

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nataša ŠIBANC

**RAZGRADNJA HERBICIDA TERBUTILAZINA V  
DVEH TEKSTURNO RAZLIČNIH TLEH APAŠKE  
DOLINE**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2009

UNIVERZA V LJUBLJANI  
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA  
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Nataša ŠIBANC

**RAZGRADNJA HERBICIDA TERBUTILAZINA V DVEH  
TEKSTURNO RAZLIČNIH TLEH APAŠKE DOLINE**

DIPLOMSKO DELO  
Univerzitetni študij

**THE HERBICIDE TERBUTHYLAZINE DEGRADATION IN TWO  
SOILS FROM APAČE VALLEY DIFFERING IN TEXTURE**

GRADUATION THESIS  
University studies

Ljubljana, 2009

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija kmetijstvo - agronomija. Raziskovalno delo smo opravili na Centru za pedologijo in varstvo okolja Oddelka za agronomijo v Ljubljani in na Inštitutu za talno ekologijo nemškega nacionalnega inštituta Helmholtz Zentrum München v Neuherbergu.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je odobrila naslov diplomskega dela: »Razgradnja herbicida terbutilazina v dveh teksturno različnih tleh Apaške doline« in za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Franca LOBNIKA in somentorico doc. dr. Marjetko SUHADOLC.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc BATIČ  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franc LOBNIK  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: doc. dr. Marjetka SUHADOLC  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Franci CELAR  
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora: 18.6.2009

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisana se strinjam z objavo svojega diplomskega dela v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je delo, ki sem ga oddala v elektronski obliki, identično tiskani verziji.

Nataša ŠIBANC

### KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 632.954: 631.435 (043.2)
KG	Razgradnja/herbicidi/terbutilazin/tekstura/Apaška dolina
KK	AGRIS P30/P33
AV	ŠIBANC, Nataša
SA	LOBNIK, Franc (mentor) / SUHADOLC, Marjetka (somentor)
KZ	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2009
IN	RAZGRADNJA HERBICIDA TERBUTILAZINA V DVEH TEKSTURNO RAZLIČNIH TLEH APAŠKE DOLINE
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	IX, 35, [1] str., 6 pregl., 10 sl., 61 vir.
IJ	sl
JI	sl/en
AI	V diplomski nalogi smo preučili vpliv tekture na hitrost razgradnje herbicida terbutilazina v izbranih tleh Apaške doline. Izbrali smo dva teksturno različna vzorca tal, ilovico (P45: 45 % peska, 44 % melja, 11 % gline) in meljasto ilovico (P8: 8 % peska, 72 % melja, 20 % gline), ki pa sta bila v ostalih lastnostih (% organske snovi, C/N, % N, pH) podobna. Za primerjavo smo izbrali še tretji vzorec tal, P9+ (9 % peska, 65 % melja, 26 % gline), ki je bil teksturno podoben vzorcu P8, vendar z večkratno predhodno uporabo terbutilazina. V konstantnih laboratorijskih pogojih smo izvedli poskus razgradnje terbutilazina, označenega z izotopom $^{14}\text{C}$ . V času dvomesečnega poskusa smo 3x tedensko merili izhlapevanje $^{14}\text{C}$ komponent vključno s $^{14}\text{CO}_2$ , ki se je sprostil po mineralizaciji $^{14}\text{C}$ -terbutilazina. Na koncu poskusa smo v talnih vzorcih določili skupno vsebnost $^{14}\text{C}$ in količino vezanih ostankov. Kvantitativno in kvalitativno smo določili vsebnost terbutilazina in njegovih razgradnih produktov v ekstraktih tal. Skupna mineralizacija herbicida je bila v teksturno lažjih tleh (P45) značilno večja od teksturno težjih tal (P8), in sicer se je v obdobju 2 mesecev po uporabi v povprečju mineraliziralo 13,82 % v tleh P45 in le 4,98 % v P8. Med vzorcema P45 in P8 ni bilo statistično značilnih razlik v količini vezanih ostankov v tleh (18,79 in 21,18 % uporabljenega terbutilazina). Vsebnost terbutilazina se med vzorcema prav tako ni značilno razlikovala in je znašala 41,42 % za P45 in 37,96 % za P8, medtem ko je bila vsebnost razgradnega produkta dietil-terbutilazina značilno večja v teksturno težjih tleh (P8). V vzorcu P9+, z intenzivnejšo rabo herbicida terbutilazina, je bila mineralizacija terbutilazina značilno največja (16,14 % uporabljenega herbicida) in zakasnitvena faza najkrajša. V tem vzorcu smo določili največjo vsebnost vezanih ostankov (25,77 % uporabljenega terbutilazina) in najmanjšo vsebnost terbutilazina (31,94 %) in dietil-terbutilazina (4,76 %) v ekstraktu.

### KEY WORDS DOCUMENTATION

DN	Dn
DC	UDC 632.954: 631.435 (043.2)
CX	Degradation/herbicides/terbutylazine/soil texture/Apace valley
CC	AGRIS P30/P33
AU	ŠIBANC, Nataša
AA	LOBNIK, Franc (supervisor) / SUHADOLC, Marjetka (co - supervisor)
PP	SI – 1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB	University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Department of Agronomy
PY	2009
TI	THE HERBICIDE TERBUTYLAZINE DEGRADATION IN TWO SOILS FROM APAČE VALLEY DIFFERING IN TEXTURE
DT	Graduation thesis (University studies)
NO	IX, 35, [1 ] p., 6 tab., 10 fig., 61 ref.
LA	sl
AL	sl/en
AB	<p>In the graduation thesis we investigated the influence of texture on the degradation rate of herbicide terbutylazine in selected soil samples from Apace valley. Two soil samples differing in texture were selected, loam (P45: 45 % sand, 44% slit, 11 % clay) and silty loam (P8: 8 % sand, 72 % silt, 20 % clay), which were however similar in other soil characteristics (% organic matter, C/N, % N, pH). For comparison, the third soil sample was taken, P9+, (9 % sand, 65 % silt, 26 % clay), which was similar in texture to sample P8, but with more intensive terbutylazine history. The degradation experiment was conducted under constant laboratory conditions using <sup>14</sup>C-ring labeled terbutylazine. Volatile <sup>14</sup>C-compounds, including <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> released after <sup>14</sup>C-terbutylazine mineralization, have been measured three times a week. At the end of experiment the total amount of <sup>14</sup>C in soil samples and bound residues were determined. Quantitatively and qualitatively we determined terbutylazine and its metabolites in soil extract. The cumulative mineralization was significantly higher in lighter soil (P45) in comparison with heavier soil (P8). After 2 months of incubation, 13,82 % in P45 and only 4,98 % in P8 of applied terbutylazine was mineralized. There was no significant difference in the amount of bound residues formed between samples P45 and P8 (18,79 % and 21,18 % of applied terbutylazine, respectively). There was also no significant difference in the terbutylazine content in soil extract, 41,42 % for P45 and 37,96 % for P8, but the content of diethyl-terbutylazine was significantly higher in heavier soil (P8). In the soil sample P9+, with the most intensive terbutylazine use, the cumulative mineralization was the highest (16,14 % of applied terbutylazine) and lag phase was the shortest. This sample also had the highest content of bound residues (25,77 % of applied) and the lowest terbutylazine and diethyl-terbutylazine contents in soil extract (31,94 and 4,78 % of applied terbutylazine, respectively).</p>

## KAZALO VSEBINE

	Str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave	IX
<b>1 UVOD</b>	<b>1</b>
1.1 POVOD ZA RAZISKAVO	1
1.2 DELOVNA HIPOTEZA	1
<b>2 PREGLED OBJAV</b>	<b>2</b>
2.1 FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA	2
<b>2.1.1 Herbicidi</b>	<b>2</b>
2.2 USODA FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV	3
<b>2.2.1 Izhlapovanje</b>	<b>5</b>
<b>2.2.2 Transport z gibanjem vode v tleh</b>	<b>5</b>
<b>2.2.3 Vpliv lastnosti tal na vezavo FFS</b>	<b>6</b>
<b>2.2.4 Razgradnja fitofarmacevtskih sredstev v tleh</b>	<b>7</b>
2.2.4.1 Abiotična razgradnja	7
2.2.4.2 Biotična razgradnja	7
<b>2.2.5 Herbicid terbutilazin</b>	<b>7</b>
<b>3 MATERIAL IN METODE</b>	<b>10</b>
3.1 TERBUTILAZIN	10
3.2 TLA	10
<b>3.2.1 Apaška dolina</b>	<b>10</b>
<b>3.2.2 Izbrana tla za poskus</b>	<b>13</b>
3.3 PRIPRAVA TAL ZA POSKUS RAZGRADNJE TERBUTILAZINA	15
3.4 POSKUS RAZGRADNJE TERBUTILAZINA	15
3.5 ANALITSKI POSTOPKI	17

<b>3.5.1</b>	<b>Standardna pedološka analiza</b>	<b>17</b>
<b>3.5.2</b>	<b>Meritev vsebnosti vode pri določenem matričnem potencialu</b>	<b>18</b>
3.5.2.1	Vsebnost vode pri pF 2,18	18
<b>3.5.3</b>	<b>Določitev terbutilazina in razgradnih produktov</b>	<b>18</b>
3.5.3.1	Določitev $^{14}\text{C}$ snovi	18
3.5.3.2	Skupen in vezani $^{14}\text{C}$ v tleh	18
3.5.3.3	Terbutilazin in razgradni produkti v tleh	19
<b>3.5.4</b>	<b>Statistična analiza</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>REZULTATI</b>	<b>21</b>
4.1	BILANCA $^{14}\text{C}$ PO KONČANEM POSKUSU RAZGRADNJE	
	TERBUTILAZINA	21
4.2	MINERALIZACIJA TERBUTILAZINA	21
4.3	SKUPNA VSEBNOST IN VEZANI OSTANKI $^{14}\text{C}$ V TLEH	23
4.4	TERBUTILAZIN IN NJEGOVI RAZGRADNI PRODUKTI	24
<b>5</b>	<b>RAZPRAVA IN SKLEPI</b>	<b>26</b>
5.1	RAZPRAVA	26
5.2	SKLEPI	27
<b>6</b>	<b>POVZETEK</b>	<b>29</b>
<b>7</b>	<b>VIRI</b>	<b>31</b>
	<b>ZAHVALA</b>	<b>36</b>

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Dejavniki, ki vplivajo na usodo FFS v tleh (prirejeno po Arias-Estevez in sod., 2008).	5
Preglednica 2: Standardna pedološka analiza.	14
Preglednica 3: HPLC program.	19
Preglednica 4: Bilanca $^{14}\text{C}$ po končanem poskusu razgradnje terbutilazina v % glede na uporabljeno količino $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.	21
Preglednica 5: Delež vezanih in ekstraktibilnih ostankov ter skupne vsebnosti $^{14}\text{C}$ v tleh glede na prvotno uporabljeno količino $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.	24
Preglednica 6: Delež dietil-terbutilazina in terbutilazina v ekstraktu glede na količino prvotno uporabljenega terbutilazina.	25

## KAZALO SLIK

Slika 1: Možne poti fitofarmacevtskih sredstev (FFS) v tleh (Suhadolc, 2007).	4
Slika 2: Struktturna formula herbicida terbutilazina.	8
Slika 3: Apaška dolina.	11
Slika 4: Pedološka karta Apaške doline, izdelana v merilu 1:5.000, prilagojena v merilo 1:35.000 (CPVO, 2009).	12
Slika 5: Zaprt laboratorijski sistem.	15
Slika 6: Vlažilec zraka, inkubator s talnim vzorcem, prazna bučka.	16
Slika 7: Trije zaporedno vezani lovilci $^{14}\text{C}$ .	16
Slika 8: Skupna količina sproščenega $^{14}\text{CO}_2$ med 57-dnevno inkubacijsko dobo. Prikazana so povprečja 4 ponovitev in standardna deviacija.	22
Slika 9: Dnevna količina izhlapelega $^{14}\text{CO}_2$ med 57-dnevno inkubacijsko dobo. Prikazana so povprečja 4 ponovitev in standardna deviacija.	23
Slika 10: Delež vezanih in ekstraktibilnih ostankov ter skupne vsebnosti $^{14}\text{C}$ v tleh glede na prvotno uporabljeno količino $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.	24

## OKRAJŠAVE

$^{\circ}\text{C}$	Stopinj Celzija
$\mu$	Mikro
$^{14}\text{C}$	Radioaktivni izotop ogljika
Bq	Bacquerel
$\text{CO}_2$	Ogljikov dioksid
CPVO	Center za pedologijo in varstvo okolja
dpm	Razpad na minuto
DT50	Razpolovni čas
EMME	Etilenglikol-monometil-eter
FFS	Fitofarmacevtska sredstva
g	gram
GUS-indeks	Indeks izpiranja
h	Ura
$\text{H}_2\text{O}$	Voda
ha	Hektar
k	Kilo
K <sub>OC</sub>	Adsorpcijski koeficient
K <sub>OW</sub>	Porazdelitveni koeficient
l	Liter
m	Mili
mol	Množina snovi
NaOH	Natrijev hidroksid
Pa	Pascal
pF	Logaritem višine vodnega stolpca v cm
pH	Stopnja kislosti/bazičnosti
PPDB	Baza lastnosti FFS
SC	Koncentrirana suspenzija
SE	Suspenzoemulzija
UV-sevanje	Ultravijolično-sevanje

## 1 UVOD

### 1.1 POVOD ZA RAZISKAVO

Kmetovalci so v zadnjih 50 letih močno povečali pridelek na obstoječih kmetijskih površinah. K temu so pripomogli visoko produktivni semenski material, mineralna gnojila, oskrba z vodo in uporaba fitofarmacevtskih sredstev (FFS) (Avery, 2008).

Povečani uporabi FFS v Evropski uniji, vključno s Slovenijo (Eurostat, 2009), je sledilo zaznavanje FFS in njihovih razgradnih produktov v pridelkih, tleh in kasneje tudi v podtalnici (Eurostat, 2009, Poročilo o kakovosti..., 2004a, 2004b, 2007). Vedno večje zanimanje javnosti o vplivu FFS na zdravje ljudi in njihovi usodi v okolju je zato razumljivo.

Ko FFS doseže svoj namen, ga v okolju obravnavamo kot onesnažilo. Glavni procesi, v katere se vključujejo ostanki FFS v okolju, so: izhlapevanje v zrak, transport z gibanjem vode v tleh, prenos v organizme, vezanje na talne delce, različne transformacije in razgradnje (Suhadolc, 2007).

Razgradnja je eden izmed najbolj zaželenih procesov v usodi FFS, saj zmanjšuje količino ostankov FFS v tleh (Guo in sod., 2000). V končni stopnji razgradnje FFS pride do sproščanja CO<sub>2</sub> in nastanka drugih enostavnih anorganskih molekul. Na razgradnjo FFS vplivajo lastnosti tal, lastnosti FFS ter klimatski dejavniki. Med lastnostmi tal imajo pomembno vlogo količina organske snovi, tekstura, pH ter mikrobnna aktivnost.

Namen diplomske naloge je preučiti razgradnjo herbicida terbutilazina v dveh teksturno različnih vzorcih tal, ki se pojavljata v ornici njivskih zemljišč na območju Apaške doline. Zanimalo nas je predvsem, kako velik je lahko razpon v hitrosti razgradnje terbutilazina zaradi razlik v teksturi tal. Nadalje smo želeli ugotoviti vpliv večkratne uporabe izbranega FFS na njegovo razgradnjo, saj se isto sredstvo v praksi pogosto uporablja več let zapored na isti površini.

### 1.2 DELOVNA HIPOTEZA

Predvidevamo, da je razgradnja hitrejša v tleh z večjim deležem peščene frakcije (teksturno lažjih tleh) kot v tleh z večjim deležem glinaste frakcije (teksturno težjih), če so ostale talne lastnosti podobne.

Predvidevamo, da se ob večkratni, zaporedni uporabi terbutilazina na isti površini, talni mikroorganizmi prilagodijo tej okolju tuji substanci in posledično pričakujemo hitrejši začetek razgradnje.

## 2 PREGLED OBJAV

### 2.1 FITOFARMACEVTSKA SREDSTVA

Fitofarmacevtska sredstva (FFS) so sintetične ali naravne snovi, ki varujejo rastline pred škodljivimi organizmi (Milevoj, 2007). Glede na vrsto organizmov, ki jih FFS zatirajo, leta v grobem delimo na: baktericide (zatiranje bakterij), fungicide (zatiranje gliv), insekticide (zatiranje žuželk), akaricide (zatiranje pršic), herbicide (zatiranje plevelov oz neželenih rastlin), nematicide (zatiranje ogorčic ali nematod), limacide (zatiranje polžev) in rodenticide (zatiranje glodavcev) (Celar, 2006).

#### 2.1.1 Herbicidi

Aktivne snovi herbicidov uničujejo tako trave kot širokolistne plevele ali pa jih zavirajo v rasti. To so pripravki, ki jih uporabljamo v posevkah, nasadih, gozdovih proti plevelu ali nezaželenemu rastju in na nekmetijskih zemljiščih (Celar, 2006).

Poznamo totalne in selektivne herbicide. Totalni herbicidi imajo širok spekter delovanja, uporabljamo jih na površinah, navadno nekmetijskih, kjer želimo uničiti vse rastline. Selektivni herbicidi zatirajo manj rastlinskih vrst. Podlaga za selektivnost herbicida so lahko morfološke značilnosti (zgradba povrhnjice, velikost in položaj listov ipd.) in fiziološke značilnosti rastlinskih vrst (različne reakcije protoplazme posamezne rastlinske vrste na isto kemično snov). Selektivnost herbicida je odvisna od načina delovanja in količine pripravka, razvojnega stadija rastlin, od vremenskih razmer v času uporabe, od vrste tal in možnosti prodiranja sredstev globlje v tla. Prav tako je lahko vzrok za selektivnost herbicida način nanašanja (Maček in Kač, 1990).

Glede na to, kako rastlina sprejme herbicid in kako le-ta potuje po rastlini, delimo herbicide v tri skupine (Maček in Kač, 1990):

- dotikalne ali kontaktne herbicide, ki jih rastlina sprejme skozi list oziroma zelene organe. Ti se po rastlini ne premeščajo, ampak povzročajo lokalno odmiranje rastlinskih delov. Dotikalni herbicidi uničujejo le nadzemne rastlinske organe;
- listne translokacijske (sistemične) herbicide, ki jih rastlina sprejme predvsem skozi list in se po prevodnem sistemu prenesejo v vse rastlinske dele;
- talne translokacijske (sistemične) herbicide, ki prodrejo v rastlino prek korenin in se v prevodnem sistemu premeščajo v nadzemne rastlinske dele, kjer negativno vplivajo na življensko pomembne encimske procese. Ti so lahko v tleh zelo obstojni.

Kemične skupine herbicidov so: acetamidi, aniliidi, ariloksifenoksi-propionati, benzoati, fenoksi-karboksilati, heksandioni, imidazolinoni, karbamati, kloracetanilidi, nitroanilini,

piridin-karboksilati, sulfonilsečnine, tiokarbamati, triazini, triazinoni, triketoni, uracili in ureati (Celar, 2006).

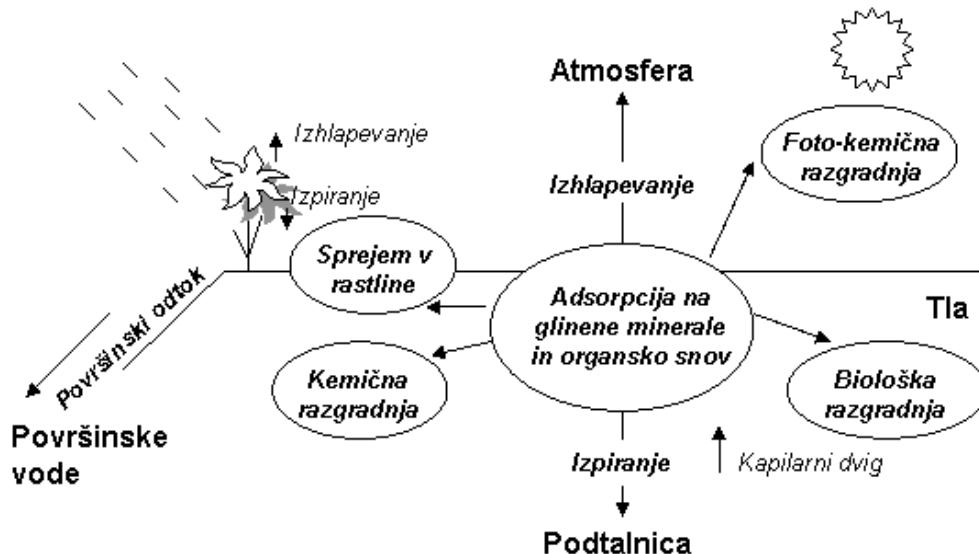
## 2.2 USODA FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV

Po vnosu FFS v okolje se ta spreminjajo in prenašajo, čemur pravimo njihova usoda. Ta je odvisna od lastnosti samega FFS, lastnosti tal ter drugih okoljskih vplivov.

Okolju prijazni FFS naj bi bili toksični le do ciljnih organizmov, biološko razgradljivi in slabo mobilni. Idealne aktivne snovi so žal redke, saj lahko FFS povzročajo odpornost ciljnih organizmov nanje, pojavlja se lahko kopičenje FFS v tleh in podtalnici. Neposredno nevarnost človeku predstavlja v primeru vnosa v organizem preko zraka, pitne vode in hrane.

Ostanke FFS, po tem ko so dosegli svoj namen, obravnavamo kot onesnažila. Ocena deleža aktivne snovi, ki po uporabi pripravka vstopa v tla, je lahko tudi do 85 % uporabljeni količine pri domnevi, da ga 5 % ostane na listih, preostalih 10 % pa predstavlja izgube FFS v zrak (Audsley in sod., 1997).

Možne poti FFS v tleh prikazuje slika 1: izhlapevanje v zrak, transport z gibanjem vode v tleh (površinski odtok, prenos v tleh, izpiranje v podtalnico), prenos v organizme (sprejem v rastline ter talno floro in favno), vezanje na talne delce (adsorpcija na talne koloide) in razgradnja (foto-kemična, biološka, kemična) (Suhadolc, 2007).



Slika 1: Možne poti fitofarmacevtskih sredstev (FFS) v tleh (Suhadolc, 2007).

Dejavniki, ki vplivajo na transportne in transformacijske procese FFS v tleh, so: lastnosti FFS, tal in klime (preglednica 1). Pomembne lastnosti FFS so kemijske lastnosti FFS, torej topnost FFS, formulacija, koncentracija in potencial izhlapevanja posameznega sredstva. Velik pomen ima tudi metoda nanosa, čas nanosa, pogostost in odmerek nanosa FFS.

Na usodo FFS v tleh imajo velik vpliv lastnosti tal in značilnosti zemljišča. Ključnega pomena pri lastnostih tal je vsebnost organske snovi, tekstura tal, pH in vsebnost vode v tleh. FFS se lahko adsorbirajo na organsko snov in glinene delce. Vpliv na usodo FFS imajo tudi talni mikroorganizmi, predvsem je pomembna velikost, pestrost in aktivnost talne mikrobne združbe. Lega in predvsem nagib terena, pokritost z rastlinami in njihove lastnosti, način obdelave tal in zgodovina uporabe gnojil in FFS tudi pomembno vplivajo na transportne in transformacijske procese v tleh.

Tretji, zadnji sklop so klimatski dejavniki. Veter, zračni tokovi, temperatura zraka, količina in intenzivnost padavin ter evaporacija prav tako vplivajo na usodo FFS v tleh, predvsem na transport FFS z gibanjem vode v tleh.

Preglednica 1: Dejavniki, ki vplivajo na usodo FFS v tleh (prirejeno po Arias-Estevez in sod., 2008).

---

FFS	Tla	Klimatski vpliv
<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> izhlapevanje</li> <li><input type="radio"/> topnost</li> <li><input type="radio"/> formulacija</li> <li><input type="radio"/> koncentracija</li> <li><input type="radio"/> nanos FFS <ul style="list-style-type: none"> <li>- metoda nanosa</li> <li>- čas nanosa</li> <li>- pogostost nanosa</li> <li>- odmerek</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> lastnosti tal <ul style="list-style-type: none"> <li>- organska snov</li> <li>- tekstura</li> <li>- pH</li> <li>- voda v tleh</li> <li>- mikrobnna združba (velikost, pestrost, aktivnost)</li> </ul> </li> <li><input type="radio"/> lokacija <ul style="list-style-type: none"> <li>- lega in nagib terena</li> <li>- pokritost z rastlinami in lastnosti rastlin</li> <li>- način obdelave tal</li> <li>- zgodovina uporabe FFS in gnojil</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li><input type="radio"/> veter, zračni tokovi</li> <li><input type="radio"/> temperatura</li> <li><input type="radio"/> sončno sevanje</li> <li><input type="radio"/> padavine, količina in intenzivnost</li> <li><input type="radio"/> relativna zračna vlaga</li> <li><input type="radio"/> evaporacija</li> </ul>

---

### 2.2.1 Izhlapevanje

Izhlapevanje FFS v zrak je sprememba agregatnega stanja FFS iz tekočega v plinasto stanje, lahko se nanaša tudi na transport plinske oblike FFS iz talnega zraka ali površine rastlin. Izhlapevanje je predvsem odvisno od lastnosti FFS (topnost in parni tlak), lastnosti tal, klimatskih razmer (veter) in tehnik nanašanja FFS. Izhlapevanje FFS lahko veliko prispeva k onesnaženju zraka ter prenašanju FFS stran od območja, kjer smo ga uporabili (Scheunert, 1992a).

### 2.2.2 Transport z gibanjem vode v tleh

Voda se v tleh giblje iz območja z večjim vodnim potencialom proti območju z manjšim potencialom. Transport FFS z gibanjem vode lahko poteka s površinskim odtokom in izpiranjem skozi tla v podtalnico. Verjetnost onesnaženja površinskih voda in podtalnice s FFS je odvisna od treh glavnih dejavnikov: (i) prisotnosti FFS v tleh, (ii) mobilnosti FFS (Klotz in sod., 1997) in (iii) količine vode, ki se prenaša po površju in skozi tla (Van Es,

1990). Na mobilnost FFS v tleh vplivajo tekstura tal (Sadeghi in sod., 2000; Montoya in sod., 2006), poroznost, gostota tal, količina vode v tleh, vodni tok in stabilnost strukturnih agregatov (Scheunert, 1992a).

### **2.2.3 Vpliv lastnosti tal na vezavo FFS**

Tla predstavljajo kompleks živih organizmov, različnih tipov organske snovi in mineralnih delcev. Ti gradniki tal imajo različne tipe površin, ki omogočajo vezavo FFS (sorpcijo).

Vpliv sorpcije na usodo FFS so raziskovali številni avtorji, ki ugotavljajo, da je vezava na talne koloide eden izmed glavnih razlogov zadrževanja FFS v tleh (Khan, 1982; Bollag in sod., 1992; Gaveo in sod., 2000; Reid in sod., 2000). FFS se razlikujejo po sposobnosti vezave na talne koloide. Na primer, za triazinske herbicide je značilno, da njihove polarne funkcionalne skupine reagirajo z ionskimi in polarnimi mesti talnih koloidov. Za ta mesta morajo tekmovati z molekulami vode. Voda je namreč navadno bolj kompetitivna kot klor-triazini za ionske in polarne tipe površin. Količina triazinov, ki se zadržijo v tleh zaradi sorpcije, lahko zelo variira, vendar je v splošnem sorpcija na meljasti ilovici, ilovici ali glineni ilovici med 50 % in 80 % od uporabljene količine FFS (Laird in Koskinen, 2008). Vrsta koloidnih delcev v tleh vpliva na sorpcijo (Brady in Weil, 1999; Laird in Koskinen, 2008). Glineni minerali, predvsem montmorionit (Cruz-Guzman in sod., 2004) in vermikulit, imajo zaradi večjih medplastnih rež večjo adsorpcijsko površino, kar posledično poveča adsorpcijsko kapaciteto, medtem ko imajo glineni minerali s tanjšimi medplastnimi režami, ilit, kaolinit, klorit, manjšo adsorpcijsko kapaciteto (Scheunert, 1992a). Vendar pa je pomembnejša sorpcija FFS na organske koloide (humiske kisline, fulvo kisline in humin) in njihove mikrostrukture (Suhadolc, 2003).

Vezava FFS na talne koloide posredno in neposredno uravnava razgradnjo in izhlapevanje triazinov, zaradi česar je potrebno poznati mehanizme vezave. Lastnost FFS, da se lahko veže na talni matriks, izražamo z adsorpcijskim koeficientom,  $K_{oc}$  (ml/g), ki predstavlja razmerje med adsorbirano koncentracijo in raztopljeno koncentracijo glede na delež organskega ogljika v tleh. Velike vrednosti nakazujejo tendenco kemične snovi, da se adsorbira na talni delce in ne ostane v talni raztopini.  $K_{oc}$  je neodvisen od tipa tal. FFS s  $K_{oc}$  manjšim od 500 ml/g so podvržena izpiranju (van Es, 1990). Intenzivnost adsorpcije FFS na organsko snov je povezana z hidrofobnimi lastnostmi FFS, kar lahko izmerimo s porazdelitvijo komponent med organsko raztopino in vodo. Na podlagi tega določamo porazdelitveni koeficient FFS med *n*-oktanolom in vodo,  $K_{ow}$ , ki predstavlja merilo za lipofilnost FFS (Rowel, 1994).

Takoj po nanosu pripravka na površino tal prihaja najprej do hitrih izgub zaradi izhlapevanja in fotorazgradnje. Sledi faza vezanja (adsorpcije) FFS na talne koloide, organskega in anorganskega izvora. Z naraščanjem kontaktnega časa med FFS in talnimi delci se zmanjšuje njihova biološka dostopnost in hitrost razgradnje (Barriuso in sod.,

1997; Park in sod., 2003, 2004). Ta pojav imenujemo staranje (ang. *ageing*). Pri zelo močni vezavi nastajajo ostanki v tleh (vezani ostanki – ang. *bound residues*), ki se jih ne da ekstrahirati iz tal in je zato njihova kvantitativna in kvalitativna določitev težja (Suhadolc, 2007). V procesu nastajanja vezanih ostankov molekule FFS počasi prodirajo med nanopore, ki jih tudi najmanjši mikroorganizmi težko dosežejo. Ujetje v talni matriks je povezano z deležem organske snovi v tleh ter teksturo in strukturo tal. Tudi proces vlaženja ter sušenje tal ima velik vpliv na proces staranja (Reid in sod., 2000). Proses stabilizacije ostankov FFS v tleh, ki vodi do vezanih ostankov, je konkurenčen procesu razgradnje (Suhadolc, 2007).

#### **2.2.4 Razgradnja fitofarmacevtskih sredstev v tleh**

Razgradnja ima poglavito vlogo pri zmanjševanju ostankov FFS v tleh, pri tem lahko nastanejo nove komponente (razgradni produkti), ki so lahko tudi bolj toksične od prvotne spojine (»starševske« aktivne snovi). Lastnosti razgradnih produktov se lahko razlikujejo od aktivne snovi v kemijskih lastnostih, obnašanju in usodi v tleh (Suhadolc, 2003). Razgradnjo FFS do  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Cl}^-$  in drugih enostavnih anorganskih spojin imenujemo popolna razgradnja oz. mineralizacija.

##### **2.2.4.1 Abiotična razgradnja**

Abiotična razgradnja vključuje oksidacijo, dehidroklorinacijo, redukcijo, hidrolizo, konjugacijo, kot tudi fotolizne procese na površini tal. Produkti, ki nastanejo z abiotičnimi procesi, so mnogokrat podobnim encimskim produktom, zaradi tega jih je težko ločiti od biotičnih (Scheunert, 1992b).

##### **2.2.4.2 Biotična razgradnja**

Biotične transformacije so tiste, ki se zgodijo v živih organizmih ali pa so katalizirane z encimi izven celic. Poznamo metabolizem in kometabolizem (Scheunert, 1992b). Pri metabolizmu organizmi črpajo energijo in ogljik za njihovo biosintezo, zato temu sledi tudi rast biomase. Ta vrsta biološke razgradnje se nanaša na specifična FFS in na tiste vrste mikroorganizmov, ki so sposobni izkoriščati FFS kot vir ogljika.

Pri kometabolizmu mikroorganizmi kemično transformirajo FFS, vendar pri tem ne izrabljajo energijske vrednosti FFS. Posledično tudi ne povečujejo rast svoje biomase. Razgradnja FFS v tleh poteka večinoma na kometaboličen način (Scheunert, 1992b).

#### **2.2.5 Herbicid terbutilazin**

Herbicid terbutilazin spada med triazinske herbicide, kamor spadajo tudi atrazin, metamitron, metribuzin, prometrin in simazin. Triazini so šestčlenske, heterociklične spojine s tremi ogljikovimi in tremi dušikovimi atomi. So sistemični herbicidi, predvsem talni, v manjšem obsegu delujejo preko listja. V rastlini zavirajo fotosintezo in delitev

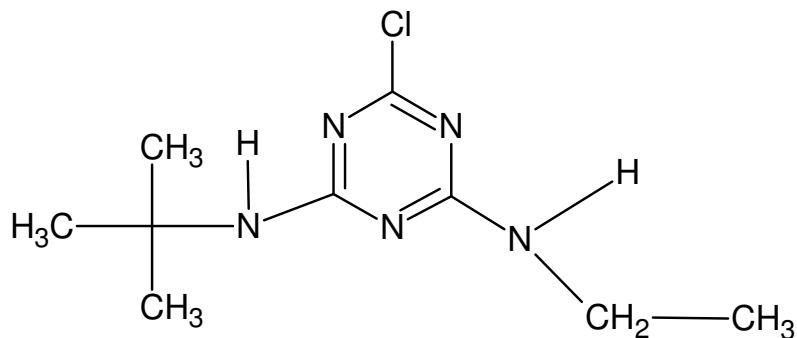
celic. Pomembnejši znak poškodb je rumenenje listja, najprej na robovih, nato po vsej ploskvi (Celar, 2006). Triazini so pomembni za visoko produktivne kmetijske rastline, kot je na primer koruza.

Terbutilazin se je pojavil na trgu leta 1970 v Ameriki, pod imenom Gardoprime® firme Ciba-Geigy. Na začetku so uporabljali terbutilazin s terbutinom v krompirju in z terbumetonom v vinogradih. Velikega pomena je bil v koruznih nasadih, kjer je že delno zamenjal atrazin v delih Evrope ter južne Afrike, kjer je zatiral žametnico (*Tagetes* sp.), ki je povzročala slab okus koruze, in je atrazin ni zatiral. Prva registracija terbutilazina v Evropi je bila leta 1983 v Nemčiji. Terbutilazin je postal ključnega pomena v vsej Evropi predvsem na območjih, kjer je bila uporaba atrazina prepovedana (Heri in sod., 2008).

Pri nas registrirani sredstvi z aktivno snovjo terbutilazin sta Primextra ZT Gold 500 SC (18,75 % terbutilazin, 31,25 % S-metolaklor) in Lumax SE (3,75 % mezotrihon, 12,5 % terbutilazin, 37,5 % S-metolaklor). Oba delujeta proti enoletnim ozkolistnim in enoletnim širokolistnim plevelom. Uporabljata se pred in po vzniku, v količini 4 - 4,5 l/ha za Primextra ZT Gold 500 SC in 3 - 4 l/ha za Lumax SE (Fito info, 2008).

Terbutilazin se absorbira večinoma prek korenin. Z njim zatiramo enoletne širokolistne in travne pleveli v koruzi in trajnih nasadih. Pri fotosintezi zavira prenos elektronov in druge encimske procese. Nekatere rastline so proti triazinom fiziološko odporne, aktivne molekule hitro razgradijo na neškodljive sestavine (Celar, 2006).

Terbutilazin (slika 2) (IUPAC:  $N^2$ -tert-butyl-6-chloro- $N^4$ -ethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) s kemično formulo  $C_9H_{16}ClN_5$  (slika 2) je brezbarvni prašek molekularne mase 229,7 g/mol.



Slika 2: Strukturna formula herbicida terbutilazina.

Terbutilazin je v tleh precej obstojen, kar je značilno za vse klor-triazinske herbicide. Čas, potreben za razgradnjo 50 % aktivne snovi, oz. razpolovna doba (DT50) znaša za triazine med 14 do 112 dni s povprečjem  $36 \pm 25$  dni (Koskinen in Banks, 2008). Po podatkih Footprintove baze podatkov o lastnostih FFS (Footprint-PPDB, 2009) znaša razpolovna

doba terbutilazina v tleh 76,7 dni pri 20°C. Na polju je razpolovna doba 31 dni. Razpon razpolovne dobe v evropskih laboratorijskih študijah znaša med 42 in 170 dni, v poljskih poskusih med 11 in 124 dni. Povprečno znaša razpolovna doba terbutilazina v severni Evropi 22,6 dni in v južni Evropi 38,9 dni (Footprint-PPDB, 2009). Terbutilazin je slabo topen v vodi, saj je njegova topnost 6,6 mg/l. Uvrščamo ga med hlapljiva sredstva na podlagi njegovega parnega tlaka, ki je 0,15 mPa. Spada med lipofilne snovi, zaradi porazdelitvenega koeficiente ( $K_{ow}$ ), ki znaša 3,4 logP. Adsorpcijski koeficient ( $K_{oc}$ ) znaša za terbutilazin 219 ml/g in tako nakazuje potencial za izgube z izpiranjem. GUS indeks izpiranja znaša 3,13, kar prav tako nakazuje velik potencial za izpiranje (Footprint-PPDB, 2009).

V tleh sta glavni poti razgradnje terbutilazina N-dealkilacija in hidrolitična deklorinacija (Wackett in sod., 2002). Dealkilacija vodi do dietil-terbutilazina, deizopropil-terbutilazina, dietil-deizopropil-terbutilazina. Deklorinacija vodi do hidroksi-terbutilazina, dietil-hidroksi-terbutilazina, deizopropil-hidroksi-terbutilazina in dietil-deizopropil-hidroksi-terbutilazina. Proces razgradnje do zgoraj omenjenih razgradnih produktov tako zajame le eliminacijo stranske verige in hidrolitično deklorinacijo. Ob razgradnji triazinskega obroča pride do sprostitve CO<sub>2</sub> (mineralizacije).

### 3 MATERIAL IN METODE

#### 3.1 TERBUTILAZIN

V poskusu je bil uporabljen  $^{14}\text{C}$ -označen terbutilazin z 99,9 % čistostjo (Institute of Isotopes Co. Ltd., Budimpešta, Madžarska) in neoznačen terbutilazin iz Laboratorija Dr. Ehrenstorferja z 99,9 % čistostjo (Augsburg, Nemčija).  $^{14}\text{C}$ -terbutilazin in neoznačen terbutilazin sta bila zmešana v razmerju, ki je dalo specifično aktivnost 73 Bq/ $\mu\text{g}$ . Zmes terbutilazina (50  $\mu\text{l}$ ) smo nanesli na 50 g suhe teže tal. Količina uporabljenega terbutilazina (250  $\mu\text{g}$  terbutilazina oziroma 18,1 kBq) ustreza odmerku 1 kg terbutilazina/hektar. Priporočljiv odmerek v Sloveniji registriranih sredstev z aktivno snovjo terbutilazin je v pripravku Lumax 0,5 kg terbutilazina/ha, v Primextra pa 1 kg terbutilazina/ha.

#### 3.2 TLA

Tla za poskus razgradnje herbicida terbutilazina smo izbrali na območju Apaške doline.

##### 3.2.1 Apaška dolina

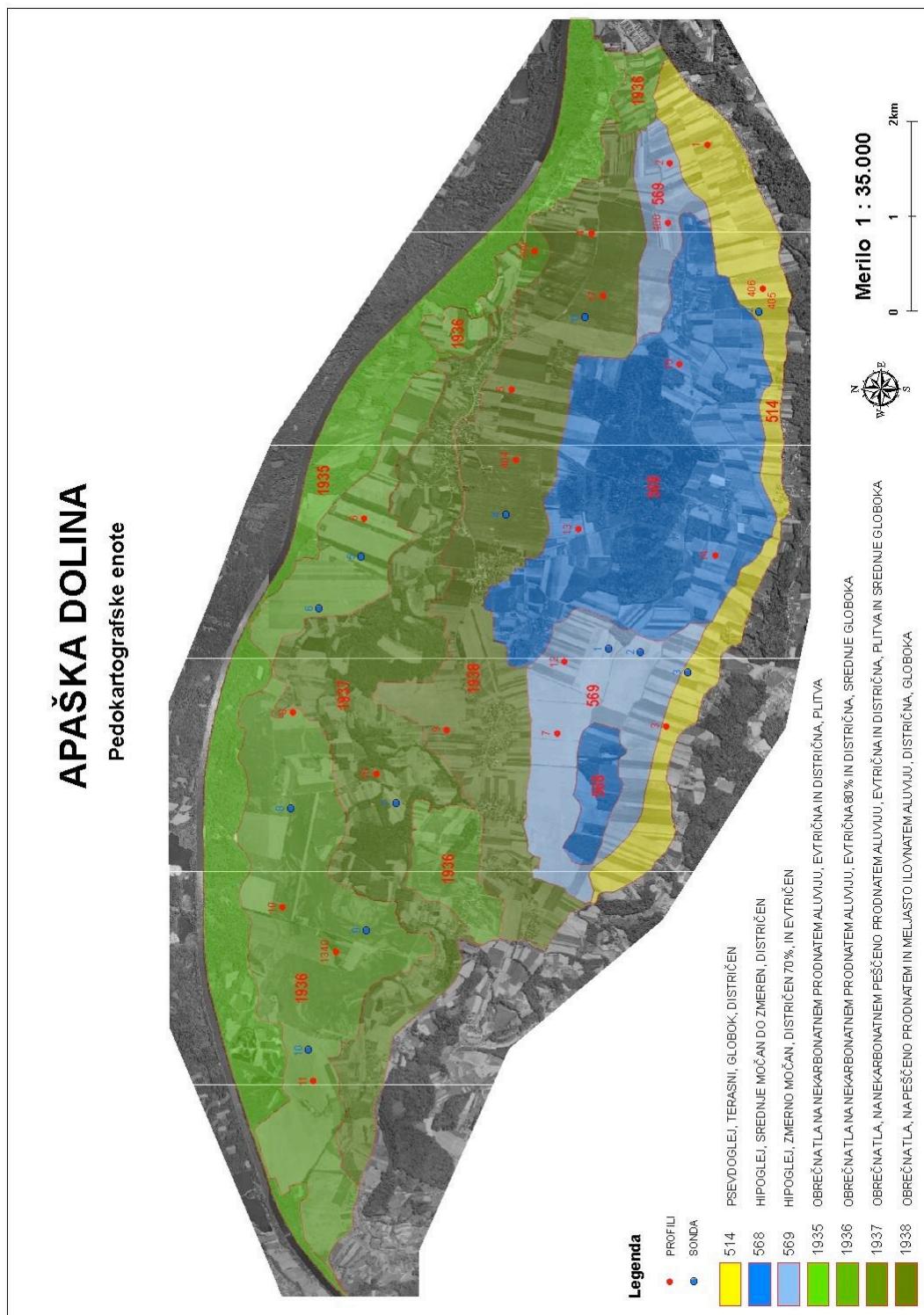
Apaška dolina (slika 3) se razteza na 54 km<sup>2</sup>, od tega se v kmetijske namene uporablja 68,8 % zemljišč, medtem ko gozd pokriva 23,3 % zemljišč. Zaraščenega območja je 0,53 %, urbani del pa predstavlja 7,34 % (Topolovec, 2008). Največji delež posamičnih kultur predstavljajo pšenica (31 %), koruza (21 %), in ječmen (13 %) (Delež..., 2008). Med FFS, ki so najpogosteje uporabljeni v dolini sta tudi oba v Sloveniji registrirana herbicida na osnovi terbutilazina (Primextra in Lumax).

Apaška dolina po Kopppenu spada v vlažno zmerno topli klimatski pas s sušno zimo. Letno povprečje padavin je 916 mm, povprečna letna temperatura znaša 10,09°C (Topolovec, 2008). Vegetacijska doba je 249 dni. Matično podlago v Apačah tvorijo nekarbonatne pleistocenske in pliocenske gline in ilovice, ki so prekrite z materialom nanesenim iz bližnjih Slovenskih goric, ki je ponekod peščeno ilovnat (Verbič in Horvat, 2006). Podtalnica Apaške doline obsega približno 3500 ha in je razmeroma plitvo pod površjem (3 - 6 m). Debelina vodnega sloja je odvisna od reliefsa in klimatskih razmer, kar nanese približno 1 - 9 m (Pintar in sod., 1996).

Na osnovi pedološke karte in dodatnih pedoloških raziskav so na Centru za pedologijo in varstvo okolja izdelali pedološko karto Apaške doline (slika 4). Kot tipe tal so opredelili obrečna tla, ki obsegajo večinski, 65,1 % del Apaške doline, hipooglejena tla, ki se raztezajo preko 27,4 % in psevdooglejena tla, ki predstavljajo najmanjši del, 7,5 % doline (CPVO, 2009). Na osnovi standardne pedološke analize, narejene na 19 točkah Apaške doline, lahko ugotovimo, da je za obdelovalni sloj tal (ornico) značilen pH med 4,3 in 6,8 ter delež organske snovi med 2,0 in 3,3 %. Prevladujejo naslednji teksturni razredi: ilovica, meljasta ilovica in meljasto glinasta ilovica (CPVO, 2009).



Slika 3: Apaška dolina (CPVO, 2009).



Slika 4: Pedološka karta Apaške doline, izdelana v merilu 1:5.000, prilagojena v merilo 1:35.000 (CPVO, 2009).

### 3.2.2 Izbrana tla za poskus

Za poskus razgradnje terbutilazina smo iskali tla, ki so si kar najbolj podobna po standardni pedološki analizi in rabi tal, razlikujejo pa se v teksturi. Za izbor je bila ključna podobnost v organski snovi tal in pH, saj imata velik vpliv na razgradnjo.

Izbrali smo tla z ilovnato teksturom s 45 % deležem peska (P45) in z meljasto-ilovnato teksturom z 8 % deležem peska (P8). Za primerjavo smo izbrali še tretja tla prav tako z meljasto – ilovnato teksturom z 9 % deležem peska (P9+), vendar so bila tla odvzeta iz zemljišča, kjer je bila uporaba herbicidov atrazina in terbutilazina v večjih odmerkih z večkratnim nanosom tekom sezone in let. Standardna pedološka analiza (preglednica 2) je pokazala podobnost parametrov, ki ključno vplivajo na hitrost razgradnje terbutilazina. Reakcija tal izbranih vzorcev se giblje med pH 4,5 in 5,3, vsebnosti organske snovi pa med 1,9 in 2,1 %.

**Vzorec tal P45** smo vzeli na lokaciji Črnci. Po podatkih (Topolovec, 2009) je bil leta 2007 na njivi ječmen, prej pa 3 leta koruza. Herbicid Primextra na osnovi aktivnega sredstva terbutilazin je bil uporabljen leta 2004 in 2005 v priporočeni količini 4 l/ha. Glede na pedološko karto Apaške doline (CPVO, 2009) je to območje opredeljeno kot obrečna tla na nekarbonatnem peščeno prodnatem aluviju.

**Vzorec tal P8** smo vzeli na lokaciji Segovci, ki so bila leta 2007 zasejana s pšenico, leta 2006 s koruzo, 2005 s pšenico in leta 2004 s sladkorno peso (Topolovec, 2009). Herbicid na osnovi aktivne snovi terbutilazin je bil uporabljen leta 2006, v priporočeni količini 3,5 l/ha. Tla so opredeljena kot obrečna na peščeno prodnatem in meljasto ilovnatem aluviju, so distrična in globoka (CPVO, 2009).

**Vzorec tal P9+** smo vzeli na lokaciji Nasova, kjer je bila več let monokulturna pridelava koruze, kar nakazuje na kontinuirano uporabo triazinskih herbicidov (atrazin in terbutilazin). Njiva je bila leta 2004, 2005 in 2007 zasajena s koruzo, z vmesno praho 2006 (Topolovec, 2009). Herbicid Primextra je bil uporabljen leta 2004, 2005 in 2007. Tip tal je opredeljen kot srednje močan distričen hipoglej (CPVO, 2009).

Šibanc N. Razgradnja herbicida terbutilazina v dveh teksturno različnih tleh Apaške doline.  
Dipl. delo. Ljubljana, Univ. v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, 2009

---

Preglednica 2: Standardna pedološka analiza.

		pH	$P_2O_5$	$K_2O$	Org. snov	C	C/N	N skupni	Pesek	Melj skupaj	Glina	Teksturni
	globina	CaCl <sub>2</sub>	mg/100 g	%	%	razmerje	%	%	%	%	%	razred
P45	0-15 cm	4,5	17,5	15,4	1,9	1,1	9,2	0,12	44,9	43,8	11,3	I
P8	0-15 cm	5,1	23,5	33,4	2,1	1,2	9,2	0,13	7,7	72,6	19,7	MI
P9+	0-15 cm	5,3	23,1	18,6	2,1	1,2	7,1	0,17	8,6	64,7	26,7	MI

	Ca	Mg	K	Na	H	S	T	V	Ca	Mg	K	Na	H
	mmol C <sup>+</sup> /100 g vzorca						%			%			
P45	3,91	0,59	0,25	0,03	9,45	4,8	14,3	33,6	27,3	4,1	1,7	0,2	66,1
P8	4,42	0,49	0,67	0,03	10,35	5,6	16	35	27,6	3,1	4,2	0,2	64,7
P9+	11,85	3,5	0,37	0,07	8,45	15,8	24,3	65	48,8	14,4	1,5	0,3	34,8

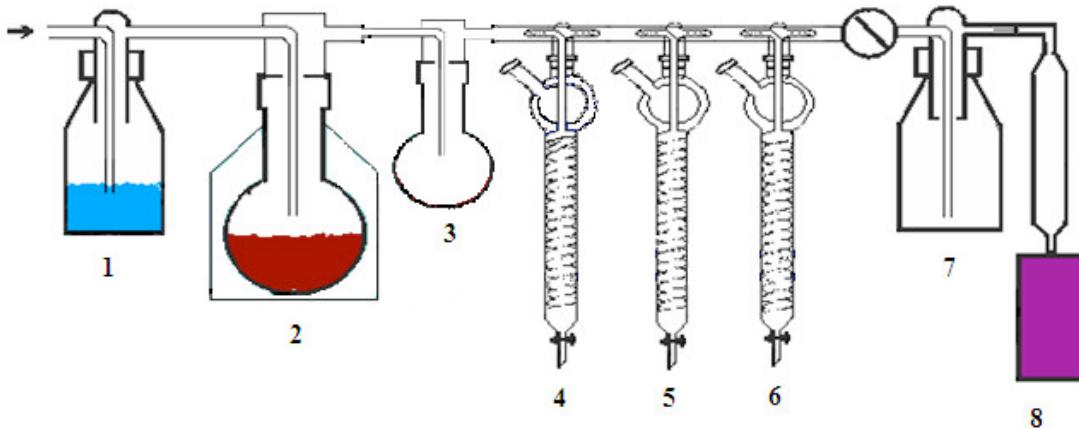
### 3.3 PRIPRAVA TAL ZA POSKUS RAZGRADNJE TERBUTILAZINA

Talne vzorce smo odvzeli 11. februarja 2008 iz zgornjih 20 cm njivskih tal (ornice), jih presejali ( $< 2$  mm) in shranili na  $4^{\circ}\text{C}$  do začetka poskusa. Pred začetkom poskusa smo tla homogenizirali in 14 dni inkubirali v temnem laboratoriju na  $20^{\circ}\text{C}$ .

Da bi zagotovili optimalno vsebnost vode v tleh za razgradnjo (Schroll in sod., 2006), smo vsem svežim talnim vzorcem dodali vodo do matričnega potenciala  $-0,015 \text{ MPa}$  oz.  $\text{pF} 2,18$ .

### 3.4 POSKUS RAZGRADNJE TERBUTILAZINA

Mineralizacijo  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina do  $\text{CO}_2$  smo preučevali v zaprtem laboratorijskem sistemu. Sistem (slika 5, 6, 7) je bil sestavljen iz vlažilca zraka (1), inkubatorja s talnim vzorcem (2), prazne bučke (3), ki je preprečevala morebitni pretok iz prvega lovilca v inkubator s talnim vzorcem, treh zaporedno vezanih lovilcev, prvi napoljen z 20 ml etilenglikol-monometil-eta (EMME) za lovljenje izhlapelih komponent (4), druga dva z 20 ml NaOH za lovljenje po mineralizaciji sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  (5 in 6). Sistem je bil nadalje povezan preko Wulfove posode (7) s črpalko (8). Postavljen je bil v varovanem, temnem, zaprtem prostoru, s konstantno temperaturo  $20^{\circ}\text{C}$ . V poskusu smo imeli vse 3 talne vzorce v 4 ponovitvah.



Slika 5: Zaprt laboratorijski sistem.

Mešanico  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina (73 Bq/ $\mu\text{g}$ ) smo kapljično nanesli na 5 g suhih ( $105^{\circ}\text{C}$ ) vzorcev tal v čaši. Po intenzivnem mešanju in ko je ves metanol izhlapel, smo mešanico dodali k 45 g suhe teže inkubiranih, svežih tal. Homogenizirano talno mešanico smo prenesli v inkubatorje, ki so bili povezani z zaprtim laboratorijskim sistemom.

Hitrost mineralizacije  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina smo merili z lovljenjem sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$ . Po vsakokratnem vzorčenju je bil sistem zračen v rednih časovnih intervalih 1 uro s pretokom zraka 1 l/h. Izhlapel  $^{14}\text{C}$ -terbutilazin in razgradne produkte smo lovili v prvem lovilcu z

topilom EMME, sproščen  $^{14}\text{CO}_2$  iz  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina pa v drugem in tretjem lovilcu z NaOH. Prvo vzorčenje topila iz lovilca je bilo 24 ur po nanosu terbutilazina, nato trikrat na teden.

Merili smo tudi skupni volumen topila v lovilcih. Celotni volmen topila EMME je bil zmešan s scintilacijskim koktajlom Ultima Gold, del topila NaOH pa s koktajlom Ultima Flo. Oba uporabljeni koktajla sta bila Packard (Dreieich, Nemčija).



Slika 6: Vlažilec zraka, inkubator s talnim vzorcem, prazna bučka.



Slika 7: Tриje zaporedno vezani lovilci  $^{14}\text{C}$ .

### 3.5 ANALITSKI POSTOPKI

#### 3.5.1 Standardna pedološka analiza

Standardno pedološko analizo smo opravili na Biotehniški fakulteti, na Centru za Pedologijo in Varstvo Okolja (CPVO).

**Reakcijo tal** smo določili elektrometrično v suspenziji 10 ml talnega vzorca in 50 ml 0,01 M CaCl<sub>2</sub> (SIST ISO 10390, 2005).

**Teksturo** smo določili s sedimentacijsko pipetno metodo (Janitzky, 1986). V plastenko smo natehtali 10 g tal in prelili s 25 ml Na-pirofosfata (0,4 mol/l). Talno raztopino smo stresali na stresalniku 4 ure in nato prenesli na sito s premerom odprtin 0,2 mm. Z mokrim sejanjem smo izločili delce grobega peska. Suspenzijo, ki je šla skozi sito, smo prenesli v valj z volumnom 1000 ml, kamor smo do oznake dolili deionizirano vodo. Zamašen valj smo stresali 3 minute in postavili na podlago, da so se delci začeli usedati. Po 44 sekundah smo odpipetirali 10 ml suspenzije iz globine 10 cm, ki je zajela delce, ki so manjši od 0,05 mm (gropi in fini melj, glina). Maso odpipetirane suspenzije smo določili po izparevanju na peščeni kopeli in sušenju pri 105°C. Valj smo ponovno stresali 3 minute. Po 4 min in 27 sekundah smo določili delce, manjše od 0,002 mm (fini melj in glina). Po ponovnem stresanju 3 minute smo po 7 urah in 35 minutah določili delce, ki so manjši od 0,002 mm (glina). Teksturni razred smo določili po ameriški teksturni klasifikaciji (Soil survey manual, 1993).

**Organsko snov v tleh** smo določili po SIST ISO 14235, modificiranem po Walkley-Black (SIST ISO 14235, 1999). V 200 ml bučko smo natehtali talni vzorec (od 0,05 do 2,0 g), ga prelili z 10 ml K<sub>2</sub>CrO<sub>7</sub> (0,166 mol/l) in rahlo premešali. Dolili smo 20 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (96 %). Po 20 - 30 minutah smo bučko dopolnili z deionizirano vodo. V erlenmajerico smo odpipetirali 20 ml alikvot in dodali 10 kapljic H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (85 %), 0,2 g NaF in 3 kapljice indikatorja difenilamina (0,5 g indikatorja raztopimo v 20 ml deionizirane vode in dodamo 100 ml koncentrirane H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Tako pripravljen alikvot smo titrirali z raztopino (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (0,5 mol/l) do preskoka barve v smaragdno zeleno. Iz razlike med slepo vrednostjo in vzorcem smo izračunali vsebnost organske snovi v vzorcu.

**Celokupno vsebnost dušika** smo določili s sežigom pri 900°C s pomočjo TCD detektorja (Thermmal Conductivity Detector) na CNS elemenem analizatorju VarioMAX Elementar. Uporabili smo standard ISO 13878 (1995).

**Kationsko izmenjalno kapaciteto tal** smo določili kot vsoto bazično deluječih kationov (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>) in izmenljive kislosti (H<sup>+</sup>) tal (Soil survey laboratory methods manual, 1992). Izmenljive bazične katione smo določili po ekstrakciji 10 g tal s 100 ml NH<sub>4</sub>OAc (1 mol/l). Na in K v ekstraktu smo določili s plamenskim emisijskim spektrofotometrom (FAES: plamen: butan-propan, zrak: 1,5 atm), Ca in Mg pa z atomskim

absorpcijskim spektrofotometrom (AAS, Perkin Elmer 1100). Za določitev izmenljive kislosti smo natehtali 10 g tal in jih prelili s 100 ml ekstrakcijske raztopine ( $\text{BaCl}_2$  in trietanolamin), premešali, stresali 1 uro in prefiltrirali. Dve kapljici indikatorja smo dodali k filtratu (20 ml) in ga titrirali z 0,1 M HCl do rahlo vijoličaste barve (preskok pri  $\text{pH}=5$ ). Iz razlike med slepo vrednostjo in vzorcem smo izračunali izmenljivo kislost tal.

### **3.5.2 Meritev vsebnosti vode pri določenem matričnem potencialu**

Za izračun, koliko vode moramo dodati vzorcem v poskusu, je potrebno izmeriti vsebnost vode v tleh pri določenem matričnem potencialu talnega vzorca. Meritev smo izvedli na katedri za urejanje kmetijskega prostora in hidrologijo, na Biotehniški fakulteti. Porušene in presejane ( $< 2 \text{ mm}$ ) svežne talne vzorce smo napolnili v obroče volumna  $10 \text{ cm}^3$  do volumske gostote  $1,3 \text{ g/cm}^3$ . Vseh 5 ponovitev vzorcev smo nasičili z vodo ter postavili v Fisherjevo posodo in nastavili pritisk  $-0,015 \text{ MPa}$ . Ko so vzorci dosegli konstantno maso, smo jih posušili na  $105^\circ\text{C}$  ter iz vlažne in suhe mase izračunali % vode v tleh, do katerega smo v talnih vzorcih v poskusu razgradnje terbutilazina dodali vodo.

#### **3.5.2.1 Vsebnost vode pri pF 2,18**

Vsebnost vode pri matričnem potencialu pF 2,18 (=  $-0,015 \text{ MPa}$ ) je bila pri vzorcu P45 30,48 %, pri vzorcu P8 32,56 % in pri vzorcu P9+ 37,42 %. Tem svežim talnim vzorcem smo najprej izmerili vsebnost vode, ki je bila v vseh primerih manjša od optimalne. Da bi dosegli optimalno vsebnost vode za razgradnjo smo jim dodali izračunano razliko vode.

### **3.5.3 Določitev terbutilazina in razgradnih produktov**

#### **3.5.3.1 Določitev $^{14}\text{C}$ snovi**

$^{14}\text{C}$  v topilih EMME, NaOH in Carbo-Sorb E smo po mešanju z ustreznim koktajлом določili v tekočinskem scintilacijskem števcu (TriCarb, Packard, Dreieich, Nemčija).

#### **3.5.3.2 Skupen in vezani $^{14}\text{C}$ v tleh**

Skupno vsebnost radioaktivnosti v tleh in vezane ostanke terbutilazina v tleh (neekstraktibilni del) smo določili z oksidacijo 300 - 400 mg svežih vzorcev tal. Zatehtanim vzorcem tal smo dodali sladkorno raztopino. Talne vzorce smo postavili v Sample Oxidizer (Packard, Dreieich, Nemčija), kjer smo izhlapel  $^{14}\text{CO}_2$  lovili v topilu Carbo-Sorb E (Packard, Dreieich, Nemčija), kjer se je zmešal s koktajлом Permafluor (Packard, Dreieich, Nemčija). Radioaktivnost smo izmerili s tekočinskim scintilacijskim števcem.

### 3.5.3.3 Terbutilazin in razgradni produkti v tleh

#### 3.5.3.3.1 Ekstrakcija tal in čiščenje ekstrakta

Vzorce tal (23 - 27 g suhih tal) smo ekstrahirali z dvojno pospešeno ekstrakcijo (ang. *accelerated solvent extraction*) (ASE 200, Dionex, Idstein, Nemčija). Ekstrakcija je potekala v petih ciklih s 100 % metanolom, pri temperaturi 90°C in pritisku 100 bar. V ekstraktu smo pomerili  $^{14}\text{C}$  aktivnost s tekočinskim scintilacijskem števcem. Ekstrakt smo koncentrirali do volumna 5 ml na rotavaporju. Dodali smo MilliQ vodo volumna 250 ml. Sledilo je čiščenje skozi triazinske SPE (ang. *solid phase extraction*) kolone (Isolute, Triazine, Separtis, Nemčija). Kolone smo najprej aktivirani s filtriranjem 10 ml analitskega metanola, ter takoj zatem s 10 ml MilliQ vode. Triazinske kolone smo nato posušili z šibkim tokom N<sub>2</sub>, nato eluirali z 10 ml analitskega metanola. Metanol smo nato izhlapeli in dodali 50 µl acetonitrila.

#### 3.5.3.3.2 Določitev terbutilazina in njegovih razgradnih produktov

V ekstraktu smo določili terbutilazin in njegovih 7 razgradnih produktov, dietil-deizobutil-terbutilazin, hidroksi-dietil-deizobutil-terbutilazin, hidroksi-deizobutil-terbutilazin, deizobutil-terbutilazin, hidroksi-dietil-terbutilazin, dietil-terbutilazin, hidroksi-terbutilazin.

Analizo smo izvedli na High-performance liquid chromatography (HPLC) z UV/VIS detektorjem (220nm, Merck, Darmstadt, Nemčija) in radioaktivnim detektorjem LB506 C-1 (Berthold, Bad Wildbach, Nemčija), opremljenim s 150 µl YG celicami za štetje; kolona: LiChropsher 100 RP-18, 5 µm, 250x4 mm (Merck, Darmstadt, Nemčija); tok: 1 ml/min. Program HPLC je opisan v preglednici 3.

Preglednica 3: HPLC program.

Čas (minute)	Acetonitril (%)	MilliQ voda (%)
0	10	90
5	40	60
20	75	25
25	100	0
35	100	0
40	10	90
50	10	90

### **3.5.4 Statistična analiza**

Rezultate smo statistično obdelali s programom STATGRAPHIC PLUS. Naredili smo analizo variance (ANOVA). Statistično značilne razlike smo določili z LSD preizkusom mnogoterih primerjav ob 95 % zaupanju.

## 4 REZULTATI

### 4.1 BILANCA $^{14}\text{C}$ PO KONČANEM POSKUSU RAZGRADNJE TERBUTILAZINA

Po končanem poskusu razgradnje terbutilazina v tleh smo naredili bilanco med količino uporabljenega herbicida in vsemi analiziranimi  $^{14}\text{C}$  snovmi (tla,  $^{14}\text{CO}_2$  in izhlapeli ostanki herbicida) (preglednica 4). V povprečju smo določili 82 % uporabljenega  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina, razlike med obravnavanji niso bile statistično značilne. Največ  $^{14}\text{C}$  (okoli 70 %) je po 2 mesecih poskusa ostalo v tleh. Mineraliziralo je od 4,98 % do 16,14 % uporabljenе količine  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina. Količina izhlapelega terbutilazina in njegovih razgradnih produktov je bila celoten čas poskusa pod mejo detekcije (20 dpm oz. 0,33 Bq).

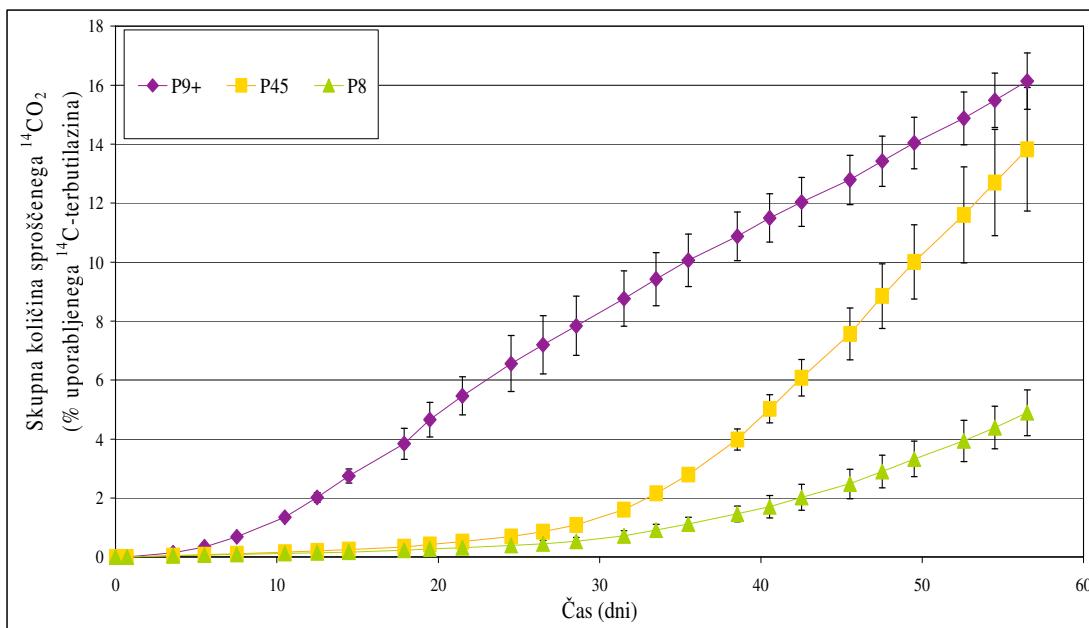
Preglednica 4: Bilanca  $^{14}\text{C}$  po končanem poskusu razgradnje terbutilazina v % glede na uporabljeno količino  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.

Talni vzorec	$^{14}\text{C}$ v talnih vzorcih	Sproščen $^{14}\text{CO}_2$	Izhlapel terbutilazin in razgradni produkti	Skupno analizirano
P45	73,76 %	13,82 %	Pod mejo detekcije	87,58 %
P8	68,26 %	4,98 %	Pod mejo detekcije	73,15 %
P9+	67,66 %	16,14 %	Pod mejo detekcije	83,80 %

### 4.2 MINERALIZACIJA TERBUTILAZINA

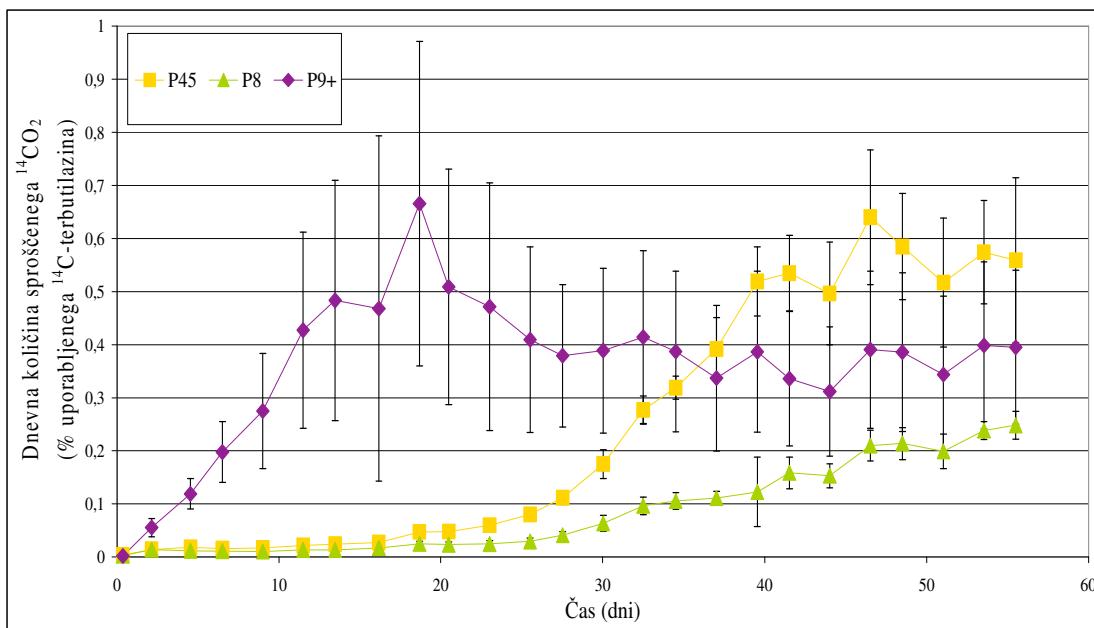
Mineralizacijska krivulja (slika 8) prikazuje skupno količino sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  med poskusom razgradnje. Statistično značilna razlika se je pokazala med teksturno različnima vzorcema P8 in P45, kjer je bila končna stopnja mineralizacije prvega, teksturno lažjega vzorca, 13,82 %, teksturno težjega vzorca pa le 4,98 %. Prav tako se statistično značilno razlikujeta teksturno podobna vzorca P8 in P9+. V vzorcu P9+, z intenzivnejšo rabo herbicida terbutilazina, je bila mineralizacija terbutilazina največja (16,14 % uporabljenega herbicida). Vzorca P45, s 13,82 % skupno mineralizacijo terbutilazina, in P9+, s 16,14 % skupno mineralizacijo, se med seboj nista značilno razlikovala.

Med mineralizacijskimi krivuljami posameznih vzorcev tal je, poleg skupne količine mineraliziranega herbicida, pomembno primerjati tudi dolžino zakasnitvene faze (*lag faze*) (slika 8). Vzorca tal, različna v teksturi, P45 in P8, sta pokazala podobno, relativno dolgo zakasnitveno fazo, skoraj mesec dni, medtem ko je pri vzorcu tal P9+, z najintenzivnejšo preteklo rabo herbicida, po zelo kratki zakasnitveni fazi sledila skoraj linearna rast skupne količine sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$ . Sklepamo lahko, da je bila mikrobna združba v teh tleh že prilagojena in dovolj velika, tako da je razgradnja potekala hitreje.



Slika 8: Skupna količina sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  med 57-dnevno inkubacijsko dobo. Prikazana so povprečja 4 ponovitev in standardna deviacija.

Dnevne količine sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  v izbranih vzorcih tal (slika 9) nam povedo, kolikšna količina  $^{14}\text{CO}_2$  se je sprostila med posameznimi točkami vzorčenja. Iz tega podatka lahko ugotovimo, kako hitro in dolgo se je dnevna količina sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  povečevala, kdaj je dosegla vrh in kdaj se je začela zmanjševati. Iz slike 9 lahko razberemo, da je vzorec tal P9+ najhitreje dosegel največjo dnevno količino sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$ , ki je nato od devetnjastega dneva inkubacije le še padala. Vzorec tal P45 je dosegel vrh pri 48 dneh, medtem ko vzorec tal P8 med 57-dnevno inkubacijo še ni dosegel vrha mineralizacije.



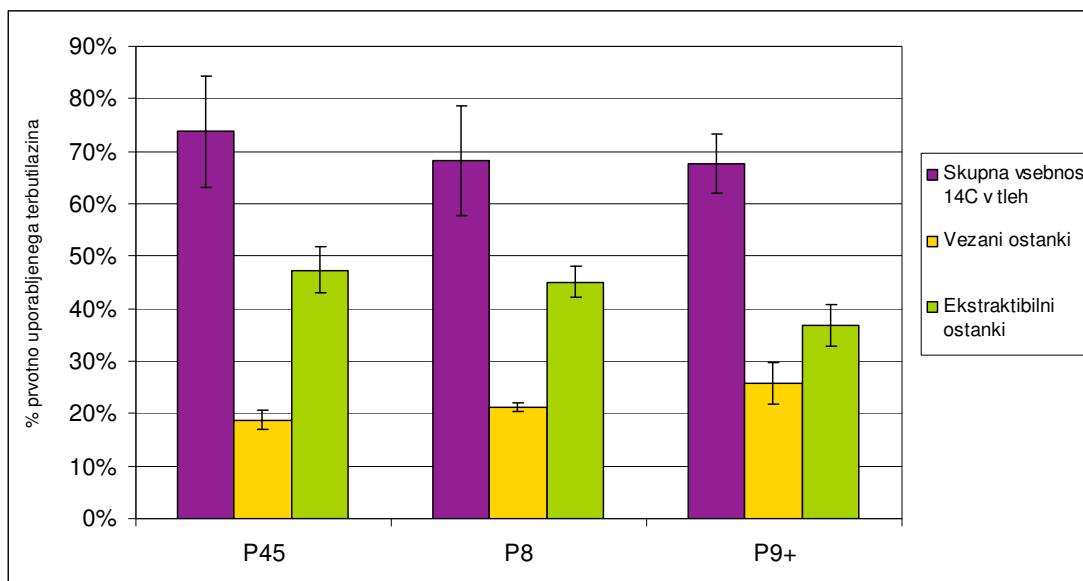
Slika 9: Dnevna količina izhlapelega  $^{14}\text{CO}_2$  med 57-dnevno inkubacijsko dobo. Prikazana so povprečja 4 ponovitev in standardna deviacija.

#### 4.3 SKUPNA VSEBNOST IN VEZANI OSTANKI $^{14}\text{C}$ V TLEH

Delež skupne vsebnosti  $^{14}\text{C}$  v tleh, delež vezanih ostankov ter ekstraktibilnih ostankov glede na prvotno uporabljeno količino  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina nam prikazuje slika 10. Izračunana so povprečja in standardni odkloni 4 ponovitev (preglednica 5). Skupna količina  $^{14}\text{C}$  v tleh se med vzorci tal ni statistično značilno razlikovala. Statistično značilne razlike prav tako ni bilo v količini vezanih ostankov in ekstraktibilnem delu med teksturno različnima vzorcema P45 in P8. Teksturno podobna vzorca, z različno intenzivnostjo uporabe terbutilazina, se med seboj statistično značilno razlikujeta v količini vezanih ostankov in količini ekstraktibilnega dela. Pri vzorcu P8 se je 21,18 % prvotno uporabljenega terbutilazina ne-ekstraktibilno vezalo v talni matriks, 45,06 % pa ga je bilo moč ekstrahirati. Vzorec tal P9+, kjer je bila raba terbutilazina intenzivnejša, je imel 25,77 % vezanih ostankov in 36,70 % ekstraktibilnega dela glede na prvotno uporabljen terbutilazin.

Preglednica 5: Delež vezanih in ekstraktibilnih ostankov ter skupne vsebnosti  $^{14}\text{C}$  v tleh glede na prvočno uporabljeno količino  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.

Talni vzorec	Skupna vsebnost	Vezani ostanki	Ekstraktibilni ostanki
P45	$73,76\% \pm 10,67\%$	$18,79\% \pm 1,79\%$	$47,31\% \pm 4,36\%$
P8	$68,26\% \pm 10,41\%$	$21,18\% \pm 0,85\%$	$45,06\% \pm 2,93\%$
P9+	$67,66\% \pm 5,74\%$	$25,77\% \pm 4,03\%$	$36,70\% \pm 3,92\%$



Slika 10: Delež vezanih in ekstraktibilnih ostankov ter skupne vsebnosti  $^{14}\text{C}$  v tleh glede na prvočno uporabljeno količino  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina.

#### 4.4 TERBUTILAZIN IN NJEGOVI RAZGRADNI PRODUKTI

V ekstraktu iz tal smo določili terbutilazin in enega izmed njegovih 7 razgradnih produktov, dietil-terbutilazin (preglednica 6). Vrednost ostalih šestih razgradnih produktov, dietil-deizobutil-terbutilazin, hidroksi-dietil-deizobutil-terbutilazin, hidroksi-deizobutil-terbutilazin, deizobutil-terbutilazin, hidroksi-dietil-terbutilazin, hidroksi-terbutilazin, je bila pod mejo detekcije. Pri tleh P8 in P9+ se je pokazal še en, neznani razgradni produkt, vendar v sledeh, zato pri končnem izračunu ni bil upoštevan.

Delež  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina je bil v ekstraktu teksturno lažjih tal (P45) statistično značilno večji kot v vzorcu P9+ (41,42 % v primerjavi z 31,94 % uporabljenega herbicida). Vzorca se razlikujeta tako v teksturi kot tudi v intenzivnosti rabe herbicida. Med vzorcema P45 in P8,

ki se razlikujeta v teksturi, ter vzorcema P8 in P9+, ki se razlikujeta v intenzivnosti rabe herbicida, pa ni statistično značilnih razlik.

Rezultati kažejo, da je bil delež razgradnega produkta dietil-terbutilazina ob koncu poskusa statistično značilno različen med vsemi obravnavanimi tlemi in je znašal med 4,76 % in 7,10 % uporabljenega  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina (preglednica 6). Največja količina dietil-terbutilazina je bila v vzorcu P8.

Preglednica 6: Delež dietil-terbutilazina in terbutilazina v ekstraktu glede na količino prvotno uporabljenega terbutilazina.

Talni vzorec	Terbutilazin	Dietil-terbutilazin
P45	41,42 % $\pm$ 4,11 % 2,02 mg/kg suhih tal	5,88 % $\pm$ 0,47 % 0,29 mg/kg suhih tal
P8	37,96 % $\pm$ 2,41 % 1,85 mg/kg suhih tal	7,10 % $\pm$ 0,55 % 0,35 mg/kg suhih tal
P9+	31,94 % $\pm$ 3,60 % 1,56 mg/kg suhih tal	4,76 % $\pm$ 0,38 % 0,23 mg/kg suhih tal

## 5 RAZPRAVA IN SKLEPI

### 5.1 RAZPRAVA

S poskusom razgradnje s  $^{14}\text{C}$  označenim herbicidom terbutilazinom smo ugotovili, da ima tekstura pomemben vpliv na hitrost razgradnje. Tla P45 z večjim deležem peska ter manjšim deležem melja in gline so po 57 dneh mineralizirala 14 % uporabljenega herbicida terbutilazina, medtem ko so tla P8 v istem inkubacijskem času mineralizirala le 5 % (preglednica 4, slika 8). Triazini so dominantno sorbirani na organsko snov tal, vendar imajo glineni minerali prav tako pomemben vpliv na sorpcijo triazinov (Laird in Koskinen, 2008). Delež organske snovi je v naših vzorcih podoben (1,9 - 2,1 %), prav tako pH (4,5 - 5,3), zato je lahko primerjava hitrosti razgradnje med teksturno različnimi tlemi mogoča (preglednica 2). Podobne primerjave zasledimo v nekaterih študijah, v katerih so ugotovili pomemben vpliv količine glinene frakcije na vezavo atrazina (Laird in sod., 1994). Glinena frakcija vpliva na vezavo FFS in na količino oblikovanih vezanih ostankov, kar potrjujejo tudi naši rezultati. V tleh z manjšim deležem gline (P45) je bil nastanek vezanih ostankov značilno manjši (19 % uporabljenega terbutilazina) kot v teksturno težjih tleh (P8 z 21 % in P9+ z 26 % vezanih ostankov) (preglednica 5, slika 10). Velik delež glinenih mineralov zaradi njihove majhnosti pomeni tudi večji delež mikropor, ki imajo veliko specifično površino in dobro zadržujejo tekočine, ione, hranila ter FFS. Lažja tla pa imajo veliko makropor, slabše vežejo tekočine in raztopljene snovi, kar pomeni: (i) večjo biološko dostopnost FFS in s tem hitrejšo razgradnjo, (ii) večji prenos FFS z gibanjem vode (Sorenson in sod., 1993, 1994, 1995; Laird in Koskinen, 2008).

Uspeli smo dokazati tudi drugo domnevo, da večkratna uporaba terbutilazina na isti površini povzroči prilagoditev mikroorganizmov, kar se je v naši študiji pokazalo s krajšo zakasnitveno fazo mineralizacije terbutilazina v vzorcu tal P9+ v primerjavi z drugima dvema vzorcema tal (sliki 8 in 9). Podobni rezultati raziskav so prikazani v študiji Barriuso in Houot, 1996. Na poljih z različnim kolobarjem in s podobnimi lastnostmi tal sta ugotovila takojšen začetek mineralizacije atrazina na polju pod monokulturo koruze, kjer je bil uporabljen atrazin vsako leto. O nizki stopnji mineralizacije na poljih, kjer ni bilo predhodne uporabe atrazina, poroča tudi Vanderheyden s sodelavci, 1997. Sposobnost hitre in takojšnje mineralizacije se lahko ohrani tudi do 15 let (Horswell in sod., 1997).

Zanimivo je, da se v naši študiji skupna mineralizacija terbutilazina ob koncu poskusa med vzorcema P9+ in P45 kljub precejšnji razliki v zakasnitveni fazi ni značilno razlikovala, kar kaže na relativno hitro prilagoditev mikrobne združbe na terbutilazin v tleh P45. Ker mikrobne biomase v času poskusa nismo določali, sta možni dve razlagi: (i) v primeru, da je razgradnja terbutilazina potekala na kometaboličen način, lahko sklepamo, da so se mikroorganizmi v tleh P45 prilagodili na potencialno toksičen terbutilazin in so bili po zakasnitveni fazi (po pribl. 1 mesecu) normalno aktivni naprej; (ii) v primeru, da je razgradnja terbutilazina potekala metabolično, pa je prišlo do prilagoditve in namnožitve

mikroorganizmov, ki so terbutilazin uporabili kot substrat za rast. Ta rezultat kaže na ključen pomen mikrobnih združb pri razgradnji terbutilazina v tleh.

Ugotovili smo, da je bil glavni razgradni produkt terbutilazina v vseh preučevanih vzorcih dietil-terbutilazin (preglednica 6), ki je pogosto tudi edini razgradni produkt, kar poročajo tudi druge študije (Gerstel in sod., 1997; Langenbach in sod., 2001). Langenbach in sodelavci so določili še de-ter-izobutil-terbutilazin, in sicer eno leto po uporabi herbicida (Langenbach in sod., 2001). Pojavlja se lahko tudi neidentificirani razgradni produkti, o katerih poročata tudi obe zgoraj omenjeni študiji.

Intenzivno kmetijstvo, velik delež obdelovalnih površin in nizka podtalnica so glavni krivci za zaznavanje FFS v podtalnici Apaške doline (Poročilo o kakovosti..., 2004b). Najbolj pogosto je izpostavljen atrazin, ki je bil popolnoma prepovedan že leta 2003 (Koprivnikar Bobek, 2009). Kljub temu ga v Apaški dolini še vedno zaznamo. Po prepovedi uporabe atrazina se je na koruznih poljih Apaške doline začel intenzivneje uporabljati herbicid terbutilazin, ki prav tako spada v skupino triazinskih herbicidov in ima podobne lastnosti kot atrazin. Terbutilazin zelo dobro zatira širokolistne plevele, vendar je manj učinkovit na nekaterih plevelih in ob določenih vremenskih pogojih. Terbutilazin, v primerjavi z atrazinom, uporabljam v nižjih koncentracijah in samo na kmetijskih površinah, kar po predvidevanjih zmanjšuje možnost pojavljanja sredstva v podtalnici. Vendarle se je terbutilazin že pojavil v podtalnici Apaške doline leta 2005 (Poročilo o kakovosti, 2007).

Po kriterijih uredbe (Uredba ..., 1996) so v Sloveniji določene mejne vrednosti za atrazin v talnih vzorcih. Zaradi kemijske podobnosti atrazina in terbutilazina smo primerjali vsebnosti terbutilazina z normativnimi vrednostmi atrazina v tleh. Primerjava vsebnosti terbutilazina v talnih vzorcih ob koncu poskusa je pokazala, da le te ne presegajo opozorilne vrednosti 3 mg/kg suhih tal (preglednica 6). Vsebnosti terbutilazina v tleh 2 meseca po uporabi so bile od 1,85 (P9+) do 2,02 mg/kg suhih tal (P45). Vsebnosti razgradnega produkta, dietil-terbutilazina, so med 0,23 mg/kg suhih tal pri vzorcu P9+ in 0,34 mg/kg suhih tal pri vzorcu P8. Mejna vrednost, 0,01 mg/kg suhih tal (Uredba ..., 1996), je prekoračena v vseh primerih, vendar so rezultati precej pod opozorilno vrednostjo, ki je 3 mg/kg suhih tal. Ker je mobilnost atrazina podobna mobilnosti dietil-terbutilazina in je le malo večja od mobilnosti terbutilazina (Doerfler in sod., 1997), pojavljanje terbutilazina in njegovih razgradnih produktov v podtalnici ni presenečenje.

## 5.2 SKLEPI

Na razgradnjo terbutilazina vplivajo klimatske in talne razmere, med katerimi sta ključna delež organske snovi in tekstura tal. V nalogi smo se osredotočili na vpliv tekture, zato smo izbrali tla s podobnim deležem organske snovi. Rezultati kažejo, da je tekstura tal vplivala na hitrost razgradnje terbutilazina v obravnavanih tleh. Skupna mineralizacija

herbicida je bila v teksturno lažjih tleh (P45) značilno večja od teksturno težjih tal (P8), in sicer je 13,82 % v P45 in le 4,98 % v P8 po 2 mesecih inkubacije. Menimo, da je vzrok večja adsorpcija terbutilazina na talne koloide v teksturno težjih tleh. Našo domnevo potrjuje večji delež oblikovanih vezanih ostankov v teh tleh.

S poskusom smo dokazali tudi pomemben vpliv večkratne zaporedne uporabe herbicida terbutilazina na hitrost razgradnje. V teksturno težjih tleh, z večkratno predhodno uporabo triazinskih pripravkov (P9+), je bil začetek mineralizacije značilno večji in je dosegel najvišjo količino dnevno sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  že po devetnajstih dneh ter tudi skupno količino mineraliziranega terbutilazina v obdobju dveh mesecev po nanosu. Takožen začetek mineralizacije je najverjetneje posledica dovolj velike biomase mikroorganizmov, ki so prilagojeni na triazinske herbicide v tleh.

## 6 POVZETEK

Razgradnja je eden izmed najbolj zaželenih procesov v usodi FFS, saj zmanjšuje količino ostankov FFS v tleh. Na razgradnjo FFS vplivajo lastnosti tal, lastnosti FFS in klimatski dejavniki. Med lastnostmi tal imajo pomembno vlogo količina organske snovi, tekstura, pH ter mikrobna aktivnost.

Preučili smo vpliv tekture in vpliv predhodne večkratne uporabe herbicida terbutilazina na hitrost razgradnje v izbranih tleh Apaške doline. Izbrali smo 2 vzorca tal P8 (8 % peska, 73 % melja, 20 % gline, 2,1 % organske snovi, pH 5,1) in P45 (45 % peska, 44 % melja, 11 % gline, 1,9 % organske snovi, pH 4,5), ki se med seboj razlikujeta v teksturi, ostale talne lastnosti pa imata podobne. Za primerjavo smo izbrali še tretja tla, P9+ (9 % peska, 65 % melja, 27 % gline, 2,1 % organske snovi, pH 5,3), ki se od vzorca P8, razlikujejo predvsem v intenzivnosti rabe terbutilazina.

Izvedli smo laboratorijski poskus razgradnje terbutilazina, označenega z izotopom  $^{14}\text{C}$ , kjer smo 3x na teden direktno merili proces izhlapevanja  $^{14}\text{C}$  komponent vključno s  $^{14}\text{CO}_2$ , ki se je sprostil po mineralizaciji  $^{14}\text{C}$ -terbutilazina. Na koncu poskusa smo določili skupno vsebnost  $^{14}\text{C}$  v talnih vzorcih in tudi količino vezanih ostankov. Kvantitativno in kvalitativno smo v ekstraktu določili vsebnost terbutilazina in njegovih razgradnih produktov.

Namen poskusa razgradnje terbutilazina je bila potrditev domneve, da igra velikost talnih delcev, tekstura, pomembno vlogo pri hitrosti razgradnje terbutilazina v tleh. Predvidevali smo, da večji delci, kot je pesek, zaradi manjše specifične površine, slabše vežejo ostanke FFS. Ostanki FFS, ki niso vezani, so dosegljivi talnim mikroorganizmom in tako podvrženi hitrejši razgradnji. V takšnih tleh pričakujemo tudi manjši delež vezanih ostankov. Naši rezultati potrjujejo domnevo, saj je bila skupna mineralizacija herbicida v teksturno lažjih tleh (P45) značilno večja od teksturno težjih tal (P8), in sicer je 13,82 % v P45 in le 4,98 % v P8 po 2 mesecih inkubacije. Količina vezanih ostankov je bila manjša v teksturno lažjih tleh P45, 18,79 % glede na prvotno nanešeno količino terbutilazina. V vzorcu P45 je bilo 21,18 % vezanih ostankov, vendar se ti vrednosti med seboj nista značilno razlikovali. Prav tako ni bilo značilne razlike v količini  $^{14}\text{C}$  v ekstraktu (47,31 % za P45 in 45,06 % za P8).

Predvidevali smo tudi, da se ob večkratni uporabi herbicida terbutilazina na isti površini, talni mikroorganizmi prilagodijo tej tuji substanci, kar se kaže v hitrejšem začetku razgradnje. Da bi lahko dokazali to trditev, smo imeli 2 vzorca, ki sta imela podobne talne lastnosti, vendar so se razlikovala v intenzivnosti uporabe terbutilazina. Vzorec z večkratno uporabo terbutilazina P9+ (9 % peska) se je v skupni mineralizaciji značilno razlikoval od teksturno podobnega vzorca P8 (8 % peska), kjer je bila uporaba terbutilazina manj intenzivna. Vzorec P9+ je dosegel največjo (16,14 % uporabljenega herbicida) in tudi takojšnjo mineralizacijo terbutilazina, z najkrajšo zakasnitveno fazo. Zanimivo je tudi

omeniti, da je vzorec P9+ dosegel največjo dnevno količino sproščenega  $^{14}\text{CO}_2$  pri devetnjistem dnevu inkubacije, vzorec P8 pa v času dvo-mesečne inkubacije še ni dosegel najvišje vrednosti dnevno sproščene količine  $^{14}\text{CO}_2$ .

Količina  $^{14}\text{C}$  v ekstraktu vzorca P9+ (36,70 % uporabljenega terbutilazina) je značilno manjša kot v vzorcih P8 (45,06 %) in P45 (47,31%). V ekstraktu smo določili vsebnost terbutilazina in njegovega glavnega razgradnega produkta, dietil-terbutilazina. Dobljene vrednosti za terbutilazin in dietil-terbutilazin smo preračunali tudi v mg/kg suhih tal. Vrednosti za terbutilazin so se gibale med 2,02 mg/kg suhih tal za vzorec P45 (41,42 % uporabljenega terbutilazina) in 1,56 mg/kg suhih tal za vzorec P9+ (31,94 %). Vsebnost dietil-terbutilazina je znašala med 0,23 in 0,35 mg/kg suhih tal (oz. 4,76 % in 7,10 % uporabljenega terbutilazina), največja vsebnost je bila pri vzorcu P8. Vzorci so se med seboj značilno razlikovali. Vrednosti smo primerjali z mejnimi, opozorilnimi in kritičnimi vrednostmi. Ugotovili smo, da vse vrednosti presegajo mejno vrednosti, vendar so pod opozorilno vrednostjo.

## 7 VIRI

- Arias-Estevez M., Lopez-Periago E., Martinez-Carballo E., Simal-Gandara J., Mejuto J-C., Garcia-Rio L. 2008. Agriculture, Ecosystems and Environment, 123: 247-260
- Audsley A., Albert S., Clif R., Cowell P., Gaillard G., Hausheer J., Jollet O., Kleijn R., Mortensen B., Pearce D., Roger E., Teulon H., Weidema B., van Zeijts H. 1997. Harmonization of environmental life cycle assessment for agriculture. Final Report For Concerted Action AIR3-CT94-2028. Silsoe, UK, Silsoe Research Institute: 103 str.
- Avery D. T. 2008. Foreword. V: The Triazine Herbicides. 50 Years Revolutionizing Agriculture. LeBaron H. M., McFarland J. E., Burnside O. C. (ed.). U.S.A., Elsevier: 584 str.
- Barriuso E. in Houot S. 1996. Rapid mineralization of the s-triazine ring of atrazine in soil in relation to soil management. Soil Biology and Biotechnology, 28: 1341-1348
- Barriuso E., Hout S., SerraWittling C. 1997. Influence of compost addition to soil on behaviour of herbicides. Pesticide Science, 49: 65-75
- Bollag J. M., Myers C. J., Minard R. D. 1992. Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. The Science of Total Environment, 123/124: 205-217
- Brady N. C., Weil R. R. 1999. The nature and properties of soil. New Jersey, Steward C. (Ed.): 881 str.
- Celar F. 2006. Fitofarmacevtska sredstva: fungicide in herbicide: študijsko gradivo za področje varstva rastlin. Ljubljana. Univerza v Ljubljani. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: CD-ROM
- »CPVO. Center za pedologijo in varstvo okolja: Raziskave na območju Apaške doline". 2009. Ljubljana, Biotehniška fakulteta (Izpis iz baze podatkov).
- Cruz-Guzman M., Celis R., Hermonis M. C., Cornejo J. 2004. Adsorption of herbicide simazine by montmorillonite modified with natural organic cations. Environmental Science and Technology, 38: 180–186
- Doerfler U., Feicht E. A., Scheunert I. 1997. S-triazine residues in groundwater. Chemosphere, 35, 1/2: 99-106

Eurostat, 2009

[http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY\\_OFFPUB/KS-76-06-669/EN/KS-76-06-669-EN.PDF](http://epp.eurostat.ec.europa.eu/cache/ITY_OFFPUB/KS-76-06-669/EN/KS-76-06-669-EN.PDF)

Fito info 2008. Biotehniška fakulteta.

<http://spletni2.furs.gov.si/FFS/REGSR/index.htm> (25.9.2008)

Footprint-PPDB 2009. Functional Tools for Pesticide Risk Assessment and management.  
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/en/index.htm> (22.5.2009)

Gaveo B., Semple K. T., Joes K. C. 2000. Bound pesticide residue in soils: a review.  
Environmental Pollution, 108: 3–14

Gerstl Z., Sluszny C., Alayof A., Graber E. R. 1997. The fate of terbuthylazine in test microcosm. Science of Total Environment, 196:119-129

Guo L., Jury W. A., Wagenet R. J., Flury M. 2000. Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. Journal of Contaminant Hydrology, 43,1: 45–62

Heri W., Pfister F., Carroll B., Parshley T., Nabors J. B. 2008. Production, Development and Registration of Triazine Herbicides. V: The Triazine Herbicides. 50 Years Revolutionizing Agriculture. LeBaron H. M., McFarland J. E., Burnside O. C. (ed.). U.S.A., Elsevier: 31-45

Hernandez-Soriano M. C., Mingorance M.D., Pena A. 2007. Interaction of pesticides with a surfactant-modified soil interface: Effect of soil properties. Colloids and Surfaces, 306: 49-55

Horswell J., Hodge A., Killham K. 1997. Influence of plant carbon on the mineralization of atrazine residues in soils. Chemosphere, 34: 1739-1751

ISO 13878. 1995. Soil quality-Determination of total nitrogen content after dry combustion (incineration at 900°C in the CN analyzer and defining with the TCD detector)

Janitzky P. 1986. Particle-size analysis. V: Field and laboratory procedures in a soil chronosequence study. Singer M. J., Janitzky P. (eds.). U.S. (Geological Survey Bulletin, 1684): 11-16

»Delež posamičnih kultur v Apaški dolini« 2008. Murska Sobota. Kmetijsko-gozdarska zbornica Slovenije Zavod Murska Sobota (osebni vir).

Khan S. U. 1982. Bound residues in soil and plants. Residue Reviews, 84: 1-25

- Klotz D., Doerfler U., Scheunert I. 1997. Transport and transformation of <sup>14</sup>C-terbuthylazine in subsurface gravel under saturated and unsaturated water flowing conditions. *Chemosphere*, 35: 87-98
- Koprivnikar Bobek M., 2009. »Popolna prepoved atrazina«. Ljubljana. Fitosanitarna uprava Republike Slovenije (osebna komunikacija).
- Koskinen C. W., Banks P. A. 2008. Soil Movement and Persistence of Triazine Herbicides. V: The Triazine Herbicides. 50 Years Revolutionizing Agriculture. LeBaron H. M., McFarland J. E., Burnside O. C. (ed.). U.S.A., Elsevier: 355-385
- Laird D. A., Yen P. Y., Koskinen W. C. Steinheimer T. R., Dowdy R. H. 1994. Sorption of atrazine on soil clay components. *Environmental Science and Technology*, 28: 1054-1061
- Laird D. A. in Koskinen W. C. 2008. Triazine Soil Interactions. V: The Triazine Herbicides. 50 Years Revolutionizing Agriculture. LeBaron H. M., McFarland J. E., Burnside O. C. (ed.). U.S.A., Elsevier: 275-301
- Langenbach T., Schroll R., Scheunert I. 2001. Fate of the <sup>14</sup>C-terbuthylazine in Brazilian soil under various climate conditions. *Chemosphere*, 45: 387-398
- Maček J., Kač M. 1990. Kemična sredstva za varstvo rastlin. Knjižica za pospeševanje kmetijstva. Ljubljana, ČZP Kmečki glas: 500 str.
- Milevoj L. 2007. Kmetijska entomologija (splošni del). Ljubljana, Univerza v Ljubljani. Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 182 str.
- Montoya J.C., Costa J.L., Liedl R., Bedmar F., Daniel P. 2006. Effects of soil type and tillage practice on atrazine transport through intact soil cores. *Geoderma*, 137: 161-173
- Park J. H., Feng Y. C., Ji P. S., Voice T. C., Boyd S. A. 2003. Assessment of bioavailability of soil – sorbed atrazine. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 3288–3298
- Park J. H., Feng Y. C., Cho S. Y., Voice T. C., Boyd S. A. 2004. Sorbed atrazine shifts into non-desorbable sites of soil organic matter during aging. *Water Research*, 38: 3881–3892
- Pintar M., Mihelič R., Pikl M., Lobnik F., 1996. Monitoring onesnaženosti podtalnice in površinskih vod z nitrati in atrazinom v Apaški dolini. V: Novi izzivi v poljedelstvu 1996. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo: 105-109

Poročilo o kakovosti podzemne vode aluvialnih vodonosnikov v letih 2001 in 2002. 2004a.  
Ljubljana, Agencija republike Slovenije za okolje: 25 str.

Poročilo o kakovosti podzemne vode aluvialnih vodonosnikov v letu 2003. 2004b.  
Ljubljana, Agencija republike Slovenije za okolje: 31 str.

Poročilo o kakovosti podzemne vode v letih 2004 in 2005. 2007. Ljubljana, Agencija  
republike Slovenije za okolje: 271 str.

Reid B.J., Jones K.C., Semple K.T. 2000. Bioavailability of persistent organic pollutants in  
soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment.  
Environmental Pollution, 108: 103-112

Rowel D. L. 1994. Soil science: Methods and applications. Longman Group Limited: 350  
str.

Sadeghi A. M., Isensee A. R., Shirmohammadi A. 2000. Influence of soil texture and  
tillage on herbicide transport. Chemosphere, 41: 1327-1332

Scheunert I. 1992a. Physical and physico-chemical processes governing the residue  
behavior of pesticides in terrestrial ecosystems. V: Chemistry of plant protection-  
terrestrial behavior of pesticides. Ebing W. (ed.). Berlin, Springer-Verlag: 1-23

Scheunert I. 1992b. Transformation and degradation of pesticides in soil. V: Chemistry of  
plant protection-terrestrial behavior of pesticides. Ebing W. (ed.). Berlin, Springer-  
Verlag: 23-75

Schroll R., Becher H. H., Doerfler U., Gayler S., Grundmann S., Hartman H. P., Ruoss J.  
2006. Quantifying the effect of soil moisture on the aerobical microbial  
mineralization of selected pesticides in different soils. Environmental Science and  
Technology, 40: 3505-3321

SIST ISO 10390. Kakovost tal-Ugotavljanje pH. 2005: 5 str.

SIST ISO 14235. 1999. Kakovost tal-Določanje organskega ogljika z oksidacijo v  
kromžvepljeni kislini (modificirano po Walkley-Black-u): 5 str.

Soil survey laboratory methods manual. 1992. United states department of agriculture. Soil  
Conservation service, National Soil Survey Center: 400 str.

Soil survey manual. Handbook No. 18. 1993. Soil survey division staff. United states  
Department of Agriculture.: 139-143

- Sorenson B. A., Wyse D. L., Koskinen W. C., Buhler D. D., Lueschen W. E., Jorgenson M. D. 1993. Formation and movement of  $^{14}\text{C}$ -atrazine degradation products in a sandy loam soil under field conditions. *Weed Science*, 41: 239-245
- Sorenson B. A., Koskinen W. C., Buhler D. D., Wyse D. L., Lueschen W. E., Jorgenson M. D. 1994. Formation and movement of  $^{14}\text{C}$ -atrazine degradation products in a clay loam soil under field conditions. *Weed Science*, 42: 618-624
- Sorenson B. A., Koskinen W. C., Buhler D. D., Wyse D. L., Lueschen W. E., Jorgenson M. D. 1995. Fate of  $^{14}\text{C}$ -atrazine in a silt loam soil under field conditions. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 61: 1-10
- Suhadolc M. 2003. The fate of herbicide isoproturon in soils contaminated with lead, zinc and cadmium. Doctoral dissertation. Ljubljana. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 104 str.
- Suhadolc M. 2007. Sledenje fitofarmacevtskih sredstev v sistemu tla voda. V: Pomen mikrobiologije in biotehnologije za prihodnost. Raspored P. (Ur.). Ljubljana, Biotehniška fakulteta: 74-80
- Topolovec A. 2008. »Uporaba zemljišč in podnebne razmere v Apaški dolini«. Gornja Radgona, kmetijska svetovalna služba (osebna komunikacija).
- Topolovec A. 2009 »Kolobar izbranih zemljišč v Apaški dolini«. Gornja Radgona, kmetijska svetovalna služba (osebna komunikacija).
- Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh. Ur. 1. RS št. 68/96
- Van Es H. M. 1990. Pesticide management for water quality. Principles and practice. Department of soil, crop and atmospheric sciences. Extension series no.1. Cornell University, Trautmann N. M. (ed.): 17 str.
- Vanderheyden V., Debongnie P., Pussemier L. 1997. Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil materials. *Pesticide Science*, 49: 237-242
- Verbič T., Horvat A. 2006. Kvartana geologija Apaške doline. V: Razprave 4. Razred SAZU. Ljubljana, SAZU: 133-156
- Wacket L. P., Sadowsky M. J., Martinez B., Shapir N. 2002. Biodegradation of atrazine and related triazine compounds: from enzyme to field studies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 58: 39–45

## ZAHVALA

Najlepše bi se rada zahvalila mentorju prof. dr. Francu Lobniku in somentorici doc. dr. Marjetki Suhadolc, da sta mi razširila obzorja, pokazala nove poti me spodbujala pri pisanju diplomske naloge ter navdušila za znanstveno delo. Zahvalila bi se vama rada tudi za vso pomoč pri izpeljavi poskusa, za vse diskusije med opravljanjem poskusa in da sta mi omogočila opravljanje poskusa v Nemčiji.

Zahvalila bi se rada tudi celotnemu kolektivu Centra za pedologijo in varstvo okolja za pomoč, podporo in prijetno preživet čas. Posebno sem hvaležna Janiju in Viliju za pomoč pri vzorčenju v Apaški dolini in Andreji, Nadki, Svetlani in Zalki za standardno pedološko analizo vzorcev.

Najlepša hvala tudi kolegom na katedri za Urejanje kmetijskega prostora in Agrohidrologijo za opravljene pF analize.

Zahvalila bi se rada tudi skupini za Talno ekologijo nemškega Helmholtz Zentra München. Posebne zahvale gredo vodji skupine dr. Reinerju Schrollu, in kolegom dr. Ulrike Dörfler, Fredricku Kengara, Rolandu Fušu, Angeliki Krug ter Jani Arthofer. Bastiju Herrmannu, Cristophu Maierju in Ester Waheo se zahvaljujem za vso tehnično pomoč. Vsem se najlepše zahvaljujem za vso podporo in pomoč pri izvedbi poskusa in seveda za prijetno preživet čas.

Dragi sošolci, Ana, Mojca, Miha in Primož. Najlepša hvala za vso podporo in predvsem druženje med študijem. Prav tako se zahvaljujem tudi Alenki in Gregu za popestritev druženja.

Seveda se moram zahvaliti tudi ostalim prijateljem, ki niso sošolci. Hvala, da ste moji prijatelji.

In še za konec, najpomembnejše. Najlepša hvala domačim, da ste mi vedno stali ob strani, me spodbujali in vzdrževali.

HVALA!