколошки прихватљиви“, јер су резултат хемијске синтезе природног фитотоксина. Међутим, чак и природни производи могу имати токсичан ефекат на животну средину. Као и многи други пестициди, тако и трикетони могу да се испирају са листова и доспеју у површинске воде, испусте се у земљиште деградацијом лисног отпада и доспеју у подземне воде. Због тога се трикетонски хербициди могу наћи и у воденим и земљишним деловима, те је важно истраживати њихову судбину у животној средини (Dumas et al., 2017).

### 2.3.1. ТЕМБОТРИОН

Темботрион је релативно нови трикетонски хербицид који се користи за сузбијање широколисних корова у кукурузу. Ремети биосинтезу каротеноида у биљкама, инхибицијом 4 – хидроксифенилпируват дехидрогеназе. Темботрион је мање стабилан од осталих хербицида из породице трикетона. Међутим, основни и деградациони производи могу показати токсичност на нециљане организме, као што су алге, рибе и многи бескичмењаци. Због слабе киселе природе и високе растворљивости у води, темботрион може постојати у различитим облицима, што у великој мери зависи од услова средине, а посебно рН вредности земљишта (*Rani et al., 2020*).

На основу истраживања метаболизма темботриона у усевима кукуруза, дефиниција остатака, у сврху праћења и процена ризика за храну биљног порекла, подразумева збир матичног једињења темботриона (АЕ 0172747) и метаболита М5 (АЕ 1417268). Ова студија је имала за циљ да успостави прецизан и поуздан аналитички начин кориштења QuEChERS методе, која би могла истовремено да открије и темботрион и његове метаболите (*Su et al., 2020*).

Активност овог хербицида у великој мери зависи од доступности светла. Показало се да је темботрион ефикасан и при ниским и при високим интензитетом осветљења. При високом интензитету светлости, темботрион је задржао своју ефикасност од две до четири недеље након примене, показујући брзу и јаку хербицидну активност. На активност третмана темботриона после ницања против широколисних корова, утицале су карактеристике земљишта, као што су текстура земљишта и садржај органске материје (*Gatzweiler et al., 2012*).



Слика 3. Структура темботриона

(Извор: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tembotrione#section=2D-Structure> )

### **Физичко – хемијске особине темботриона**

**(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tembotrione> ):**

**Боја:** жута браон до црвенкаста браон

**Изглед:** дисперзија

**Мирис:** ароматичан

**Тачка топљења:** 123 °С

**Густина:** 1,56 на 20 °С

**рН вредност:** 3,63 на 24 °С

**Растворљивост у води:** 0,22 (рН 4), 28,3 (рН 7) g/l, 20 °С

**Растворљивост:** DMSO, метил – хлорид, ацетон, етил – ацетат, толуен, хексан етанол

### **Спектар деловања (<https://www.cropscience.bayer.rs/proizvodi-zastita-bilja/herbicidi/laudis>):**

Широколисни корови који су сузбијају применом темботриона су амброзија пеленаста (*Ambrosia artemisiifolia*), горушица пољска (*Sinapsis arvensis*), дворник велики (*Polygonum lapathifolium*), дворник птичији (*Polygonum aviculare*), камилица права (*Matricaria chamomilla*), липица теофрастова (*Abutilon theophrasti*), мишјакиња (*Stellaria media*), мртва коприва (*Lamium purpureum*), обичан дворник (*Polygonum*

*persicaria*), паламида њивска (*Cirsium arvense*), пепељуга обична (*Chenopodium album*), пепељуга срцолисна (*Chenopodium hybridum*), помоћница обична (*Solanum nigrum*), прилепача (*Galium aparine*), хоћу – нећу (*Capsella bursa - pastoris*), татула обична (*Datura stramonium*), чичак (*Xanthium strumarium*), штир (*Amaranthus spp.*).

Усколисни корови, који се сузбијају применом темботриона су велики мухар (*Echinochloa crus - galli*), мухар сиви (*Setaria glauca*), просо (*Panicum spp.*), сирак из семена (*Sorghum halepense*).

Може се мешати са препаратима из групе сулфонил уреа, у сврху проширења спектра деловања и на ризомски сирак (Equip).

Полу – век темботриона (DT<sub>50</sub>) се кретао од 9 до 14 дана, при примењеној количини од 60 до 240 g/ha (*Sharma et al., 2023*).

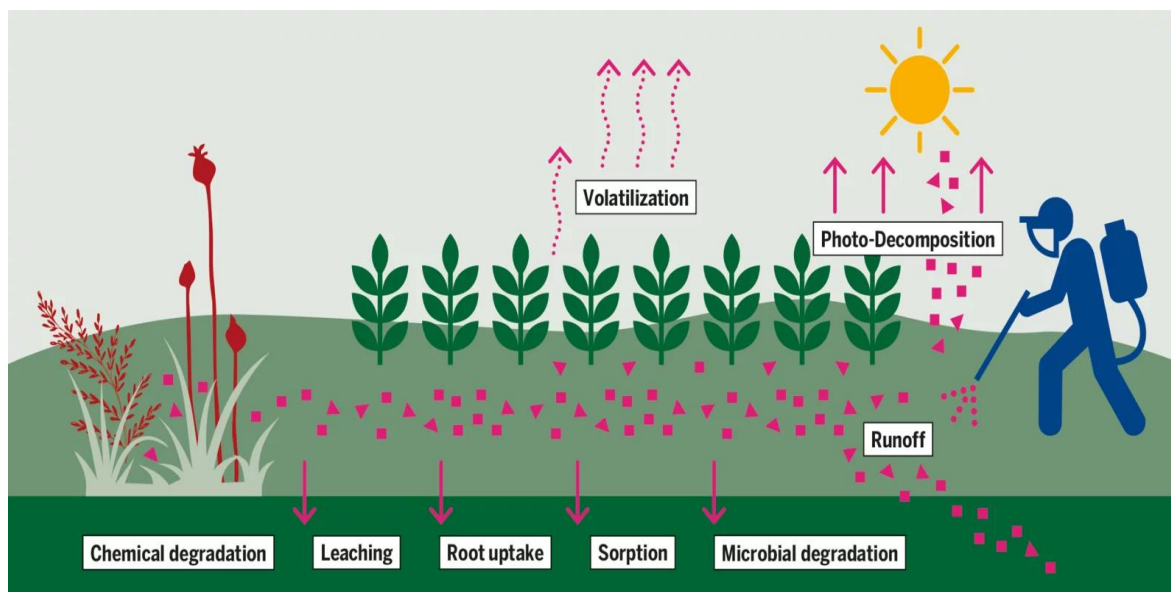
## 2.4. ПЕСТИЦИДИ И ЗЕМЉИШТЕ

Услед интензивне примене, пестициди се данас неретко детектују у животној средини, а нарочито у земљишту. Без обзира на који начин доспеју у земљиште, даља судбина пестицида ће зависити од мноштва фактора, као што су физичко-хемијске карактеристике како самог једињења тако и земљишта, начина и количине примене, облика формулације, стања терена (нагиб, флора и фауна), количине и фреквенције падавина и наводњавања, ваздушног струјања, температуре, итд.

### 2.4.1. Доспевање пестицида у земљиште

Пестициди представљају најважније загађиваче пољопривредног земљишта и у њега могу доспети директно, применом у циљу сузбијања штетних организама, што може бити пре и током сетве, третирањем семеном, третирањем у току вегетације, или применом у комбинацији са минералним ђубривима. Индиректним путем пестициди у земљиште доспевају спирањем са третираних биљака, заливањем, или наводњавањем водом која је контаминирана пестицидима, површинским и подземним водама, заносењем при третирању суседних култура, авиотретирањем, струјом ветра, кишом (Слика 4) (*Шовљански и Лазић, 2007*).





Слика 4. Пестициди у животној средини

(Извор: <https://eu.boell.org/en/PesticideAtlas-soils>)

#### 2.4.2. Судбина пестицида у земљишту

Када пестицид доспе у земљиште он се распоређује између воде и ваздуха присутних у земљишту и површине земљишних минерала и органске материје. Расподела пестицида у земљишту зависи од физичко-хемијских својстава, као што су растворљивост, напон паре и хемијска стабилност. На разградњу пестицида у земљишту утичу тип земљишта, његова структура, садржај глине и органске материје, као и рН земљишта. Судбина пестицида у земљишту одређена је ефектима различитих физичко-хемијских и биолошких процеса који проузрокују кретање, ишчезавање и разградњу хемијског средства. Ови процеси могу да трансформишу пестицид у разградне производе, мање или веће отровности од полазног једињења (Шовљански и Лазић, 2007).

Адсорпција пестицида представља један од најважнијих чинилаца који утичу на интеракције, које настају између пестицида и колоидних честица земљишта. Адсорпција је физичко хемијски процес при којем долази до кондензовања, упијања или везивања течности, гасова или пара на површини чврстог тела (Шовљански и Лазић, 2007).

Као основно мерило степена адсорпције пестицида за земљиште, користи се земљишни адсорпциони коефицијент  $K_d$  који се дефинише као однос количине пестицида адсорбоване на земљиште ( $c_s$ ) и количине заостале у земљишном раствору ( $c_e$ ) у условима равнотежне расподеле (једначина 1):

$$K_d = \frac{c_s}{c_e} \quad (1)$$

Адсорпциони коефицијент  $K_d$  је мерило везивања одређеног једињења за дати тип земљишта, тј. његова вредност у великој мери зависи од физичко-хемијских карактеристика земљишта (типа земљишта, садржаја органске материје и глине, јоно-измењивачког комплекса, рН вредности и влажности). Такође, битан фактор су и физичко-хемијске карактеристике пестицидног једињења, пре свега растворљивост у води, октанол/вода подеони коефицијент -  $K_{ow}$  и степен дисоцијације. Установљено је да је адсорпција пестицида за земљиште у позитивној корелацији са њиховим  $K_{ow}$  коефицијентима, тј. у негативним са њиховом растворљивошћу у води (Буровић, 2011).

### 2.4.3. Разградња пестицида у земљишту

Независно од тога да ли је пестицид доспео у земљиште директним, или индиректним путем, једном присутан у земљишту он се подвргава променама услед деловања физичких и хемијских чинилаца, као и микробиолошких популација, које утичу на њихово понашање.

Кретање и дистрибуција пестицида у земљишту зависи од физичко-хемијских својстава земљишта, хемијских реакција (хелација и преципитација) и реверзибилне адсорпције, брзине протока, доспевања пестицида у раствор, количине и просечне брзине протока и садржаја влаге земљишта у време примене.

После примене препарата, молекули активне супстанце извесно време остају на месту на које су и нанети, а затим се под утицајем ваздуха или воде могу транспортовати у атмосферу (испаривање), у дубље слојеве земљишта (испирање) или латерално по површини земљишта (спирање).

Покретљивост пестицида у земљишту је динамичан процес и омогућава вертикално кретање надолу, и латерално или бочно, а могуће је и кретање нагоре порастом

подземних вода. Вертикално кретање у смеру аерације, изнад нивоа воде; латерарно кретање настаје кад пестицид доспе у зону сатурације и близу границе релативно сувог и влажног земљишта (услед кише или наводњавања). Покретљивост примењеног пестицида зависи од времена примене, физичко-хемијских својстава пестицида (испарљивост, растворљивост, садржај површинских активних материја и др) и земљишта (тип, структура, садржај органских и минералних и хранљивих материја) и климатских чинилаца.

На спирање утичу тип земљишта, величина честица, дифузија у земљишној води, струјање воде (на доле) и кретање воде на горе. За транспорт високо испарљивих пестицида (земљишни фумиганти) значајна је ваздушна дифузија (*Шовљански и Лазућ, 2007*).

Најпознатији модел који повезује покретљивост и постојаност пестицида је тзв. GUS модел (*Groundwater Ubiquity Score*) (једначина 2). Такозвани GUS индекс је емпиријски, семиквантитативни начин за описивање потенцијала, тј. могућности да неко једињење доспе у подземне воде. Овај модел укључује ефекте деградације и сорпције, при чему се  $DT_{50}$  одређује под претпоставком да се деградација одвија по кинетици реакције I реда:

$$GUS = \log(DT_{50}) \times (4 - \log K_{oc}) \quad (2)$$

На основу GUS индекса добијеног применом једначине (2), једињења се на основу своје склоности ка испирању могу класификовати у три групе (*Gustafson, 1989*):

- 1) склона испирању:  $GUS > 2,8$
- 2) умерено склона испирању:  $GUS \in (1,8; 2,8)$
- 3) нису склона испирању:  $GUS < 1,8$ .

Генерално, за доношење закључка везаних за процену ризика и опасности примене датог пестицида, као и предвиђање његове концентрације у земљишту, потребно је знати не само  $K_{oc}$  и  $DT_{50}$  вредности, већ узети у обзир и време, начин и количину примене препарата.

#### 2.4.4. Деловање остатака хербицида у земљишту на наредне усева

За успешну примену хербицида није довољно само да се зна да неки хербицид може да се користи у одређеној култури, већ је неопходно да се познају његова селективност и спектар деловања. Селективност омогућује примену једног хербицида у одређеној култури, а спектар деловања ширину деловања на корове. Избор хербицида, поред осталог, зависи како од примењених хербицида у предусеву тако и од врсте гајене биљке која у плодореду долази као наредна култура и њене осетљивости на одабрани хербицид за примену током овог вегетационог периода. За правилан избор хербицида такође је потребно да се познаје дужина деловања, односно перзистентност хербицида. Применом оваквих хербицида уклања се могућност штетног деловања на наредну културу у плодореду, која може да буде осетљива на дати хербицид (Дражић, 2000).

Проблем резидуа хербицида и очувања околине везује се за смену усева (Марковић и сар., 2000). Брзина разградње хербицида који се примењује у кукурузу специфична је за сваки хербицид посебно, а у неким случајевима може направити штете на наредном усеву или ограничити плодоред (Дражић, 2000). Културе које су изузетно осетљиве на остатке хербицида у земљишту су шећерна репа и соја. Отуда је место шећерне репе у систему смене усева иза озимих стрних жита у четворопољном или шестопољном плодореду, што ће рећи, никада иза кукуруза, соје и сунцокрета (Марковић и сар., 2000).

Перзистентност хербицида зависи од више фактора, као што су количина падавина, особине земљишта (посебно рН и садржај органских материја), климе и комбинације ових фактора. У екстремним временским условима, остаци неких хербицида у земљишту могу да проузрокују фитотоксичност на осетљивим културама (Greenland, 2003; Sozeri, 1996).

### 3. ЗАДАТАК И ЦИЉ РАДА

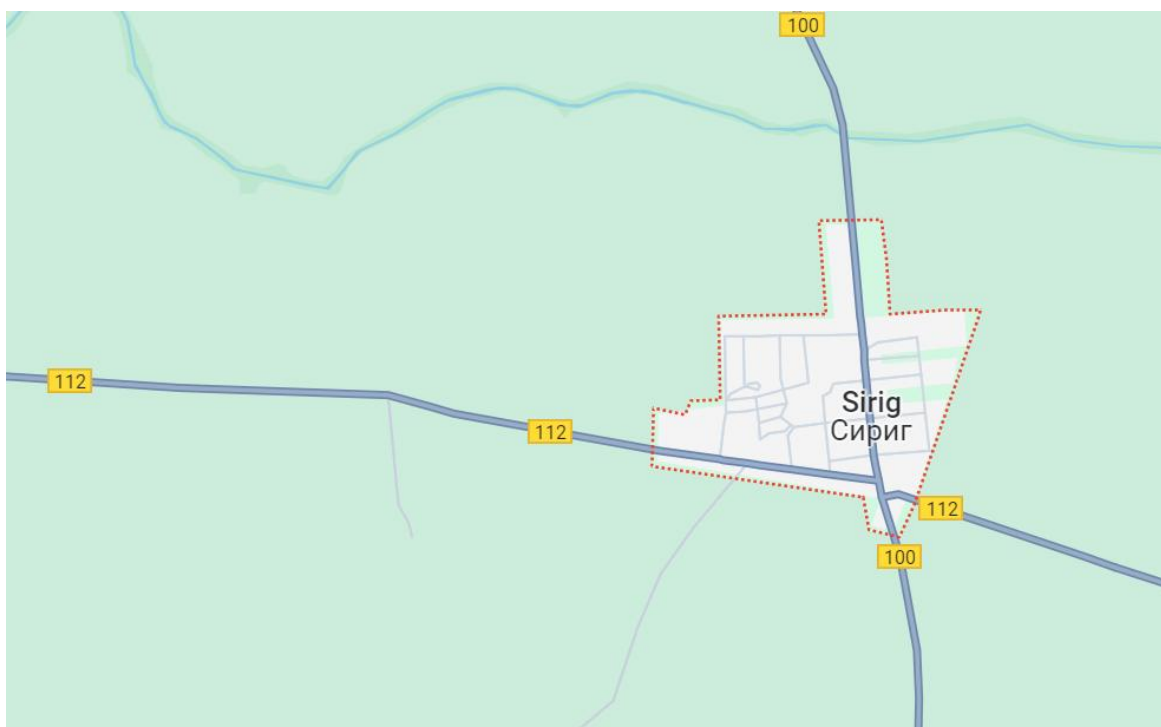
Задатак истраживања је праћење деградације хербицида темботриона у земљишту, под усевом кукуруза током вегетације, одмах након третирања усева кукуруза и сваких 7 дана до жетве. Препарат на бази темботриона примењен је у препорученој количини од 1,5-2 l/ha, уз утрошак воде 300 l/ha. Екстракција темботриона из земљишта изведена је модификованом QuEChERS методом, док је садржај овог једињења одређен применом HPLC-DAD. Оптимизација методе одређивања остатака темботриона у земљишту извршена је помоћу валидационих параметара у складу са захтевима стандарда SANTE/2020/12830, Rev.1.

Циљ рада је одређивања полу-века разградње, односно DT<sub>50</sub>, хербицида темботриона у земљишту.

## 4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА

### 4.1. ПОСТАВЉАЊЕ ОГЛЕДА И ПРЕПРЕМА УЗОРАКА ЗА АНАЛИЗУ

Оглед је постављен на локалитету Сириг, на парцели под усевом кукуруза сорте ДКС4391 (Слика 5). Препарат LAUDIS (активна супстанца темботрион, 22 g/l) примењен је третирањем након ницања корова и кукуруза када су травни корови били у почетном стадијуму пораста (широколисни у фази од 2-6 листова, а кукуруз у фази од 2-8 листова (12-18 ВВСН скале)), у количини од 2 l/ha уз утрошак воде од 300 l/ha.



Слика 5. Локалитет на којем је постављен оглед

Узорковано је земљиште на дубини од 0-30 cm, одмах након постављања огледа и на сваких 7 дана до скидања усева. Да би се обезбедио репрезентативни узорак, ашовом је по дијагонали парцеле узето 5 подузорка са производне површине од 1 ha. Од

измешаних узорака формирану су просечни узорци масе 500 g. Овако припремљени узорци стављени су у пластичне врећице, обележени и транспортовани до лабораторије. У лабораторији су припремљени просечни лабораторијски узорци масе 100 g, који су до момента анализе чувани у замрзивачу на температури  $-19\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Пре анализе узорци су ваздушно осушени, самлевени и просејани кроз сито од 0,2 mm.



Слика 6. Лабораторији за биолошка истраживања и пестициде (Фото: М. Трапара)

Експериментални део испитивања је обављен у Лабораторији за биолошка истраживања и пестициде, Департман за фитомедицину и заштиту животне средине (Слика 6), Пољопривредни факултет у Новом Саду и на Факултету заштите животне средине, EDUCONS универзитета у Новом Саду.

## 4.2. ОПРЕМА И ХЕМИКАЛИЈЕ КОРИШТЕНЕ У ИСПИТИВАЊУ

### 4.2.1. Опрема

- Течни хроматограф (HPLC) Agilent 1100 Series са DAD детектором;
- Колона Zorbax Eclipse XDB – C18 (50 mm × 4,5 mm, 1.8  $\mu\text{m}$ ) Agilent Technologies;

- Филтери за мобилну фазу – Hewlett Packard, Nylon Filter Membranes 9301 – 0895; 47 mm, pore size 0,45  $\mu\text{m}$ ;
- Аналитичка вага Shimadzu A $\times$ 200;
- USK 1 – ултразвучна када, Sonic SR, Гаџин Хан;
- Vortex (Vortex 2 Genie Digital);
- Центрифуга (Sigma);

#### 4.2.2. Хемикалије

- Темботрион – аналитички стандард 98,06% (Dr Ehrenstorfer, Germany);
- Препарат OD формулације Laudis (Bayer CropScience)
- Acetonitril, HPLC чистоће ("J.T.Baker", Darmstadt, Germany);
- $\text{CH}_3\text{COOH}$  ("J.T.Baker", Darmstadt, Germany);
- QuEChERS Extract Pouches, EN Method Cat. N0. 5982/5650;
- QuEChERS Dispersive SPE Kit, Cat. N0. 5982/5356.

### 4.3. ПРИПРЕМА РАСТВОРА

**Основни раствор.** На аналитичкој ваги је у нормалном суду од 25 ml одмерено 18 mg аналитичког стандарда темботриона чистоће 98,06%. Стандард је растворен у ацетонитрилу и чуван у фрижидеру. Концентрација основног раствора била је 0,706 mg/ml.

**Радни раствор.** Разблажењем основног раствора стандарда припремљена је серија раствора концентрације 0,07 – 70,7  $\mu\text{g/ml}$ . Ове концентрације употребљене су за испитивање приноса екстракције и дефинисање хроматографских услова коришћењем следећих параметара:

- Лимит детекције (LOD)
- Лимит квантификације (LOQ)
- Поновљивост
- Принос екстракције
- Линеарност одзива детектора



#### 4.4. ПРОВЕРА ПРИНОСА ЕКСТРАКЦИЈЕ ТЕМБОТРИОНА ИЗ ЗЕМЉИШТА

Издавање темботриона из земљишта изведено је модификованом QuEChERS методом. Иако је QuEChERS метода првенствено развијена за екстракцију пестицида из воћа и поврћа, ова метода се користи и за екстракцију пестицида из других матрикса, међу којима је и земљиште.

QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged And Safe) представља скраћеницу за:

- Брзу,
- Једноставну,
- Јефтину,
- Ефикасну,
- Сигурну методу екстракције на чврстој фази (SPE), екстракција се врши ацетонитрилом.

Техника се заснива на бром уклањању воде  $MgSO_4$  и примарним-секундарним амином (PSA) (Core, 2003). Поступак подразумева екстракцију у систему вода/ацетонитрил, додавање соли и екстракцију на чврстој фази. На основу добијених резултата доказано је да је овај поступак брз и ефикасан.

На ваги је измерено 10 g узорка нетретираног земљишта и пренесено у полипропиленску кивету од 50 ml (Слика 7).



Слика 7. Припремање узорака земљишта (Фото: М. Трапара)

Овако припремљеном узорку је додата одговарајућа количина аналитичког стандарда. Потом је у кивету са земљиштем додато 10 ml ацетонитрила и 3 ml воде, а затим се свака кивета снажно мућкала по 1 минут и на вортексу 1 минут (Слика 8). Након тога, у кивету је додата пуферска смеша соли (0,5g динатријум хидрогенцитрат сесквихлорид, 1g NaCl, 1g натријум цитрате дихидрат, 4g MgSO<sub>4</sub>), интензивно је мућкано 1 минут и на вортексу 1 минут и центрифугирано 5 минута на 3000 обртаја (Слика 9).



Слика 8. Поступак рада (Фото: М. Трапара)



Слика 9. Поступак рада (Фото: М. Трапара)

## 5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

### 5.1. ОДРЕЂИВАЊЕ ОСТАКА ТЕМБОТРИОНА ПРИМЕНОМ *HPLC/DAD*

Течна хроматографија (HPLC) са детектором са низом диода (*DAD*) (Слика 7) примењена је за одређивање темботриона у земљишту.

Хроматографске методе спадају у ред најселективнијих аналитичких и препаративних метода раздвајања. Развојем система за детекцију раздвојених компонената доспеле су у сам врх аналитичких метода. Овим методама се могу раздвојити супстанце чије се молекулске масе крећу у веома широком распону од најнижих до највиших (Марјановић и Крстић, 1998).

Потреба за убрзањем процеса раздвајања и одређивања уз истовремено повећање ефикасности неминовно је довела до развоја технике која је према условима рада добила најчешћи назив високопритисна течна хроматографија а често се ова техника означава и као високоперформантна течна хроматографија. Наиме, HPLC се разликује од осталих течних хроматографија по томе што мобилна, течна фаза функционише под високим притиском, а са друге стране, управо та чињеница је основ високих могућности ове хроматографије. Високи притисак омогућава континуиран проток мобилне фазе и успостављање квалитетне динамичке равнотеже са стационарном фазом, која је услов добре селективне расподеле компоненти датог узорка.

У овој методи се користи техника елуирања, приликом које покретна фаза константном брзином протиче кроз колону носећи смешу која се раздваја и доводећи је у додир са непокретном фазом која се налази у колони. У зависности од своје хемијске структуре, састојци смеше показују већу или мању склоност да се задржавају на непокретној фази, тако да проводе различито време у колони. После тога следи њихова детекција у облику електричног сигнала (помоћу одговарајућег детектора), при чему се добија хроматограм - крива зависности јачине сигнала од времена.

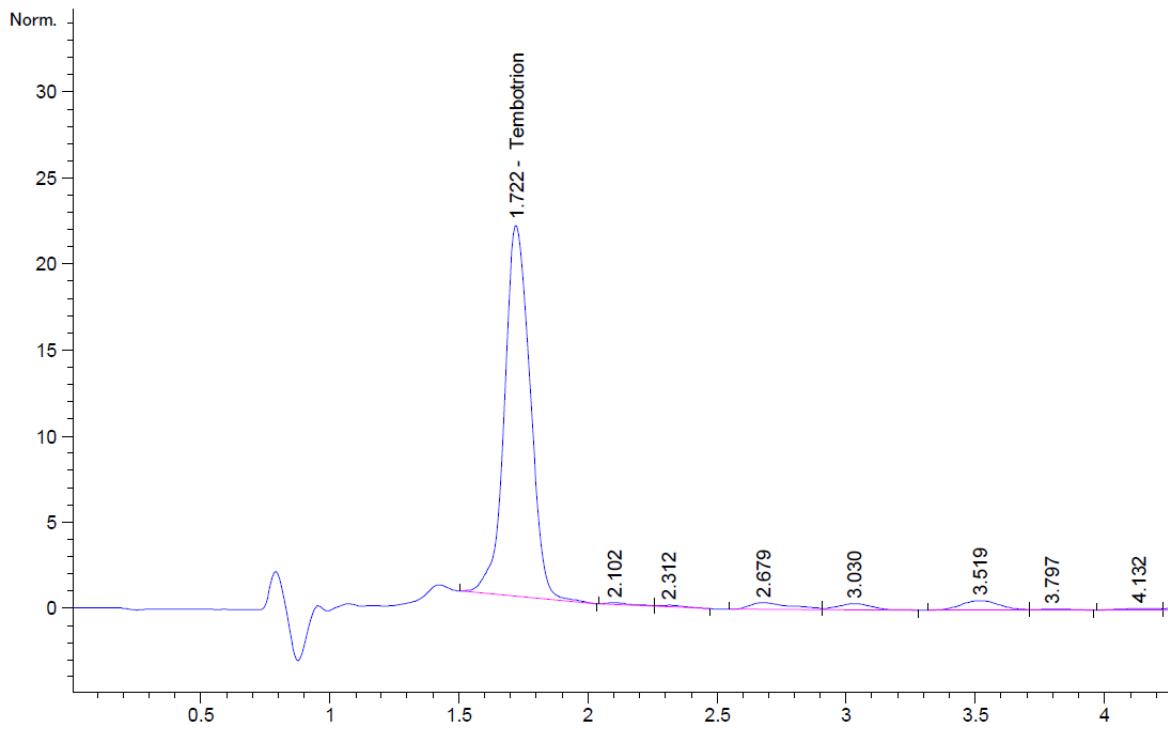
Површина пика директно је зависна од концентрације једињења, а његов положај на хроматограму - време задржавања, одређен је физичко хемијским својствима једињења.

Оптимално одређивање темботриона постигнуто је под условима датим у Табели 1.

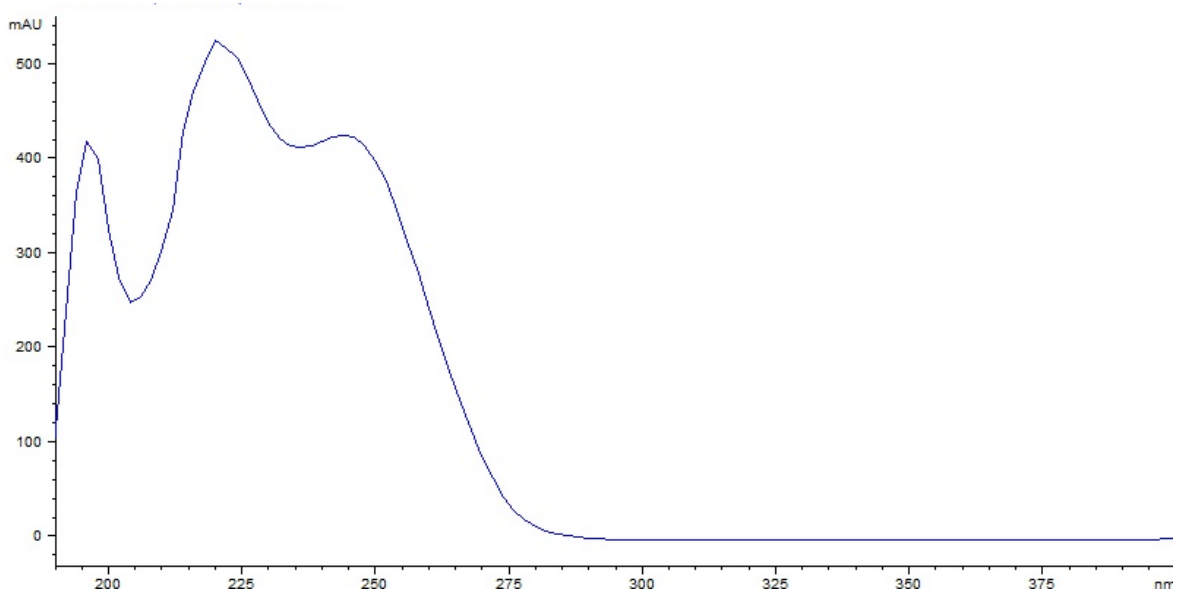
Табела 1. Услови рада *HPLC/DAD*

Мобилна фаза	1% CH <sub>3</sub> COOH Ацетонитрил
Однос мобилних фаза	30/70
Проток кроз колону	0,430 ml/мин
Температура колоне	20 °C
Ињектована запремина	15 µl
Таласна дужина DAD детектора	254 nm

Метода за одређивање темботриона се заснива на примени реверзно-фазне високоперформантне течне хроматографије уз коришћење детектора са низом фотоосетљивих диода. Квалитативна *HPLC* анализа присуства неког једињења изводи се на основу ретенционих времена, док се квантитативна заснива на величини аналитичког сигнала (Слика 10 и 11).



Слика 10. Хроматограм стандарног раствора темботриона у ацетонитрилу 7,07  $\mu\text{g/ml}$



Слика 11. Спектар аналитичког стандарда темботриона у раствору ацетонитрила

## 5.2. ПАРАМЕТРИ ВАЛИДАЦИЈЕ

Провера хроматографских услова је изведена испитивањем линеарности одзива детектора, прецизности и тачности методе, одређивањем границе детекције и квантификације.

### 5.2.1. ЛИНЕАРНОСТ ОДЗИВА ДЕТЕКТОРА

Линеарност одзива детектора одређена је на пет нивоа концентрација у опсегу масених концентрација 0,07 – 70,7  $\mu\text{g/ml}$  стандардног раствора темботриона. Калибрациони стандарди припремљени су у ацетонитрилу. Калибрациона крива је дефинисана као зависност површине пика од концентрације и изражена једначином регресије ( $y=a*x-b$ ) са коефицијентом корелације ( $R^2$ ). Израчунавањем нагиба праве приказана је линеарна зависност површине пика од концентрације анализата (График 1).

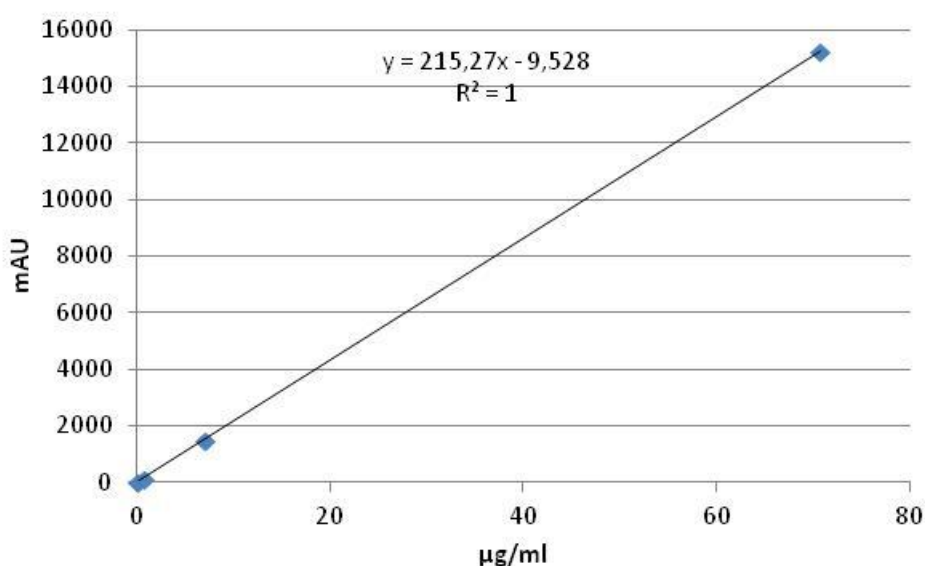


График 1. Линеарност одговора детектора темботриона

У опсегу испитиване масене концентрације темботриона постигнута је добра линеарност одговора детектора. Добијене вредности указују да повећање садржаја унетог једињења линеарно прати повећање површине пика. За регресиону једначину, коефицијент корелације праволинијске зависности за анализирано једињење износио је 1,0, што указује на велику осетљивост одређивања темботриона овом методом.

### 5.2.2. ЛИМИТ ДЕТЕКЦИЈЕ (*LOD*) И ЛИМИТ КВАНТИФИКАЦИЈЕ (*LOQ*)

У овом раду лимит детекције је одређен на основу односа сигнал/шум базне линије (*S/N*). *S/N* је одређен мерењем сигнала анализата који се налази у ниској концентрацији и узорка без анализата, при чему је утврђена најнижа концентрација анализата коју је могуће детектовати. За лимит детекције узета је вредност концентрација која даје  $S/N=3$ . Лимит квантификације одређен је аналогно одређивању *LOD*, према  $S/N=10$ . Резултати *LOD* и *LOQ* (Табела 2) у потпуности задовољавају критеријуме стандарда (SANTE/2020/12830, Rev.1).

Табела 2. Лимит детекције и квантификације одређивања темботриона у узорцима земљишта

Лимит детекције <i>LOD</i>	0,01 mg/kg
Лимит квантификације <i>LOQ</i>	0,03 mg/kg

### 5.2.3. ПРЕЦИЗНОСТ

#### 5.2.3.1. Поновљивост методе

У овом раду прецизност је проверена кроз поновљивост.

Поновљивост је одређена ињектовањем раствора стандарда темботриона припремљеног у матриксу земљишта, концентрације 0,71  $\mu\text{g/ml}$  пет пута. Добијени резултати су статистички обрађени Microsoft Office Excel 2007 и добијена вредност за  $RSD\%$  је упоређена са захтевом за тражени ниво концентрација. Репродуктивност примењене хроматографске анализе потврђена је вредностима коефицијента варијације за серију поновљених мерења.

Табела 3. Поновљивост одређивања

	Површина пика
	Ср. вредност
0,71 µg/ml	151,6
	152,1
	150,9
	151,7
	152,9
X	151,8
SD	0,73
RSD %	0,48

Вредност релативне стандардне девијације (RSD%) од 0,48% за површину пика указује да је постигнута изузетно висока репродуктивност одређивања темботриона примењеном методом ( $RSD \leq 20$ ) (Табела 3).

#### 5.2.4. ТАЧНОСТ ОДРЕЂИВАЊА ТЕМБОТРИОНА У ЗЕМЉИШТУ

Као параметар тачности методе испитиван је принос екстракције (Rec, %). Сходно *SANTE/2020/12830, Rev.1.* провера приноса екстракције урађена је на три нивоа обогаћења од 0,71, 7,1 и 70,7 mg/kg.

Просечна вредност приноса екстракције темботриона из земљишта постигнута овом методом је  $96,3 \pm RSD 0,32\%$  (Табела 4), што у потпуности задовољава критеријуме одређивања остатака пестицида у земљишту (80-100%), сходно *SANTE/2020/12830, Rev.1.*

Табела 4. Принос екстракције темботриона на три нивоа обогаћења

Концентрације темботриона, mg/kg		
<b>0,071</b>	<b>7,1</b>	<b>70,7</b>
95,92	97,36	98,25
94,32	97,23	99,01
95,29	96,91	98,32



### 5.3 ПРАЋЕЊЕ РАЗГРАДЊЕ ТЕМБОТРИНА У ЗЕМЉИШТУ

Земљиште за анализу узорковано је са дубине од 0-30 cm, одмах по примени препарата, и на сваких 7 дана до скидања усева, укупно 15 узорака. На овој дубини земљишта разградња је изражена кроз постепено и константно смањење садржаја темботриона (График 2, Слика 12 и 13).

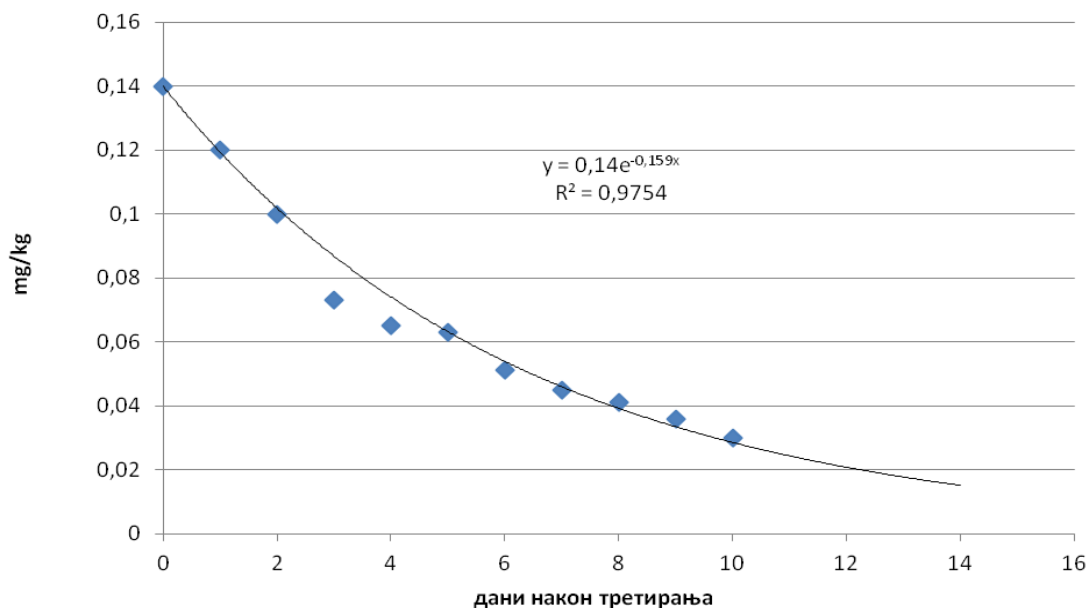
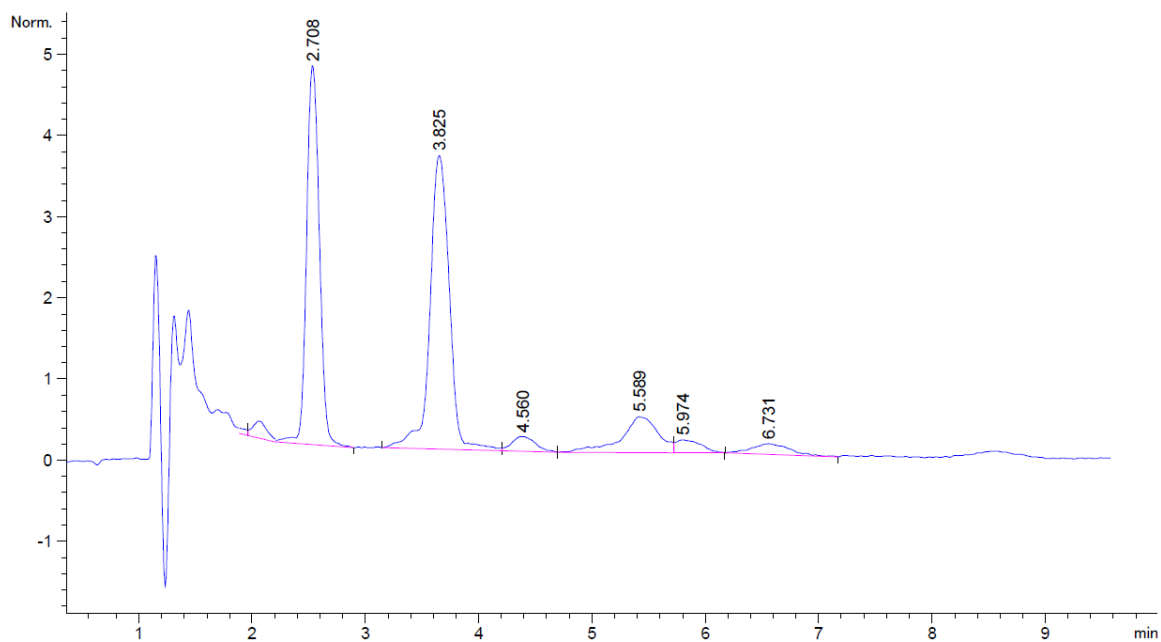


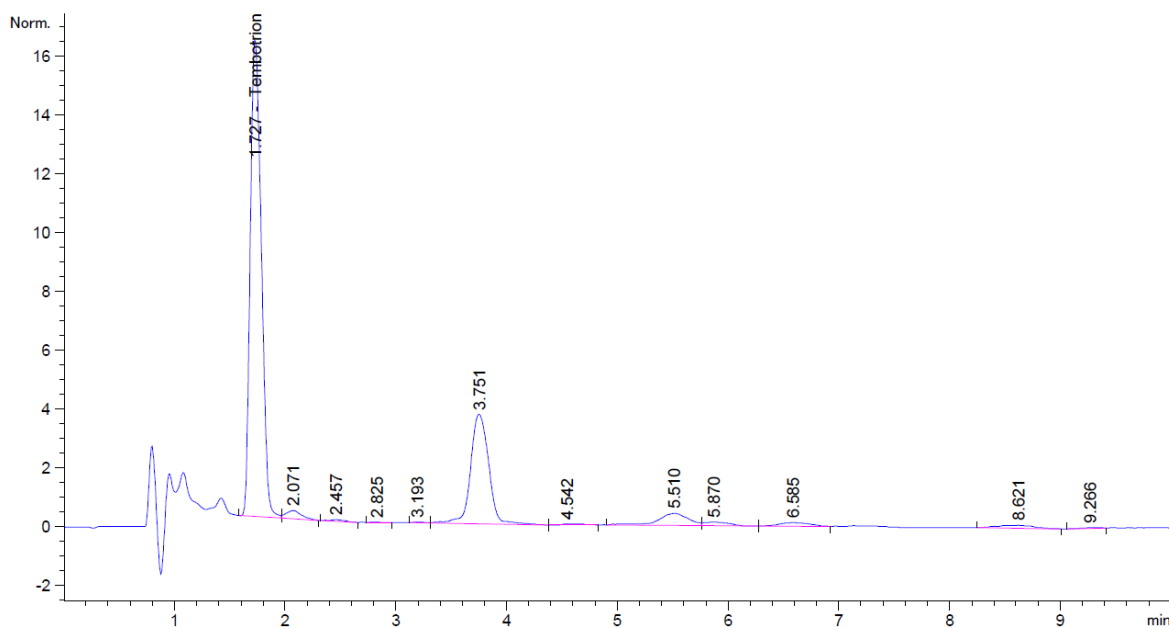
График 2. Крива разградње темботриона у земљишту на дубини од 0 – 30 cm

Максималан ниво остатака темботриона у узорцима земљишта установљен је по сушењу депозита и износио је 0,14 mg/kg. У узорку прикупљеном седам дана после третирања просечан садржај остатака темботриона износио је 0,12 mg/kg, са губитком од 14,29%. Две недеље по третману количина присутног темботриона се додатно смањила на количину од 0,10 mg/kg што показује да је преостало још 71,4% од почетне количине.

Даљом анализом утврђено је постепено смањење садржаја темботриона у узорцима земљишта и пет недеља после третмана просечан садржај темботриона је износио 0,063 mg/kg, након седам недеља 0,045 mg/kg, да би девет недеља по третману губици били 74%. Једанаест недеља од примене препарата остаци темботриона нису утврђени, односно били су испод лимита детекције од 0,01 mg/kg.



Слика 12. Хроматограм узорка нетретираног земљишта



Слика 13. Хроматограм узорка третираног земљишта

Крива разградње темботриона у земљишту представљена је кинетичким моделом првог реда и константом разградње. Полу-век разградње је израчунат применом једначине (3)

$$C_t = C_0 e^{-kt} \quad (3)$$

где  $C_t$  представља концентрацију остатака пестицида за време  $t$ ,  $C_0$  почетну концентрацију након апликације, и  $k$  представља константу разградње (дани). Полу – век разградње темботриона у земљишту се рачуна применом вредност  $k$ ,  $t_{1/2} = \ln 2/k$ . Једначина разградње за темботриона, постигнута у овом експерименту износи  $C = 0.14e^{-0.159x}$ , са полу - веком разградње од 11,0 дана (Табела 5).

Табела 5. Полу-век и параметри разградње темботриона у земљишту на дубини од 0 – 30 cm

Узорак	Регресиона једначина	Константа разградње (дани)	Коефицијент корелације ( $R^2$ )	Полу-век (дани)
Земљиште	$y = 0,14e^{-0,159x}$	0,063	0,9754	11,0

За праћење остатака хербицида у земљишту, неопходна је ефикасна методологија припреме узорка и инструменти са високом прецизношћу, поновљивошћу и осетљивошћу. Често, конвенционалне аналитичке методе не дозвољавају идентификацију трагова и квантификацију матичног једињења и њихових производа разградње. Прилично је изазовно издвојити остатке из сложеног матрикса земљишта, као у случају темботриона, који се примењује у веома ниској количини од 120 g/ha (препоручена количина за кукуруз) (Rani et al., 2020). Анализом остатака темботриона у земљишту бавио се, до сада, мали број истраживања. Su и сарадници (2020) су развили и валидовали прецизну и поуздану методу истовременог одређивања темботриона и његовог метаболита применом QuEChERS технике екстракције и HPLC–MS/MS одређивања.

Испитивање селективности темботриона, након примене самостално или у комбинацији са другим активним супстанцама, је показало да је ниво фитотоксичности растао, нарочито када се темботрион користио у комбинацији са другим једињењима. Најмањи фитотоксични ефекат на усев кукуруза испољен је након апликације темботрина са протектантом (Gatzweiler et al., 2012).

Важан параметар за одређивање перзистентности хербицида у земљишту је полу-век разградње – време које је неопходно да се разгради 50% од унете количине хербицида. Означава се као  $RL_{50}$  (енгл. residue life 50%) или  $DT_{50}$  (енгл. disappearance time, 50%) (Шовљански и Лазић, 2007). У до сада спроведеним истраживањима, полу-век темботриона ( $DT_{50}$ ) се кретао од 9 до 14 дана, при количини примене од 60-240 g/ha (Sharma et al., 2023). Експеримент је постављен у Индији да би се пратили остаци и динамика разградње темботриона у земљишту, а истраживање је спроведено у циљу процене ризика по животну средину.

Табела 6. Средња месечна и годишња температура ваздуха у 2023. години

(Извор: Републички хидрометеоролошки завод Србије)

станица/ месец	јануар	фебруар	март	април	мај	јун	јул	август	септембар	октобар	новембар	децембар
Нови Сад	4.9	3.6	9.0	10.4	17.2	21.5	24.7	23.7	21.4	16.6	8.4	5.3
	Екстремно хладно	Веома хладно		Хладно		Нормално		Топло		Веома топло		Екстремно топло

Табела 7. Месечна и годишња количина падавина у 2023. години

(Извор: Републички хидрометеоролошки завод Србије)

станица/ месец	јануар	фебруар	март	април	мај	јун	јул	август	септембар	октобар	новембар	децембар
Нови Сад	66.4	57.2	25.3	63.9	124.8	35.4	58.2	39.9	63.5	11.4	83.8	33.9
	Екстремно сушно	Веома сушно		Сушно		Нормално		Кишно		Веома кишно		Екстремно кишно

Наше истраживање је показало да се разградња темботриона у земљишту одвијала мало брже у односу на предходно споменуто истраживања. То може бити последица екстремних падавина у данима након примене хербицида. Током маја, у регији где је оглед био постављен, у данима након апликације забележено је више од 120 mm кише (Табела 7). Такви услови су могли изазвати интензивно спирање темботриона у дубље слојеве земљишта, односно слабо задржавање хербицида у површинском слоју. Међутим, полувек је само груб показатељ потенцијалне перзистентности хербицида у земљишту (Sekutowski, 2011).

Деградација хербицида зависи од рН земљишта, органске материје и температуре (James et al., 1999). Капацитет размене катјона, врста глине и садржај органске материје, је директно повезан са адсорпцијом хербицида. Садржај органске материје у земљишту типа чернозем, на ком је оглед био постављен, одређен методом Симакова (Симаков, 1957) износио је 3,05-3,48%. Молекули хербицида се уклањају из земљишног раствора адсорпцијом, чиме се смањује њихова фитотоксичност, и смањује њихова приступачност за даљу деградацију (Loux and Reese, 1993).

У овом раду одређена је такође и рН земљишта. Вредност рН од 7,54 указује на слабо алкално земљиште. Чини се да органска материја заједно са рН земљишта има највећи утицај на смањивање потенцијално фитотоксичних остатака хербицида у земљишту.

У пољским условима, деградација и транслокација хербицида је спорија и интензивнија, у зависности од физичких и хемијских особина једињења и њихове интеракције са условима спољашње средине. На тај начин, перзистентност и транслокација хербицида у земљишту не може бити узета у обзир на основу само једног од наведених параметара (нпр.  $DT_{50}$ ,  $K_{oc}$ ,  $R_f$ ). Бројни услови средине, би требало да буду укључени да би се добио увид у судбину хербицида у животној средини.

За предвиђање мобилности пестицида у пољу, најчешће коришћен индекс је Groundwater Ubiquity Score (GUS) (Gustafson, 1989). GUS индекс се заснива на вредностима  $K_{oc}$ , сорпционог коефицијента нормализованог до садржаја органског угњеника и на полу-веку. Према литературним подацима, GUS индекс за темботрион је 2,98, што га класификује у групу материја које имају релативно висок потенцијал за спирање у подземне воде (Pfeiffer, 2010).

## 6. ЗАКЉУЧАК

На основу спроведеног истраживања може се закључити следеће:

- ✓ Оптимални услови за одређивање остатака темботрион у земљишту постигнути су применом HPLC/DAD и Zorbax Eclipse SB-C18 (5  $\mu\text{m}$  x 250 mm x 3 mm) колоне, под следећим условима – мобилна фаза 1%  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{ACN}$ , 30/70,  $t$  колоне 20  $^\circ\text{C}$ , проток мобилне фазе 0,43 ml/мин, таласна дужина детектора 284 nm;
- ✓ Линеарност детектора одређена је у опсегу масених концентрација 0,07 – 70,7  $\mu\text{g}/\text{ml}$  и потврђена је коефицијентом корелације од 1,0;
- ✓ Лимит детекције и квантификације за одређивање темботриона у земљишту приказаном методом износе 0,01 mg/kg и 0,03 mg/kg;
- ✓ Добијена је вредност релативне стандардне девијације (RSD%) од 0,48%, што указује да је постигнута висока репродуктивност одређивања темботриона примењеном методом.
- ✓ Просечна вредност приноса екстракције темботриона из земљишта постигнута овом методом је  $96,3 \pm 0,32\%$ ;
- ✓ Почетни депозит темботриона у земљишту одмах након примене препарата износио је 0,14 mg/kg. На дубини земљишта од 0-30 cm садржај хербицида се постепено смањивао у периоду од 15 недеља, са полувеком разградње ( $DT_{50}$ ) од 11 дана;
- ✓ Резултати добијени у огледима показују да особине земљишта, као и климатски услови имају знатан утицај на постојаност темботриона у земљишту током сезоне у којој је примењен.

## 7. ЛИТЕРАТУРА

1. Blum W. (2004): Soil indicators for decision making – sharing knowledge between science, stake holders and politics, ISCO 2004 - 13th International Soil Conservation Organisation Conference – Brisbane.
2. Corine Land Cover (CLC) (2016): Database for Serbia, Cadastre data, data provided by the Statistical Office of the Republic of Serbia – [www. stat.gov.rs](http://www.stat.gov.rs).
3. Core J., (2003): Quechers method catches pesticide residues, Agricultural research magazine, 51, 7, 9.
4. Dražić, Д. (2000): Утицај плодореда на закоровљеност ораница и могућност сузбијања корова. АСТА HERBOLOGICA, 9 (1), п. 69-86.
5. Dumos E., Giarudo M., Goujon E., Halma M., Khnili E., Stauffert M., Batisson I., Hoggan – Besse P., Bohatier J., Bouchard P., Jeanton – Celle H., Gomes Costa M., Delbac F., Frano C., Goupil P., Guix N., Husson P., Ledoigt G., Mallet C., Mousty C., Sarraute S. (2017): Fate and ecotoxicological impact of new generation herbicides from the triketone family: An overview to assess the environmental risks, Journal of Hazardous Materials, 136 – 156.
6. EU COMMISSION, Directorate General Health and Consumer Protection, Guidance Document on Pesticide Analytical Methods for Risk Assessment and Post-approval Control and Monitoring Purposes SANTE/2020/12830, Rev.1 24. February 2021.
7. Falkenmark M, Rockstrom J. 2004. " Balancing Water for Humans and Nature: The New Approach in Ecohydrology. London: Earthscan.
8. Freemark, K. and Boutin, C. (1995): Impacts of agricultural use on terrestrial wildlife in temperate landscapes: A review with special reference to North America. *Agricult. Ecosyst. Environ.*, 52: 67-91.
9. Getzweiler E., Kraemer H., Hacker E., Hills M., Trabold K., Bonfig – Picard G (2012): Weed spectrum and selectivity of tembotrione under varying environmental conditions. Proceedings, 25th German Conference on Weed Biology and Weed control, Bayer CropScience AG Volume 1, 434, 385 – 391.
10. Godišnji билтен за Србију 2023. (2024): Републички хидрометеоролошки завод Србије, Београд.

11. Greenland, G.R., 2003. Injury to vegetable crops from herbicides applied in previous years. *Weed Technology*, 17, 73–78.
12. Gustafson, D.I. (1989): Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 8: 339-357.
13. Helling C.S., Turner B.C., (1968): Pesticide mobility: determination by soil thin-layer chromatography, *Science*, 162, 562-563.
14. Hodgson, O., Mailnam, R.B., Chambers, J.E. and Dow, R.E. (1998): *Dictionary of toxicology*. MacMilan, New York, USA, 504.
15. James, T.K., Holland, P.T., Rahman, A., Lu, Y.R. (1999): Degradation of the sulfonylurea herbicides chlorsulfuron and triasulfuron in a high-organic-matter volcanic soil, *Weed Research*, 39, 137-148.
16. Loux, M.M., Reese, K.D. (1993): Effect of soil type and pH on persistence and carryover of imidazolinone herbicides, *Weed Technology*, 7, 452-458.
17. Palm C., Sanchez P., Ahamed S., Awiti A. (2007): *Soils: A Contemporary Perspective*, *The Annual Review of Environment and Resources*, The Earth Institute at Columbia University.
18. Pfeiffer, M. (2010). [http://www.ptrpest.com/pdf/groundwater\\_ubiquity.pdf](http://www.ptrpest.com/pdf/groundwater_ubiquity.pdf)
19. Rani N., Duhan A., Tomar D. (2020): Ultimate Fate of herbicide tembotrione and its metabolite TCMBA in soil, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, ScienceDirect, Volume 203.
20. Sekutowski, T. (2011): Application of bioassays in studies on phytotoxic herbicide residues in the soil environment. *Herbicides and Environment*, Dr Andreas Kortekamp (Ed.), ISBN: 978-953-307-476-4, InTech, accessed 21.05.2024.).
21. Sharma N., Sapehia S., Kaur P., Katwal R., Sondia S. (2023): Dissipation of tembotrione in maize and its effect on biochemical attributes of maize under mid – hill sub – humid zone, *Environmental Monitoring and Assessment.*, Volume 195.
22. Simakov, V.N. (1957): The use of phenylanthranilic acid in the determination of humus by Tyurin's method, *Pochvovedenie*, 8, 72–73.
23. Singh B. and Singh K. (2014): Microbial degradation of herbicides, *Critical Reviews in Microbiology*, 42, 245 – 261.
24. Sozeri, S., 1996. Effects of some sulfonylurea group herbicides on growth of melon, watermelon, cucumber, tomato and pepper. *Journal of Turk. Phytopath.*, 25, 83–88.



25. Stetter, J. (1992): Trends in the future development of pest and weed control - an industrial point of view. Workshop on the role of science in pesticide management, Stockholm, Sweden.
26. Su Y., Wang W., Hu J., Liu X. (2020): Dissipation behavior, residues distribution and dietary risk assessment of tembotrione and its metabolite in maize via QuEChERS using HPLC – MS/MS technique, ScienceDirect, Volume 191.
27. Белић М, Нешић Љ, Ћирић В. (2014): Практикум из педологије, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, 33.
28. Васин Ј. (2016): Физичка и водно – физичка својства земљишта, Педолошке и агрохемијске карактеристике виноградарског рејона Три Мораве, Нови Сад, Институт за ратарство и повртарство, 127 – 148.
29. Грујић Н. (2020): Облици деградације земљишта на подручју Републике Србије, Завршни рад, Универзитет у Београду, Шумарски факултет, 4.
30. Дроњак Д. (2016): Пестициди – утјеца и последице, Свеучилиште у Загребу, Факултет кемијског инжењерства и технологије, Свеучилишни предипломски студиј, Завршни рад, Загреб, 3.
31. Ђуровић Р. (2011): Процеси који одређују судбину пестицида у земљишту, Институт за пестициде и заштиту шивотне средине, Београд, 1-9.
32. Кљајић Н., Арсић С., Мијајловић Н. (2012): Земљиште као еколошки фактор пољопривредне производње, Часопис за економију и политику транзиције, Прегледни рад, 1, 4.
33. Константиновић И. Б. (2011): Основи хербологије и хербициди, Универзитет у Новом Саду, Пољопривредни факултет, стр. 200.
34. Мађановић Н., Крстић Б., (1998): Инструменталне методе у биолошким истраживањима, Универзитет у Новом Саду, Технолошки и Природно-математички факултет.
35. Нешковић Н. (1988): Пестициди и животна средина, Зборник радова Југословенског симпозијума (са међународним учешћем): Пестициди и њихово деловање на здравље људи и околину, Бечеј, 95 – 100.
36. Радивојевић Љ., Шантрић Љ., Калезић С. Р. (2007): Пестициди у земљишту: деловање на микроорганизме, Институт за пестициде и заштиту животне средине, Београд, 1;

37. Секулић, П., Кастори, Р., Хадзић, В. (2003): Заштита земљишта од деградације. Научни институт за ратарство и повртарство, Нови Сад.
38. Симић Б. С. (2016): Деградиција и заштита земљишта, Универзитет у Београду, Шумарски факултет, Тематски зборник, 15.
39. Томашевић А. (2010): Прилог проучавању механизма фотодеградације карбаматних пестицида, Докторска дисертација, Универзитет у Београду, Технолошко – металуршки факултет, Београд, 3-5.
40. Шовљански, Р., Лазић, С. (2007): Основи фитофармације. Универзитет у Новом Саду. Пољопривредни факултет.
41. <https://www.zelenavizija.com/Zemljiste.html>
42. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tembotrione#section=2D-Structure>
43. <https://www.cropscience.bayer.rs/proizvodi-zastita-bilja/herbicidi/laudis>