



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ



Биомониторинг микропластике у пољопривредном земљишту

Докторска дисертација

Ментор:

Кандидат:

Проф. др Војислава Бурсић

Милица Балаш, мастер инж.пољ.

Проф. др Александра Петровић

Нови Сад, 2024. године

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Милица Балаш
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	др Војислава Бурсић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду др Александра Петровић, ванредни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Биомониторинг микропластике у пољопривредном земљишту
Језик публикације (писмо):	Српски (ћирилица)
Физички опис рада:	Унети број: Страница: 99 Поглавља: 7 Референци: 214 Табела: 13 Слика: 11 Графикона: 1 Шема: 1

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Научна област:	Биотехничке науке
Ужа научна област (научна дисциплина):	Фитофармација
Кључне речи / предметна одредница:	микропластика, <i>Eisenia fetida</i> , биомонитроинг, сунцокрет, уљана репица, оксидативни стрес, микроорганизми
Резиме на језику рада:	<p>Широка и интензивна примена пластике и њених производа резултирала је глобалном еколошком контаминацијом пластичног отпада. Пластични производи великих димензија могу се разложити на мање фрагменте, односно у микропластику (<5 mm), што је изазвало све већу забринутост опште јавности и научних заједница широм света. До недавно, већина истраживања микропластике у литератури се тицала водене средине, посебно морске, док информације о контаминацији микропластиком у копненим системима и земљиштима су крајње недовољне. Остаци пластике су постали озбиљан еколошки проблем у областима где је интензивна пољопривредна производња. Иако су урађене бројне студије како би се проценио њен утицај на квалитет земљишта и приносе усева, резултати који су објављени су још увек ограничени. Циљ истраживања је да се испрати штетан утицај фрагмената микропластике у зависности од типа земљишта, као и да се истражи њихов утицај на раст и развој биљака и морталитет и репродукцију глиста <i>Esenia Fetida</i>.</p> <p>Добијени резултати ће нам помоћи да одредимо у којем степену микропластика штетно делује на копнени екосистем, као и на живи свет у њему и на основу тога скренути пажњу и умањити њихову примену колико год је то могуће. Земљиште је узорковано са два локалитета, Торак и Суботица, са дубине до 30 cm. Вода је узоркована са места на којем ће се огледи одржавати и такав узорак у количини од 1l послат је на анализу на Природно математичком факултету. Пластика је узета са локалитета Будисава, на пољопривредном земљишту где се примењивала малч фолија. Цак минералног ђубрива и пестицида су узети такође са пољопривредног земљишта у Банату.</p> <p>Према добијеним резултатима, микропластика је утицала негативно како на биљке и глисте, тако и на микроорганизме.</p> <p>Узорак земљишта са локације „Торак“ карактерише висок проценат глине (33,04%) и ситног песка (35,50%), што указује на глиновиту иловачу са лошом дренажом и задржавањем микропластичних честица. Насупрот томе, узорак са локације „Суботица“ садржи висок проценат ситног песка (56,25%) и крупног песка (36,43%), што указује на песковиту иловачу са бољом дренажом, али мањом способношћу задржавања воде и хранљивих</p>

материја. Разлике у текстури земљишта утичу на њихову обраду и управљање, са специфичним предностима и изазовима у пољопривреди. Оба узорка земљишта су слабо алкална до алкална са рН вредностима од 7,27 до 8,33. Узорци се разликују у садржају органске материје: узорак „Торак“ има 3,11% хумуса, док узорак „Суботица“ има 5,15%. Садржај фосфора је сличан у оба узорка (18,66 до 18,25 mg/100 g), а садржај карбоната варира од 2,27% („Суботица“) до 10,66% („Торак“). Укупни азот је висок у оба узорка (0,213-0,332%), док је калијум врло висок у узорку „Торак“ (42,69%) и висок у узорку „Суботица“ (31,74%). ФТИР спектри показују карактеристичне траке за ПЕ на 2914, 2847, 1470 и 718 cm^{-1} . За ПЕТ у узорцима цака ђубрива идентификоване су траке на 2956, 1713, 1409, 1238, 1091 и 1016 cm^{-1} . У спектру амбалаже пестицида, карактеристичне траке за тифенсулфурон-метил налазе се на 2921,54, 2852,31, 1743,72, 1458,37, 1357,70, 1268,27, 1160,58 и 716 cm^{-1} . Спектри добијени за узорке цака ђубрива и амбалаже пестицида из локалитета Торак и Суботица не указују на структурне промене током експеримента, што је потврђено присуством истих карактеристичних трака у свим узорцима. ФТИР спектар анализе малч фолије показује карактеристичне траке за ПЕ на 2914, 2847, 1470 и 718 cm^{-1} . Поред ових, уочене су додатне траке на 3000-3600 cm^{-1} и око 1000 cm^{-1} у свим узорцима микропластике. Специфичне траке на 2914 и 2847 cm^{-1} указују на присуство симетричних и асиметричних вибрација С–Н функционалне групе. Према литератури, са временом експеримента интензитет трака на 2914 и 2847 cm^{-1} опада, док интензитет трака на 3000-3600 cm^{-1} и око 1000 cm^{-1} расте, што указује на прогресивну деградацију ПЕ.

Узорак земљишта „Торак“ показује бољи раст сунцокрета у присуству глиста, са највећом дужином стабла (42,98 cm) и ниском свежеом масом корена (0,5 g) у присуству јувенилних глиста. Присуство микропластике (МП) значајно инхибира раст и акумулацију биомасе у биљкама. Контролне групе без глиста и МП, као и третмани са адултним јединкама глиста, показују најбоље резултате у свежој и сувој маси корена и стабла. Уљана репица показује бољи раст у присуству глиста, а најлошије резултате у присуству МП, са најмањом дужином корена (3,94 cm) и најнижом свежеом масом корена (0,36 g) када су присутне адултне глисте и МП. Ови резултати указују на негативне ефекте МП на физиолошке карактеристике тестираних биљака. Такође, резултати показују да није било значајних разлика у садржају укупних фенола, танина и флавоноида, као ни у антиоксидативном капацитету између контролне и третиране групе. Ово указује да третман није имао значајан утицај на мерење ових параметара у сувом биљном материјалу.

У експерименту је једино повећање биомасе (37,98%) забележено код адултних јединки *E. fetida* у саксијама са сунцокретом и земљом са локације Торак без присуства МП. Висок губитак биомасе је уочен у третманима са МП: у присуству уљане репице (57,24%) и сунцокрета (40,79%), као и без биљака (53,00%). Код јувенилних стадијума, најмањи губитак биомасе (0,74%) је забележен у присуству сунцокрета, док је највећи губитак био у присуству МП и уљане репице (96,47%). Највиши проценат морталитета адултних јединки (53,33%) констатован је у присуству МП без биљака, док су у третманима са сунцокретом све јединке преживеле. Јувенилне јединке су имале највиши проценат морталитета (46,64%) у присуству МП, а најнижи (13,35%) у саксијама са сунцокретом. Статистички значајне разлике су утврђене за утицај врсте земљишта, присуства МП, времена оцене огледа и стадијума развића глиста на промену биомасе и проценат морталитета ($p < 0,01$), док утицај врсте биљке није био значајан. Такође, активност каталазе (КАТ) у глистама је највећа при концентрацији од 0,5% МП у узорцима без биљака (257,748 mg GAE g⁻¹), уљане репице (253,399 mg GAE g⁻¹), и сунцокрета (243,034 mg GAE g⁻¹). Најниже вредности КАТ су забележене при 1,0% МП (190,095 mg GAE g⁻¹ за узорке без биљака и 180,866 mg GAE g⁻¹ за уљану репицу) и при 1,5% МП за сунцокрет (188,049 mg GAE g⁻¹). Активност супероксид дисмутазе (СОД) је највећа при 0,5% МП у узорцима без биљака (47,418 mg GAE g⁻¹), уљане репице (54,834 mg GAE g⁻¹), и сунцокрета (49,925 mg GAE g⁻¹). Активност пероксидазе (ПОД) је била стабилна, са највећим вредностима при 0,5% МП код сунцокрета (4,216 mg GAE g⁻¹) и уљане репице (4,464 mg GAE g⁻¹). Липидна пероксидација (ЛПП) је показала повећање у присуству МП, са највећим вредностима при 1% МП у сунцокрету (28,284 nmol MDA g⁻¹) и уљаној репици (26,322 nmol MDA g⁻¹), док су вредности без биљака варирале од 20,759 до 24,851 nmol MDA g⁻¹.

Према резултатима АНОВА теста и Данкановог теста, узорци су класификовани у три групе. Група 'а' са највишом бројношћу бактерија (232,5 милиона CFU ml⁻¹) укључује узорке са локације Торак без сунцокрета, уљане репице и МП. Група 'б' укључује узорке са локације Торак са сунцокретом (104,5 милиона CFU ml⁻¹) или МП (102 милиона CFU ml⁻¹). Група 'в' укључује узорке са локације Суботица са сунцокретом (26,5 милиона CFU ml⁻¹) или МП (4 милиона CFU ml⁻¹). Разноврсност микробиома, мерена Shannonovom ентропијом, није показала статистички значајне разлике међу анализираним групама. Синтеза флуоресцеина је успешна у киселој средини са фталатним анхидридом, док је у алкалним условима није примећена. Микробне заједнице у оригиналним узорцима

	земљишта су најбројније: Actinobacteria (11,02%), Proteobacteria (12,18%) и Latescibacteria (9,06%). Разградња фталата није показала значајну разлику након 28 дана.
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	08.12.2023.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	<p>Председник: др Соња Гвозденац, виши научни сарадник, Институт за ратарство и повртарство, Нови Сад</p> <hr/> <p>Ментор: др Војислава Бурсић, редовни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду</p> <hr/> <p>Ментор: др Александра Петровић, ванредни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду</p> <hr/> <p>Члан: др Александра Тубић, редовни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду</p> <hr/> <p>Члан: др Дејан Првуловић, ванредни професор, Пољопривредни факултет, Универзитет у Новом Саду</p> <hr/>
Напомена:	UDC658.2(043.3)

UNIVERSITY OF NOVI SAD

FACULTY OF AGRICULTURE NOVI SAD

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Milica Baloš
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Vojislava Bursić, PhD, Full Professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad Aleksandra Petrović, PhD, associate professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Thesis title:	Biomonitoring of microplastics in agricultural soil
Language of text (script):	Serbian language (cyrillic)
Physical description:	Number of: Pages: 99 Chapters: 7 References: 214 Tables: 13 Illustrations: 11 Graphs: 1 Scheme: 1
Scientific field:	Biotechnical sciences
Scientific subfield (scientific discipline):	Phytopharmacy

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5B – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

Subject, Key words:	microplastics, <i>Eisenia fetida</i> , biomonitoring, sunflower, oilseed rape, oxidative stress, microorganisms
Abstract in English language:	<p>Extensive use of plastic and its products has resulted in global environmental contamination with plastic waste. Large plastic products can degrade into smaller fragments, known as microplastics (<5 mm), which have raised increasing concern among the public and scientific communities worldwide. Until recently, most microplastic research focused on aquatic environments, particularly marine, while information on microplastic contamination in terrestrial systems and soils is extremely limited. Plastic residues have become a serious ecological problem in areas with intensive agricultural production. Although numerous studies have been conducted to assess its impact on soil quality and crop yields, the published results are still limited. The aim of this research is to monitor the harmful impact of microplastic fragments depending on soil type, as well as to investigate their effect on plant growth and development, and the mortality and reproduction of the worm <i>Eisenia Foetida</i>.</p> <p>The results will help determine the extent to which microplastic harms terrestrial ecosystems and living organisms within them, drawing attention to and reducing their usage as much as possible. Soil was sampled from two locations, Torak and Subotica, from a depth of up to 30 cm. Water was sampled from the experimental site, and a 1-liter sample was sent for analysis to the Faculty of Natural Sciences and Mathematics. Plastic was collected from the Budisava site on agricultural land where mulch film was applied. A sack of mineral fertilizer and pesticides was also taken from agricultural land in Banat.</p> <p>According to the obtained results, microplastics negatively affected plants, worms, and microorganisms. The soil sample from the "Torak" location is characterized by a high clay content (33.04%) and fine sand (35.50%), indicating clay loam with poor drainage and retention of microplastic particles. In contrast, the sample from the "Subotica" location contains a high percentage of fine sand (56.25%) and coarse sand (36.43%), indicating sandy loam with better drainage but lower water and nutrient retention capacity. Differences in soil texture affect their cultivation and management, with specific advantages and challenges in agriculture. Both soil samples are slightly alkaline to alkaline with pH values from 7.27 to 8.33. The samples differ in organic matter content: the "Torak" sample has 3.11% humus, while the "Subotica" sample has 5.15%. The phosphorus content is similar in both samples (18.66 to 18.25 mg/100 g), and the carbonate content varies from 2.27% ("Subotica") to 10.66% ("Torak"). Total nitrogen is high in both samples (0.213-0.332%), while potassium is very high in the "Torak" sample (42.69%) and high in the "Subotica" sample (31.74%). FTIR spectra show characteristic bands for PE at 2914, 2847, 1470,</p>

and 718 cm^{-1} . For PET in fertilizer sack samples, bands are identified at 2956, 1713, 1409, 1238, 1091, and 1016 cm^{-1} . In the pesticide packaging spectrum, characteristic bands for thifensulfuron-methyl are found at 2921.54, 2852.31, 1743.72, 1458.37, 1357.70, 1268.27, 1160.58, and 716 cm^{-1} . Spectra obtained for fertilizer sack and pesticide packaging samples from Torak and Subotica do not indicate structural changes during the experiment, confirmed by the presence of the same characteristic bands in all samples. FTIR spectrum analysis of mulch film shows characteristic bands for PE at 2914, 2847, 1470, and 718 cm^{-1} . Additionally, new bands at 3000-3600 cm^{-1} and around 1000 cm^{-1} are observed in all microplastic samples. Specific bands at 2914 and 2847 cm^{-1} indicate the presence of symmetric and asymmetric C-H functional group vibrations. According to the literature, the intensity of the bands at these wavelengths should decrease over time, while the intensity of the bands at 3000-3600 cm^{-1} and around 1000 cm^{-1} should increase, indicating progressive degradation of PE.

The "Torak" soil sample shows better sunflower growth in the presence of worms, with the highest stem length (42.98 cm) and low fresh root mass (0.5 g) in the presence of juvenile worms. The presence of microplastics (MP) significantly inhibits plant growth and biomass accumulation. Control groups without worms and MP, as well as treatments with adult worms, show the best results in fresh and dry root and stem mass. Rapeseed shows better growth in the presence of worms, and the worst results in the presence of MP, with the shortest root length (3.94 cm) and lowest fresh root mass (0.36 g) when adult worms and MP are present. These results indicate the negative effects of MP on the physiological characteristics of the tested plants. Also, the results show no significant differences in the content of total phenols, tannins, and flavonoids, nor in the antioxidant capacity between the control and treated groups. This indicates that the treatment did not significantly impact these parameters in the dry plant material.

In the experiment, biomass increase (37.98%) was observed only in adult *E. fetida* in pots with sunflowers and soil from Torak without MP. High biomass loss was observed in treatments with MP: in the presence of rapeseed (57.24%) and sunflowers (40.79%), as well as without plants (53.00%). For juvenile stages, the smallest biomass loss (0.74%) was recorded in the presence of sunflowers, while the highest loss was in the presence of MP and rapeseed (96.47%). The highest mortality rate of adult worms (53.33%) was found in the presence of MP without plants, while all worms survived in treatments with sunflowers. Juvenile worms had the highest mortality rate (46.64%) in the presence of MP, and the lowest (13.35%) in pots with sunflowers. Statistically

	<p>significant differences were found for the impact of soil type, presence of MP, evaluation time, and worm developmental stage on biomass change and mortality rate ($p < 0.01$), while the plant type was not significant.</p> <p>Additionally, catalase (CAT) activity in worms is highest at 0.5% MP concentration in samples without plants (257.748 mg GAE g⁻¹), rapeseed (253.399 mg GAE g⁻¹), and sunflowers (243.034 mg GAE g⁻¹). The lowest CAT values were recorded at 1.0% MP (190.095 mg GAE g⁻¹ for samples without plants and 180.866 mg GAE g⁻¹ for rapeseed) and at 1.5% MP for sunflowers (188.049 mg GAE g⁻¹). Superoxide dismutase (SOD) activity is highest at 0.5% MP in samples without plants (47.418 mg GAE g⁻¹), rapeseed (54.834 mg GAE g⁻¹), and sunflowers (49.925 mg GAE g⁻¹). Peroxidase (POD) activity was stable, with the highest values at 0.5% MP in sunflowers (4.216 mg GAE g⁻¹) and rapeseed (4.464 mg GAE g⁻¹). Lipid peroxidation (LP) increased in the presence of MP, with the highest values at 1% MP in sunflowers (28.284 nmol MDA g⁻¹) and rapeseed (26.322 nmol MDA g⁻¹), while values without plants ranged from 20.759 to 24.851 nmol MDA g⁻¹.</p> <p>According to the results of ANOVA and Duncan's test, samples are classified into three groups. Group 'a' with the highest bacterial count (232.5 million CFU ml⁻¹) includes samples from Torak without sunflowers, rapeseed, and MP. Group 'b' includes samples from Torak with sunflowers (104.5 million CFU ml⁻¹) or MP (102 million CFU ml⁻¹). Group 'c' includes samples from Subotica with sunflowers (26.5 million CFU ml⁻¹) or MP (4 million CFU ml⁻¹). Microbiome diversity, measured by Shannon entropy, did not show statistically significant differences among the analyzed groups. Fluorescein synthesis was successful in an acidic medium with phthalic anhydride, but not observed in alkaline conditions. The most abundant microbial communities in the original soil samples were Actinobacteria (11.02%), Proteobacteria (12.18%), and Latescibacteria (9.06%). Phthalate degradation did not show significant differences after 28 days.</p>
Accepted on Scientific Board on:	08.12.2023.
Defended: (Filled by the faculty service)	

<p>Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)</p>	<p>President: Sonja Gvozdenc, PhD, senior research associate, Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad</p> <hr/> <p>Supervisor: Vojislava Bursić, PhD, Full Professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <hr/> <p>Supervisor: Aleksandra Petrović, PhD, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <hr/> <p>Member: Aleksandra Tubić, PhD, Full Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</p> <hr/> <p>Member: Dejan Prvulović, PhD, Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad</p> <hr/>
<p>Note:</p>	<p>UDC658.2(043.3)</p>

Огромну захвалност дугујем својим менторима проф. др Војисави Бурсић и проф. др Александри Петровић, за изузетно вођство током израде докторске дисертације, времену, стрпљењу, предусретљивости, разумевању и подрици током вишегодишње сарадње, при чему су својим саветима значајно унапредиле квалитет рада.

Посебну захвалност дугујем др Соњи Гвозденац на корисним сугестијама и смерницама које су допринеле изради рада.

Искрено хвала проф. др Александри Тубић која је подржала идеје докторске дисертације и несебично делила своје огромно знање из области микропластике. Велико хвала др Маји Вујић на помоћи у тумачењу резултата.

Захваљујем се проф. др Дејану Првуловићу на стручној помоћи из области биохемије.

Велику захвалност дугујем компанији Агроуник у којој је извршен део експерименталних огледа, а посебно др Снежани Ђорђевић, директору Урошу Ђорђевићу и MSc спес. Николи Ђорђевићу, те колегама др Предрагу Миловановићу и маст.инж. Татјани Марић на безусловној подрици и позитивној енергији која никада није изостала.

Неизмерно сам захвална родитељима, мајци Јелени и оцу Стеви и сестрама Марији и Мирјани, за неизмерну подрику и охрабрење током целокупног школовања, без којих докторска дисертација не би ни постојала. Такође, хвала супругу Адриану на стрпљењу и подрици.

Магдалени

Садржај

1. УВОД.....	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	3
2.1. Микропластика.....	3
2.2. Извори и класификација микропластике.....	9
2.2.1. Микропластика у животној средини.....	11
2.3. Земљиште.....	13
2.3.1. Први сусрети пластике и земљишта.....	14
2.4. Глисте (Annelida: Oligochaeta).....	22
2.4.1. Глисте и микропластика.....	22
2.5. Биљке и микропластика.....	26
2.6. Микроорганизми.....	29
3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА.....	33
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	34
4.1. Коришћене хемикалије.....	34
4.2. Коришћене подлоге.....	34
4.3. Коришћена опрема.....	35
4.4. Узорковање земљишта.....	35
4.4.1. Анализе земљишта.....	36
4.5. Узорковање пластичног материјала.....	37
4.5.1. Анализа пластике.....	37
4.6. Анализа воде.....	38
4.7. Тест организми.....	40
4.7.1. Методе утицаја микропластике на тест организме.....	40
4.8. Структура огледа.....	41
4.8.1. Биљке.....	42
4.8.2. Глисте.....	43
4.8.3. Биохемијски параметри: оксидативни стрес.....	43
4.8.4. Микроорганизми.....	45
4.8.5. Одређивање фталата у земљишту.....	46
4.9. Статистичка обрада података.....	47
5. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА.....	48
5.1. Анализа земљишта.....	48

5.2.	Анализа типова микропластике	50
5.3.	Утицај микропластике на биљке	57
5.4.	Утицај микропластике на глисте.....	63
5.5.	Утицај микропластике на микроорганизме	73
5.5.1.	Metabarcoding анализа	75
5.5.2.	Анализа фталата.....	78
6.	ЗАКЉУЧАК	79
7.	ЛИТЕРАТУРА	82

Листа скраћеница

АцхЕ	Ацетилхолин естераза
АМ	Арбускуларне микроизне гљиве
АНОВА	Једнофакторска анализа варијансе
КАТ	Каталаза
ЦФУ	Број јединица формирања колонија
DADA 2	Divisive Amplicon Denoising Algorithm 2
ФТИР	Инфрацрвена спектрометрија са Фуријевом трансформацијом
ГСТ	Глутатион С-трансфераза
ХДПЕ	Полиетилен високе густине
IUSS	Међународно друштво за проучавање земљишта
ЛДПЕ	Полиетилен ниске густине
МДА	Малондиалдехид
МО	Микроорганизми
МП	Микропластика
МПА	Месо-пептонски агар
ОТУ	Оптичка трнсформација
ПА	Полиамид
ПАН	Полиакрилонитрил
ПБС	Стерилни фосфатни пуфер
ПЦ	Поликарбонат
РСР	Полимеразна ланчана реакција
ПЕ	Полиетилен
ПЕС	Полиетилен сулфони
ПЕТ	Полиетилен терефталат
ПФМ	Пластична малч фолија
ПЛА	Полилактид
ПМ	Честице у ваздуху
ПММА	Полиметил метакрилат
ПОД	Пероксидаза
ПП	Полипропилен
ППЦ	Полипропиленски карбонат
ПС	Полистирен
ПУР	Полиуретан
ПВА	Поливинил алкохол
ПВЦ	Поливинил хлорид
САД	Сједињене Америчке Државе
SI	Међународни систем јединица
СОД	Супероксид дисмутаза

SZO	Светска здравствена организација
ТБА	Тиобарбитурна метода
ТЦА	Трихлорна киселина
UNEP	Програм Уједињених нација за животну средину
УВ	Ултраљубичасто зрачење

1. Увод

Сведоци смо све учесталијег загађења животне средине, наине воде, ваздуха и земљишта, где се у многобројне опасне (хазардне) супстанце убраја и пластика. Пластика је данас неизоставни део наше свакодневнице, при чему њена производња расте великом брзином. Управо због тога, светска и научна и стручна јавност су са разлогом забринути због прекомерне употребе пластичних маса и њиховог негативног утицаја на човекову околину.

Термин „пластика“ покрива широк спектар појмова. Почела је интензивније да се примењује средином 19. века при чему су тада настали полипропилен (ПП), полиетилен (ПЕ) и поливинилхлорид (ПВЦ). Препозната је као јефтина сировина, погодних карактеристика, при чему је због отпорности на воду, корозију и деградацију, њене производње и константном порасту. Пластика је постала алтернатива металу, папиру, стаклу и многим другим материјалима. Интензивна производња довела је до тога да се већи део произведене пластике употребљава за израду амбалаже кратког века, што је резултирало чињеницом да се у спољашњој средини налазе прекомерне количине пластичног отпада, који чини и до 10-15% масе комуналног отпада. Лоше управљање пластичним отпадом довело је до великог пораста њене количине у воденим екосистемима, а такође и у земљишту. У земљишту је присутна микропластика (МП), која угрожава развој биљака, а утиче и на целокупни живи свет у том екосистему, између осталог на глисте, које су основни чиниоци плодности земљишта.

Најчешће се под појмом микропластика подразумевају пластичне честице мање од 5 mm. МП се налази готово у сваком сегменту животне средине и постаје све већи проблем са којим се суочава људска популација. Такође, данас се суочавамо са чињеницом да је све више пољопривредног земљишта загађено МП. Извори загађења најчешће долазе неправилно одложеним отпадом од агрохемикалија на пољопривредним парцелама, као што су пластичне амбалаже пестицида, вреће минералног ђубрива, малч фолије и пластеничка пластика. Продукти разлагања овог отпада неретко доспевају до подземних вода, јер у близини пољопривредних парцела често можемо уочити водене системе попут канала и река. Услед доспевања МП у подземне воде, опасност по животну средину је двострука.

С обзиром да данас скоро свака пољопривредна парцела садржи МП, поставља се питање како такво загађено земљиште утиче на раст и развој биљака и утиче на вегетацију? Такође, поставља се питање и утицаја пластичног отпада и МП на микофлору, живи свет у земљишту, пре свега глисте и корисне бактерије из ризосфере гајених биљака, без којих биљка не би могла да се развија.

Врсте МП које су најчешће детектоване на пољопривредном земљишту су ПВЦ, ПЕ и полиетилен терефталат (ПЕТ).

Новија истраживања све више обраћају пажњу на проблеме у вези са МП базирајући се на водене екосистеме, чему доприносе бројни научни радови. Међутим, мали број радова се бави овом проблематиком у копненим екосистемима, која није ништа мање значајна с обзиром да интензивна пољопривредна производња све више напредује. Полимери који се могу најчешће детектовати на пољопривредном земљишту представљају тешко разградиве материјале који се деградирају на мање фрагменте и тако временом настаје МП. Са друге стране, МП има афинитет да веже токсична једињења и тешке метале и тако постаје још опаснија за живи свет.

Узимајући у обзир све наведено, циљ докторске дисертације је да се унапреди знање о штетности МП на пољопривредном земљишту, утицају на развој биљака, микроорганизама, као и глиста које су веома значајне за одржавање квалитетног и плодног земљишта. Истраживање обухвата интеракцију између присутне МП на пољопривредним земљиштима различитих физичко-хемијских особина и биљака, глиста и микроорганизама који се налазе у земљишту.

Да би сачували добро и плодно земљиште и обезбедили здравствено безбедне пољопривредне производе за будуће генерације, у складу са циљевима одрживог развоја Уједињених нација, неопходно је истаћи битност оваквог вида истраживања и подстаћи што више научних истраживача да се баве овом тематиком.

2. Преглед литературе

2.1. Микропластика

Пластика се састоји од атома угљеника, водоника, кисеоника и хлора који чине дуголанчане синтетичке полимере и као таква има безброј предности попут мале тежине, издржљивости, ефикасности и ниске цене. Управо због тога, нашла је широку примену у разним областима и задовољава основне потребе у производњи одеће, козметике, играчака, и друго. Последица широке примене пластике је да је једна од најчешћих и највећих загађујућих материја на планети, при чему су процеси акумулације и фрагментације пластике у сталном порасту (d' Ambrières, 2019).

Производња и потражња пластике нагло је скочила након Другог светског рата, због високе издржљивости и економичности, као и лаке обраде, а тренд пораста је континуиран. Tiseo (2021) наводи да је широм света произведено чак 370 милиона тона пластичног материјала, при чему сличан податак износи Plastics Europe (2020), док Barrows et al. (2017), предвиђа да ће до 2050. године, количина произведене пластике достићи 33 милијарде тона. У 2020., у Европи је 39,6% пластике употребљено за паковање, а 20,4% је коришћено у грађевинарству. Ове области су познате по великој потрошњи материјала. У последњих неколико година, развијене су нове методе рециклирања пластичног материјала. Ипак, само 32,5% пластике се рециклира, 42,6% се користи за производњу енергије, а 24,9% завршава на депонијама (Ferdous et al., 2021). Ако се тренутни трендови производње и управљања пластичним отпадом наставе, очекује се да ће до 2050. године, 1,2 милијарда тона пластичног отпада бити на депонијама или акумулирана у животној средини (Geyer et al., 2017). Овај податак итекако забрињава имајући у виду чињеницу да су пластичном материјалу потребне хиљаде година да би се биоразградио, при чему може да садржи опасне адитиве и због тога представља озбиљну опасност за људе и животну средину, са посебним нагласком на копнене и водене екосистеме. Amorium и Scott-Fordsmand (2021), наводе да је земљиште далеко више загађено МП у односу на водене екосистеме, али да је мање проучавано. Процењено је да је од приближно 275 милиона тона пластичног отпада, произведеног у 192 приморске земље 2010. године, између 4,8 и 12,7 милиона тона

завршило у океану (Jambeck et al., 2015). Ренса (2018) наводи да преко 80% отпада у морима чини пластика. Нажалост, стање се веома погоршало након пандемије корона вируса због прекомерних употреба заштитних маски израђених за једнократну употребу, као и заштитних рукавица. Такође, не треба заборавити ни чињеницу да се повећала производња и употреба пластичне амбалаже због све интензивније е-трговине која је постала популарна након пандемије корона вируса.

Највећи проценат производње пластике заузимају: полиетилен (ПЕ) 29,6%, полипропилен (ПП) 18,9%, поливинил хлорид (ПВЦ) 10,4%, полиуретан (ПУР) 7,4%, полистирен (ПС) 7,1% и полиетилен терефталат (ПЕТ) 6,9% (Plastics – the fast Facts 2023). Ове врсте пластике имају стабилне везе угљеник-водоник и користе се за израду разноврсних комерцијалних материјала (Andrady, 2015).

Пластику карактеришу различита физичко-хемијска својства. Пластични материјали често садрже адитиве, који јој дају флексибилност, разнобојност и нижу запаљивост. Ови адитиви чине МП још штетнију по животну средину, посебно услед процеса разградње (Campanale et al., 2020). Разградња пластике се дешава под дејством сунчеве светлости, воде или физичких чинилаца спољашње средине, што резултује настанком нанопластике (Cheng et al., 2021). Током разградње, адитиви се разлажу из пластичних честица у земљиште и тако лакше доспевају до ткива живих организама (Barreto et al., 2021).

Ниска стопа деградације пластике и њена неодржива употреба и одлагање, довели су до акумулације у животној средини (Thompson et al., 2009). У 2016. години светска производња пластике достигла је 322 милиона тона, при чему се велики део (39,9% у Европи) користи у амбалажи за паковање (Plastics Europe, 2017). Водени екосистеми су на удару загађења, међутим све већа пажња се усмерава на копнене екосистеме који су подложни загађењу пластиком. ПЕ, ПП и ПС су најчешћи типови пластике који се налазе у океанима као поултанти (Andrady, 2011). На понашање пластике у животној средини утиче густина честица, али и њихова интеракција са различитим организмима, што доприноси повећању токсичности (Thompson et al., 2009).

Пластика представља значајну претњу природним екосистемима и људском здрављу (Galloway, 2015; Karbalaei et al., 2018; Villarrubia-Gomez et al., 2018). Сматра се да је загађење пластиком велика претња за планету, јер је уједно неповратни отпад (ниска деградација, немогућност да се поврати сва пластика) и сасвим сигурно ће пореметити процесе у Земљиним сферама (слојевима), било негативним ефектима на екосистеме или мењањем физичко-хемијских особина животне средине (Avery-Gomm et

al., 2019). Загађење пластиком директно доприноси климатским променама и има негативан утицај, јер узрокује промене у биодиверзитету.

Као што је наведено, пластичан отпад који се налази у животној средини подлеже различитим процесима деградације и фрагментације, у зависности од физичко-хемијских својстава полимера и услова средине у којима су материјали изложени, као што су топлота, ултраљубичасто зрачење (УВ), оксидација и механичке силе (Andrady et al., 2022). У овим процесима стварају се честице <math><5\text{ nm}</math>, односно микропластика (Tompson et al., 2004). Пластични фрагменти који су се временом разградили у форми микро- и нано- пластике су постојани и широко распрострањени у окружењу, са предвиђеним негативним утицајем на животну средину (Federici et al., 2022). Последњих деценија МП је предмет истраживања научника широм света, при чему се највећи број радова базира на загађење водених система, поготово океана. Велики број научника сматра да земљиште може садржати много више МП од океана, са негативним последицама на гајене биљке, природну флору и фауну земљишта, и на тај начин доспети у ланац исхране (Yanni et al., 2022). Извесно је да је МП одличан адсорбент за пестициде, полицикличне ароматичне угљоводнике (eng. Polycyclic aromatic hydrocarbons, ПАХ) и друге хидрофобне токсичне материје (Pastor et al., 2021) те тако утиче на биоакumulацију у животињском и људском ткиву. Иако су спроведена бројна екотоксиколошка испитивања, стварни еколошки ризици МП по животну средину су још увек предмет расправе научника. Ова ситуација је услед неусклађености у концентрацијама микропластике које се користе у лабораторијским условима и оних које су присутне у природном окружењу, као и због разлика у карактеристикама пластике. У лабораторијским истраживањима се често користе контролисани и хомогени узорци микропластике, док у стварном животу пластика долази у различитим облицима, величинама и саставима. Ове варијације отежавају директно поређење и примену лабораторијских резултата на реалне еколошке услове, што доводи до различитих закључака о потенцијалним ризицима микропластике по животну средину. МП из реалног окружења је разноврснија и сложенија по врсти, облику, величини и саставу, што је директно повезано са њеном токсичношћу (Zhang et al., 2021).

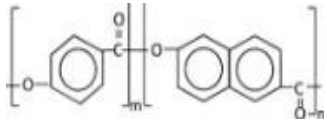
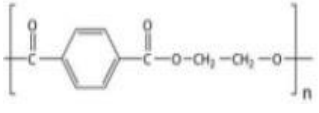
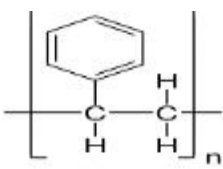
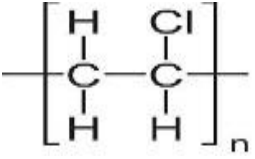
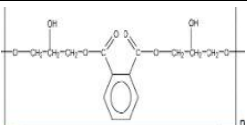
Новија истраживања су показала да се МП налази и у мајчином млеку (Ragusa et al., 2022), као и то да су скоро све испитане мајке користиле средства за личну хигијену. Детектоване честице пластике у производима намењеним за личну хигијену су класификоване према облику, боји, димензијама и хемијском саставу. МП је углавном

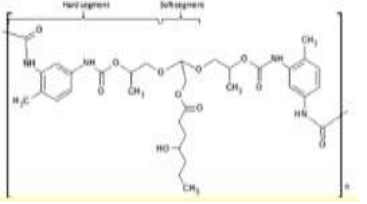
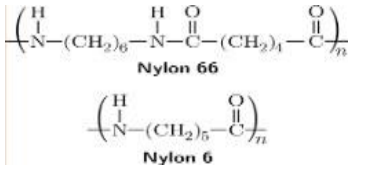
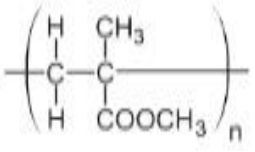
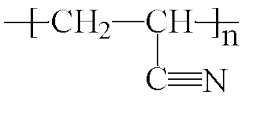
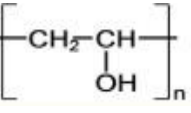
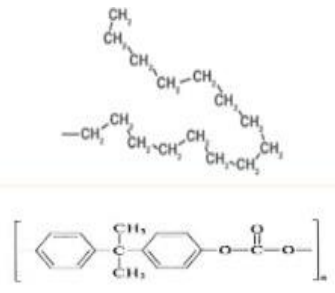
била састављена од полиетилена, поливинилхлорида и полипропилена, величине од 2 до 12 μm . Ово истраживање потврђује колико је МП свеprisутна у нашем окружењу.

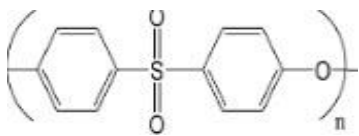
Постоји велики број пластичних полимера који се деградацијом трансформишу у МП (Табела 1), која кружи ваздухом, копненим стаништима, рекама и другим воденим системима (Rillig et al., 2020). Честице МП су откривене у атмосфери руралних и урбаних подручја. У року од само неколико деценија откако је почела масовна производња пластичних производа, остаци пластике се учестано акумулирају у земљиште, океане, мора, итд. (Barnes et al., 2009). Њихово присуство је потврђено на најудаљенијим местима на Земљи (Horton et al., 2020), попут алпских региона (Allen et al., 2019), половима (Barrows et al. 2017) и арктичких региона (Windsor et al., 2019), што указује на снажан потенцијал атмосферског транспорта (Zhang et al., 2020).

МП присутна у пољопривредном земљишту, директно утиче на развој биљака, карактеристике земљишта и живог света у њему. Оно што највише забрињава јесте здравље усева чије плодове на крају конзумира човек. Примарни извори МП у земљишту најчешће обухватају малч фолије, муљ и наводњавање отпадним водама. Негативни ефекти МП нису ограничени само на физичке параметре, него утичу на хемијске факторе, услед њихове способности да адсорбују, акумулирају, транспортују и десорбују загађујуће супстанце из свог окружења, или током „испуштања“ адитива који се додају у процесу производње (Groh et al., 2019). Светска здравствена организација је током састанка научника у марту 2020. године, дискутовала о утицају МП на људе и друге организме. Том приликом је поставила смернице за одговарајућу примену пластике у сектору пољопривреде како би се штетни ефекти пластике у пољопривреди свели на минимум.

Табела 1. Најчешће коришћени пластични полимери који се деградацијом трансформишу у микропластику, њихове примене и хемијске структуре (Bansal and Singh., 2022)

Врста полимера	Особине и примена	Хемијска структура
Полиестер	Густине је $1,24-2,3 \text{ g ml}^{-1}$, тако да у води није биоразградив. Користи се у текстилу, влакнима, тракама за снимање итд.	
Полиетилен (ПЕ)	Густине је $0,91-0,9 \text{ g ml}^{-1}$, плута на води и није биоразградив. Користи се у паковању, у врећама, изолацији жице и боцама.	---[CH ₂ -CH ₂] n--- (где n може бити од 1000 до 20,000)
Полиетилен терефталат (ПЕТ)	Густине је $1,37-1,45 \text{ g ml}^{-1}$, тако да тоне у води и не може се биоразградити. Користи се као материјал за паковање, у флашама за безалкохолна пића.	
Полипропилен (ПП)	Плута на води (густина је $0,91 \text{ g ml}^{-1}$) и није биоразградив. Користи се у материјалима за паковање, влакнима, боцама, тешким контејнерима за микроталасну пећницу.	---[CH(CH ₃)-CH ₂] n---
Полистирен (ПС)	Нису биоразградиви, густине од $1,01-1,04 \text{ g ml}^{-1}$ (тоне у води). Користе се у паковању, стиропору, предметима као што су прибор за јело (виљушке, ножеви и кашике), послужавници, чашама за пиће, играчкама,...	
Поливинил хлорид (ПВЦ)	Користи се у грађевинарству, прозирној амбалажи за храну, флашама, подним облогама, синтетичкој кожи и одводним цевима. Нису биоразградиви са густином у распону од $1,16-1,584 \text{ g ml}^{-1}$, односно, тежи су од воде и не могу се лако биоразградити.	
Алкид	Има примену у бојама, влакна нису биоразградива, имају густину од $1,67-2,1 \text{ g ml}^{-1}$ и тону у води.	

<p>Полиуретан (ПУР)</p>	<p>Густина од 0,03-0,1 g ml⁻¹ узрокује да ове супстанце плутају на води. Користе се у грађевинарству, пени, чврстим и флексибилним влакнима. Ова једињења се могу биоразградити уз помоћ микроорганизама који се појављују у природи.</p>	
<p>Полиамид (ПА)</p>	<p>Најлон се користи у аутомобилској индустрији, у текстилима, влакнима и имају густину од 1,02-1,05 g ml⁻¹ тако да не плутају на води. Ова једињења се могу биоразградити.</p>	
<p>Полиметил метакрилат (ПММА)</p>	<p>Тежи су од воде са густином од 1,17-1,20 g ml⁻¹ и углавном се користе у електроници, као замена за стакла, бојама и производима за домаћинство. Нису биоразградиви и могу се рециклирати.</p>	
<p>Полиакрилонитрил (ПАН)</p>	<p>Имају примену у текстилним влакнима и користе се у плетеним кошуљама, цемперима, ћебадима и теписима. Њихова густина се креће од 1,09-1,20 g ml⁻¹ тако да ова једињења тону у води. Не могу се биоразградити.</p>	
<p>Поливинил алкохол (ПВА)</p>	<p>ПВА имају примену у текстилу, густине од 1,19-1,31 g ml⁻¹ тако да тону у води. Може се биоразградити уз помоћ гљива, грам-негативних и грам-позитивних бактерија.</p>	
<p>Поликарбонат (ПС)</p>	<p>Користи се у електронским компонентама, грађевинским материјалима, аутомобилској индустрији, авионима, железницама и безбедносним компонентама. Густина поликарбоната варира од 1,20-1,22 g ml⁻¹. Због присуства фенил групе са обе стране карбонатне везе, ензими не могу биоразградити поликарбонате.</p>	
<p>Поливинил ацетат (ПВА)</p>	<p>Има густину од 1,19 g ml⁻¹. Користи се као лепак за дрво, тапете, коверте, паковање</p>	<p>$[-CH_2-CH(OOCCH_3)-]_n$</p>

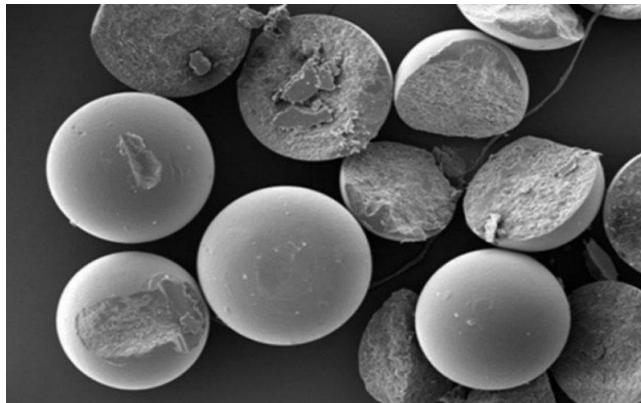
	цигарета. ПВА је основа за жвакаће гуме.	
Полиетил сулфони (ПЕС)	То су термопласти високих перформанси и отпорни су на киселине, базе, уља, масти и алифатичне угљоводонике са густином 1,31-1,34 g ml ⁻¹ . Ова једињења имају добру оптичку јасноћу, изолациона својства, умерену чврстину чак и на високој температури и користе се у медицинским апаратима.	

2.2. Извори и класификација микропластике

Извори МП су многобројни и на њихову појаву, транспорт и судбину у животној средини утичу разни природни фактори као и њихова физичко-хемијска својства (Wang et al. 2020a). Пластични производи су сложене мешавине једног или више полимера, као нпр. пластификатори, стабилизатори, антиоксиданти и др. (Zimmermann et al., 2019). Са више од 5000 различитих врста пластике на тржишту, број хемикалија које се користе за њихову производњу је вероватно још већи (Zimmermann et al., 2019). Ниједна врста најчешће коришћене пластике није биоразградива, што за резултат има њено акумулирање и перзистентност на депонијама и у природном окружењу (Geyer et al., 2017). Због високе издржљивости, МП може опстати у спољној средини од сто до хиљаду година (Tibbetts et al., 2018). Директни извор МП (микрозрнца у козметици) су честице из пилинга, производа за личну негу, као што су козметички производи и паста за зубе (Слика 1).

МП се по извору дели на примарну и секундарну. Примарну МП чине пластичне честице првобитно произведене у датим величинама, које се користе за директну употребу или се користе као прекурсори других производа (Tanaka et al., 2016). Примарна МП се у животну средину ослобађа из производа за личну негу и козметику (Leslie, 2015), из синтетичких микровлакна која се користе у текстилној индустрији и индустрији одеће (Liu et al., 2019), као и компоненте потрошачких и индустријских производа (Mani et al., 2015). Широка употреба ових производа омогућава њихову велику распрострањеност (Auta et al., 2017). Научна истраживања указала су на њихову

повећану примену у медицини односно у фармацеутским препаратима (Норевелл et al., 2009).



Слика 1. Крупни план полиетиленских микрозрнаца који се налазе у многим производима за хигијену лица (извор: Williams and Thompson, 2015)

Секундарна контаминација МП је резултат фрагментације пластичних остатака који се налазе у екосистему дуже време и који су изложени деловању абиотичких фактора (Scherer et al., 2017), хемијским и механичким процесима (Barrows et al., 2017), односно, фотолизи, абразији и разградњи помоћу микроорганизама (McCormick et al., 2014).

Дефиниција МП следи номенклатуру међународног система јединица (SI систем), МП = 5 mm - 1 μ m. У нанопластику се убрајају честице мање од 1 μ m и све је присутнија у животној средини (Pastor et al., 2021).

Класификација пластике по величини варира од студије до студије али је најчешћа категоризација: нанопластика <100 nm, микропластика 0,0001-5 mm, мезопластика 5-25 mm и макрочестице >25 mm (Windsor et al., 2019). Различите величине пластике и карактеристике (облик, физичка и хемијска својства) чине ову групу загађујућих материја посебно разноликом (Rochman, 2015).

2.2.1. Микропластика у животној средини

МП представља групу веома распрострањених загађујућих материја, које потичу од разлагања већих пластичних остатака (секундарних) или директно произведене пластике у микро величини (примарних). С обзиром на ситне димензије, МП се може наћи како у морској тако и у слатководној средини. Међутим, присутност расте и у копненим срединама услед лошег „управљања“ и одлагања пластичног отпада, што доводи до загађења биосфере. Повећана акумулација МП, па чак и нанопластике у воденом, копненом и атмосферском окружењу има значајан утицај на живот у води и на копну.

Abbasi et al. (2023), су недавно спровели студију која је указала на присуство МП у атмосфери. Наиме, спроведено је истраживање на две урбане локације у Ирану, у граду Ахваз. Честице у ваздуху, односно суспендоване честице (ПМ) са аеродинамичком граничном величином од $10 \mu\text{m}$ (PM_{10}) сакупљене су помоћу уређаја за узорковање ваздуха велике запремине, током четири месеца. МП у ПМ је изолована и касније категорисана. Све узорковане МП ($n = 322$) биле су влакнасте природе, при чему су најдоминантнији полимери били ПЕТ, ПА и ПП и то у складу са текстилом и тканинама као главним изворима. Концентрације МП су се кретале до $0,017 \text{ m}^{-3}$ (просек је био $0,0065 \text{ m}^{-3}$) и на доњој су граници опсега пријављених у новијој литератури за различите урбане локације. Истовремено је забележен транспорт МП на удаљене локације, што отвара нове сфере истраживања.

Водени и копнени организми могу да ингестирају МП на свим трофичким нивоима и тако бити изложени штетним биолошким ефектима попут поремећаја у раду дигестивних органа, промене нивоа хормона, инхибицији раста и промене понашања путем различитих молекуларних и ћелијских механизма (Leous and Parry 2005, Matthews et al., 2021). Поред тога, МП из загађеног земљишта, у ком мења физичко-хемијске особине истог, утиче на раст биљака. Услед механичке блокаде водно-ваздушног капацитета земљишта, енергија клијања семена гајених биљака може бити смањена што узрокује ограничен раст и развој кореновог система и надземног дела биљке (Li et al., 2021c). Са друге стране, МП има велики утицај на микробиолошку флору у земљишту који се огледа кроз промену физичко-хемијских особина земљишта, при

чему микроорганизми трпе оксидациони стрес (Machado et al., 2018). Фауна земљишта је веома важан део копненог екосистема при чему побољшава структуру земљишта, одржава циркулисање хранљивих елемената и утиче на биомасу микроорганизама те на активност ензима. МП у зељишту има негативан утицај на овај сегмент земљишта.

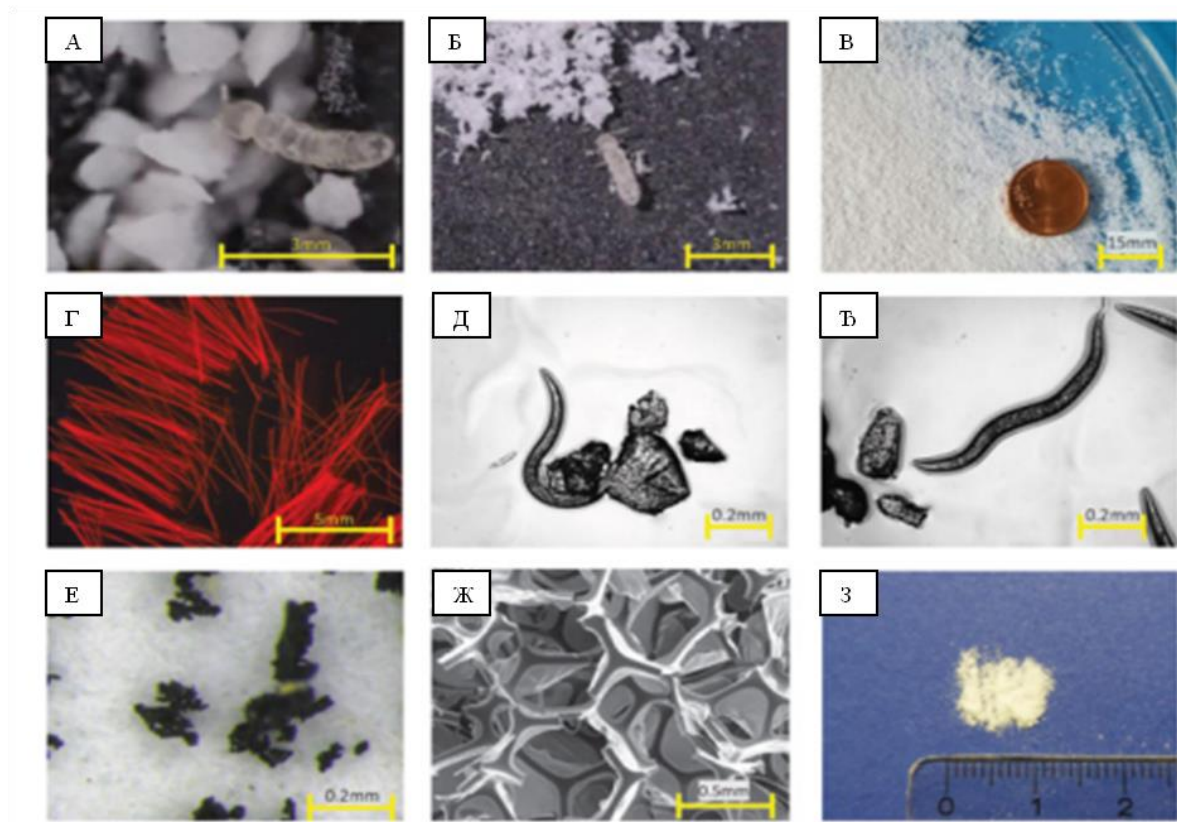
Такође, због велике површине и хемијских својстава, МП може бити носилац других загађујућих супстанци (Koelmans et al., 2016). Wang et al. (2022) су истраживали да ли МП својим физичким и хемијским својствима може утицати на адсорпцију тешких метала, што зависи од величина честица и типа полимера.

Формирање МП у воденој средини се дешава услед фрагментације пластике природним (абразија или фотолиза) или индустријским путем (Peller et al., 2022).

Semmour et al. (2022) су спровели истраживање у води за пиће у Белгији. У студији је анализирана вода за пиће пореклом из подземних, површинских и пречишћених отпадних вода на присуство МП. Најчешћи типови полимера који су пронађени у узорцима били су ПП и ПЕТ. Количина МП у узорцима пречишћене воде за пиће и чесменској води износила је у просеку $0,02 \pm 0,03$ МП Γ^{-1} , односно $0,01 \pm 0,02$ МП Γ^{-1} . Концентрације честица ($1 \mu\text{m} - 5000 \text{nm}$) биле су у просеку 5,59 и 3,76 МП Γ^{-1} за све узорке. На основу дневне стандардне конзумације (2 l) воде за пиће у комбинацији са измереном концентрацијом у овом истраживању, потрошња је 0,02 МП по глави становника дневно. Добијени резултати потврђују да је вода за пиће загађена МП, што је врло забрињавајуће, јер се на тај начин МП директно уноси у људски организам.

Li et al. (2022) су спровели истраживање које је обухватило узорковање на 24 локалитета, у три слоја земљишта, са различитих површина, односно у стакленицима, на отвореном пољу и на површинама где се гаји поврће. Резултати су показали да су најчешће величине МП у земљишту биле 0,2-0,5 и 0,5-1,0 mm, најчешћи облик је био филм (85,93%), бела боја је доминирала, док је главни полимер био ПЕ (93,1%), што указује да је већина МП потицала од малч фолије. Распрострањеност МП била је највећа на парцелама стакленика (7763 ± 2773 ком kg^{-1}), затим на повртарским парцелама (4128 ± 2235 ком kg^{-1}) и на крају на пољима усева (3178 ± 3172 ком kg^{-1}). Нису примећене значајне разлике између количине МП у слоју 0-10 cm (1822 ± 1345 ком kg^{-1}), 10-20 cm (1566 ± 1139 ком kg^{-1}) и 20-30 cm (1309 ± 1028 ком kg^{-1}), што сугерише да МП може мигрирати у дубље слојеве земљишта, а што је у корелацији са обрадом земљишта. Такође је утврђено да различите карактеристике усева и начини коришћења у

пољопривреди, утичу на распрострањеност и миграцију МП у различитим врстама пољопривредног земљишта, а тиме и на њихову дистрибуцију. (Слика 2).



Слика 2. Примери микропластике у земљишту: А-скокуни и честице урее, Б-скокун и остругане пластичне честице са флаше, В-микроперле полипропилена Г-микроvlakна полипропилена, Д и Ђ-одрасле јединке нематода са полистиреном, Е-честице гуме формиране абразијом, Ж-полиуретан садржан у сунђеру, у крупном плану, З-полипропилен у прашкастом облику (извор: Barreto et al., 2021)

2.3. Земљиште

Земљиште је један од необновљивих и непроцењивих ресурса који у пољопривреди представља незаменљив фактор сваке производње. Управо због тога је одрживо управљање земљиштем од кључног значаја, јер интензивна пољопривредна производња доводи до деградације и губитака органске материје, што са становишта друштва представља неодржив и неприхватљив процес (Родић и сар., 2008).

Наука о земљишту има богату и дугу историју истраживања, оријентисану како на познавање фактора животне средине који утичу на квалитет земљишта, тако и на процену улоге земљишта као јединствене компоненте животне средине. Генерално, може се рећи да је наука о земљишту једна од основних дисциплина модерних природних наука. Наука о земљишту, базира се на три правца: агроеколошки, пољопривредно-хемијски и генетски (Fallou, 1962). Многе студије се и данас активно баве темом утицаја пољопривредне производње на земљиште и животну средину. Поред тога, потребно је максимално повећати дугорочну продуктивност земљишта, чиме ће се минимализирати негативни утицаји. Квалитет и стање земљишта као дела животне средине буди забринутост јавности, јер садржи различите врсте отпада и служи као индикатор квалитета воде, док уједно представља кључну компоненту биохемијских циклуса и њихових глобалних промена.

Земљиште се састоји од чврсте, течне, гасовите фазе и живих организама. Чврсту фазу чини велик број минерала и органских честица. Течну фазу представља вода у којој су растворене минералне материје, док је гасовита фаза ваздух са свим својим састојцима. Микроорганизми, биљке и животиње су део живих организама земљишта. Органске компоненте (5%) су по хемијском саставу хуминске и фулво киселине и хумини. За разлику од њих, неорганска фракција заузима већи део чврсте фазе (95%) и чине је минерали из група примарних и секундарних хидратисаних силиката, минерали хидроксида и оксида алуминијума, гвожђа, мангана, кварц, опал и минерали простих соли (Ђуровић, 2010). Чврста фаза земљишта заузима 50%, а осталих 50% заузимају гасовита и течна фаза у различитим односима (Авдаловић, 2016). Течна фаза је веома значајна као реакциони медијум у земљишту, јер има склоност ка адсорпцији, као и могућност растварања разних органских и неорганских једињења, што зависи од вредности рН средине. Битна чињеница је да различити односи садржаја глине, песка и праха одређују количину задржаних материја у земљишту (Живковић и Ђорђевић, 2003). Ваздух из земљишта, односно гасовита фаза, је најсличнија атмосферском ваздуху, са вишим садржајем CO_2 , услед деградације органских материја.

2.3.1. Први сусрети пластике и земљишта

Давне 1948. године, професор Емерт, научник из области хортикултуре са Универзитета у Кентакију, користио је стакленике за гајење цвећа, а желео је да замени

стакло јефтинијим материјалом. Стакло је заменио ПЕ пластичном малч фолијом (ПЕ-ПФМ). Ово је био први пут да је пластични материјал примењен у пољопривреди и од тада је његова примена расла (Anderson and Emmert, 1994; Espi et al., 2016). Током наредних година, употреба ПЕ-ПФМ се показала ефикаснијом од других малчева (слама, папир и алуминијумске фолије) у контроли микроклиматских промена земљишта и постепено су га препознали и други истраживачи. Шездесетих година прошлог века ПФМ је почео да се комерцијално користи за производњу поврћа у САД (Husejn and Hamid, 2003). Први разлог коришћења овог материјала у пољопривреди био је повећање температуре земљишта. Међутим, пољопривредни произвођачи убрзо схватају да ПФМ може да заштити усеве од непогода и лоших временских услова уз повећање приноса. Из тог разлога, убрзо је дошло до експанзије употребе пластичног малча (Scarascia-Mugnozza et al., 2011; Zhang et al., 2013).

Малчирање пластичном фолијом је важна пољопривредна техника која игра кључну улогу у повећању приноса усева и одржавању влаге у земљишту. Међутим, дуготрајна покривеност и неблагоприятни опоравак доводе до велике количине пластичних остатака у земљишту. Временом се остаци разлажу на мање делове, што може умањити квалитет сетве, уништити структуру земљишта и негативно утицати на организме у земљишту (Jiang et al., 2022). Загађењу земљишта МП је посвећено много мање пажње, иако је МП која се ослобађа у овај матрикс 4-23 пута већа од оне у воденој средини (Horton et al., 2017). Извори МП у земљишту су различити, а најчешћи су: наводњавање отпадним водама, хабање гума са машина, таложење из атмосфере, примена органског ђубрива, коришћење муља и остаци пластичне фолије са пластеника (Baensch-Baltruschat et al., 2021; Corradini et al., 2021).

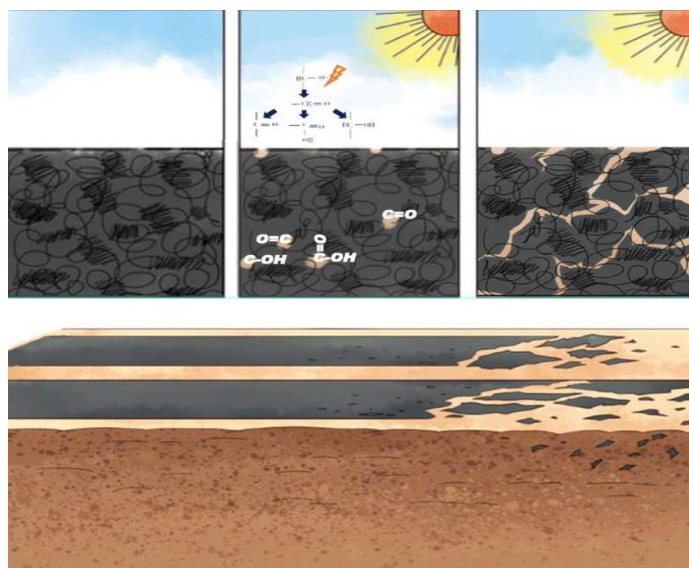
Велика површина малих честица МП, адсорбује друге органске и неорганске загађујуће материје који утичу на одрживост екосистема земљишта и на његову порозност (Bansal and Singh, 2022, Purwiyanto et al., 2020). Доказано је да због мале величине, јаке хидрофобности и велике специфичне површине, МП може да адсорбује токсичне материје у земљишту, као што су тешки метали (Zhou et al., 2019). Поред тога, тешки метали адсорбовани на МП могу да мигрирају и потенцијално се ослободе у околну средину (Song et al., 2019). Стога, МП и тешки метали могу представљати ризик од синергијског загађења животне средине, што резултира потенцијално штетним утицајима на организме у земљишту. De Souza et al. (2019) и Hodson et al. (2017) су током истраживања открили да честице МП у земљишту адсорбују органске загађујуће супстанце ПАХ, потенцијално токсичне метале и хемикалије које ремете ендокрини

систем земљишних организама, а које не само да нарушавају квалитет земљишта већ улазе у ланац исхране.

Такође, откривено је да полиетилен високе густине (eng. High density polyethylene, ХДПЕ) смањује вредност рН земљишта за 0,62 јединице (Boots et al., 2019). Током истраживачких студија спроведених од стране Dong et al. (2015), откривено је да остаци малч фолија негативно утичу на плодност земљишта и раст биљака, као и то да се мењају ензимске активности у земљишту.

Yang et al. (2022) су истраживали степен деградације различитих малч фолија у земљишту. У студији су проучавана три типа малч фолија: оксоразградиве, биоразградиве и конвенционални неразградиве и најчешће коришћене (ПЕ). Студија је изведена симулираним УВ зрачењем. Резултати су показали да је формирање МП рапидно расло почевши од биоразградиве малч фолије, оксоразградиве, беле ПЕ малч фолије и на крају црне ПЕ малч фолије. Кинетика стварања МП је стриктно пратила Шварцилдов закон (Шварцилдова једначина се користи за израчунавање радијационог преноса кроз медијум у локалној термодинамичкој равнотежи који и апсорбује и емитује зрачење) са експоненцијалним растом индекса између 1,6309 и 2,0502. При кумулативном УВ зрачењу од 2,1 MJ m⁻², просечна количина МП из биоразградиве, оксоразградиве и беле и црне неразградиве малч фолије биле су 475, 266, 163, 147 честица/cm² са величинама честица које су у биле распоређене у распону од 0,02 до 0,10 mm. Такође је уочено површинско одвајање слојева малча услед деловања УВ зрака (Слика 3).

Програм Уједињених нација за животну средину је 2014. године навео загађење земљишта МП међу десет највећих еколошких проблема. Први научни истраживач који је изјавио да МП у земљишту утиче на физичко-хемијске особине земљишта, густину, биофизичке особине, активности микроорганизама у земљишту, раст и зрелост биљака, био је немачки научник Rillig (2012).



Слика 3. Фотодеградација малч фолије посредством УВ зрака (извор: Yang et al., 2022)

Најчешћи извори МП у земљишту су:

1. Пољопривредне фолије- малчирање

Ова технологија се користи на 20 милиона хектара пољопривредног земљишта. Последњих година је врло распрострањена, јер обезбеђује бољи квалитет плодова, већи принос и омогућава боље искоришћење воде. Најчешће коришћени типови пластике су ПВЦ, ПП, ПЕ и кополимер етилен-винилацетата. Око 4,5 милиона тона пластике је утрошено у 2019. години за малчирање, а очекује се да ће до 2030. године, цифра порасти до 5,6 милиона тона (Huang et al., 2020). Уклањање фолија за малчирање са пољопривредних површина након жетве није практично изводљиво па се део филма оставља у пољу. Због ниске стопе рециклаже, велика количина отпада пластичног малча остаје на површини пољопривредног земљишта која је након неког времена склона фото деградацији. При орању, пластични филмови се фрагментирају и закопавају у земљиште. Малчирање доводи до 10-30% повећања МП у земљишту (Ren et al., 2021). У Азији, Кини, Јапану и Јужној Кореји 80% пластике у земљишту је доспело услед малчирања (Espí et al., 2006). Поред тога, у Кини поступак малчирања се повећао са 0,64 милиона тона у 1991. години на 2,60 милиона тона у 2015. години (NBSC, 2019).

2. Амбалаже средстава за заштиту биља и минералних ђубрива

Примена минералних ђубрива и средстава за заштиту биља су у сталном порасту. Кина је врхунац примене пестицида достигла 2014. године, са потрошњом од 1,81 милиона тона (Li et al., 2019). Пластични отпад који чине џакови минералних ђубрива и амбалажа пестицида су, поред малч фолије, један од најважнијих извора МП у пољопривредном земљишту. Нажалост, паковања средстава за заштиту биља и минералних ђубрива су у највећем проценту, направљена од пластичних материјала, који се веома тешко рециклира због широке дистрибуције током њихове употребе, а затим остаје на пољопривредном земљишту и подлаже разградњи УВ зрацима или водом. Li et al. (2021b) наводе да је у Кини на пољопривредним земљиштима аплицирано 5,65 милиона тона минералних ђубрива током 2018. године, док су количине ПП и ПВЦ као пластичног отпада износиле око 150.000 тона.

3. Компост

Иако се компост сматра еколошки прихватљив нутритијент за земљиште, због неправилног одлагања, често садржи МП. С обзиром на његову широку примену у пољопривреди широм планете, транспортује се у земљиште и тако доспева у животну средину и терестричне екосистеме (Bläsing and Amelung, 2018).

4. Канализациони муљ

Ова врста нутритијента је богата органским и есенцијалним хранљивим материјама. Примењује се као ђубриво на пољопривредном земљишту за побољшање продуктивности земљишта. Канализациони муљ је добијен из кућних отпадних вода (микробне куглице добијене из козметичких препарата, полимерна влакна од прања одеће), а може да потиче из индустријског отпада или услед хабања гума, па самим тим садржи МП. Када се канализациони муљ наноси на земљиште, загађујуће материје се акумулирају у земљишту (Ren et al., 2021).

5. Вода за наводњавање

У развијеним земљама већина пољопривредних површина се наводњава речном, језерском водом, или се користе подземне воде. Међутим, услед недостатка воде, поједине земље користе и канализациону воду. Литературни наводи указују да поменути водни ресурси могу да садрже висок ниво МП, која се путем наводњавања наноси на земљиште (Jian et al.; 2020.; Bansal and Singh, 2020; Choi et al., 2021).

МП која улази у земљиште је трајна загађујућа материја у животној средини пошто је земљиште може апсорбовати, акумулирати или транспортовати (Xu et al., 2020). Sajjad et al. (2022) наводе да се концентрација МП у пољопривредним

земљиштима креће до 165.000 честица по килограму земље, као и да је максимална концентрација МП регистрована у пољопривредном земљишту у Пакистану (675 mg/kg). Прегледом литературе такође се наводи да земљишта на која се наносе канализациони муљ или која се наводњавају канализационом водом имају веће количине МП по килограму земљишта (Bansal and Singh, 2022).

Подземни транспорт МП одвија се путем биотурбације уз помоћ корена биљака и фауне земљишта, орањем, обрадом земљишта, жетвом усева, инфилтрацијом воде, итд. (Rillig et al., 2019). Horton et al. (2017) су у истраживању навели да је концентрација МП у копненој средини вишеструко већа него у океану. Ова изјава је изазвала реакцију Уједињених нација за животну средину, која је на састанку 5. јуна 2018. године, апеловала на спровођењу више истраживачких студија о ефектима загађења МП на земљиште.

МП се током раних 80-их година сматрала највећом загађујућом материјом водених екосистема, при чему су рађене студије истраживања штетног утицаја МП на акватичне организме, док је утицај МП на копнени екосистем почео да се изучава тек у последњој деценији прошлог века (Rillig, 2012). Бројна истраживања указују да МП као загађујућа супстанца животне средине кружи из једног екосистема у други (Rodrigues et al., 2018) и да је земљиште природни резервоар МП (Xu et al., 2020, Sun et al., 2022). Такође, постоје многи научни радови који доказују негативан утицај МП на терестричне екосистеме (Табела 2).

На миграцију МП у земљишту утичу величина партикула, хидрофобност, наелектрисање, густина и облик (Rillig et al., 2017b). Посебно је интересантно понашање различитих облика МП у земљишту. Микровлакна су подложнија „заглављивању“ у земљишту и због тога је извесно да ће ступити у интеракцију са земљишном фауном и микроорганизмима (Rillig et al., 2017a).

МП у земљишту се редистрибуира од стране живог света (гриња, ларви инсеката, глиста, итд.) помоћу њихових активности попут исхране, кретања или копања (Al-Jaibachi et al., 2019). Кретање глиста и укоренавање биљака формирају макропоре (>0,08 mm) при чему је отежана седиментација осталих материја, те МП несметано пролази заједно са водом. Ова чињеница указује да сви фактори који утичу на присуство макропора ће индиректно утицати на ефикасност миграције МП кроз земљиште (Rillig et al., 2017b). Поред овога, честе су појаве пукотина које представљају директан улаз честица МП и омогућавају им даљу дистрибуцију у земљишту. Ове пукотине су углавном последица смењивања влажних и сувих временских услова (Rillig et al., 2017a).

Liu et al. (2022a) су установили да МП другачије утиче на различите културе биљака. До оваквог закључка су дошли током испитивања утицаја присутности, величине, састава полимера и облика МП на пољопривредним парцелама засејаних кукурузом, сунцокретом и кромпиром. Подручје истраживања било је у сушном региону у округу Куингхе, Хињианг, Кина. Главни облици МП били су фрагменти и влакна, а доминантан полимер био је ПЕ (91,6%). Присутност МП кретала се од 11,347 комада/kg суве масе до 78,061 комада/kg суве масе (просечно 52081,7 комада/kg суве масе). Присутност и удео МП са пречником мањим од 0,2 mm били су значајно већи у парцелама са сунцокретом и кукурузом (високе биљке) у поређењу са парцелама са кромпиром (ниске биљке) (за ниво значајности од $p < 0,05$). Аутори наводе да остаци сламе утичу на миграцију и сакупљање ђубрива. Присутност и фрагментација МП биле су значајно веће на парцелама са сунцокретом и кукурузом где се минерално ђубриво широко користи, јер су ове високе биљке чврсто везале ђубриво и фрагменте МП близу стабала и корена. Ђубриво се затим постепено распадало услед механичке обраде земљишта и заоравања жетвених остатака. Иако је МП која потиче од ђубрива вероватно краткотрајно имобилизована остацима сламе, крхки и лако ломљиви делови пластике на крају доспевају у земљиште услед радова у пољу. Резултати истраживања указују да различите карактеристике усева могу утицати на присутност и фрагментацију МП у пољопривредном земљишту, чак и унутар исте регије, а тиме на ниво и тип загађења МП.

Табела 2. Преглед литературе са подацима о загађењу земљишта микропластиком (Xu et al., 2019)

Тип земљишта	Дубина узорковања	Метода екстракције	Идентификациона метода	Количина концентрације (број честица/kg)	Масена концентрација	Величина	Врста МП	Локација	Референца
Плавно земљиште	5 cm	Одвајање густине (NaCl)	Раман и ФТИР спектроскопија	0-593	5 (0-55,5)	125-500 mm (88%)	ПЕ (88%) > ПС > ПП	Швајцарска	(Scheurer and Bigalke, 2018)
Пољопривредно земљиште	5 cm	Величина фракције (вода)	Микроскоп и ФТИР спектрометрија	0,34 ± 0,36 (0-1,25)	35 g/ha ⁻¹	1–5 mm	ПЕ (62,5%), ПП (25%), ПС (12,5%)	Немачка	(Piehl et al., 2018)
Пољопривредно земљиште	3 cm	Одвајање густине (NaCl)	Микроскоп и ФТИР спектрометрија	78,0 ± 12,9	-	1,91 ± 0,13 mm	ПП (51%), ПЕ (43%), ПЕС (6%)	Кина	(Liu et al., 2018b)
Пољопривредно земљиште	3 cm	Одвајање густине (NaCl)	Микроскоп и ФТИР спектрометрија	62,5 ± 13,0	-	1,48 ± 0,11 mm	ПП (51%), ПЕ (43%), ПЕС (6%)	Кина	(Liu et al., 2018b)
Пољопривредно земљиште	30 cm	Одвајање густине (вода)	Микроскоп	40 ± 126 320 ± 329	0,008-0,54	>100 mm	-	Кина	(Zhang et al., 2018a)
Пољопривредно земљиште	25 cm	Одвајање густине (NaCl, ZnCl ₂)	Микроскоп	600-10.400	0,57-12,9	20 mm x 0,97 mm	-	Кина	(Corradini et al., 2019)
Пољопривредно земљиште	10 cm	Одвајање густине (NaCl)	Микроскоп	18760 (7100-42960)	-	0,05-1 mm (95%)	-	Кина	(Zhang and Liu, 2018)
Пољопривредно земљиште	15 cm	Одвајање густине (ZnCl ₂)	ФТИР спектрометрија	82000 (0-165000)	6,26 (0-16,5)	10-130 mm	ПП (56%), ПЕ (39%), Најлон (5%)	Данска	(Vollertsen and Hansen, 2017)

2.4. Глисте (*Annelida: Oligochaeta*)

Малочекињасте глисте (*Oligochaeta*) филума *Annelida* су једне од најважнијих живих бића које имају способност да одрже плодност земљишта и тако играју кључну улогу у одрживости. Глисте одржавају физичко-хемијска својства земљишта претварајући биоразградиве материје и органски отпад за производњу хранљивих материја. Такође, побољшавају разградњу биљних остатака у земљишту, а активностима доприносе порозности земљишта, док са друге стране доприносе формирању хумуса (Bossuyt et al., 2004; Jouquet et al., 2006).

Терестричне глисте имају способност варења и претварања ниског квалитета органске материје у производ богат хранљивим материјама, у интеракцији са микрофлором земљишта (Singh et al., 2014). Органска материја земљишта се процењује у односу угљеник-азот. Количина и доступност есенцијалних биолошких хранљивих материја, азота, фосфора и калијума, кључни су регулатори процеса угљеника и због тога могу ограничити продуктивност усева. Услед интензивне пољопривредне производње, примећено је да је густина насељености глиста мања и мање разнолика у обрадивом земљишту у поређењу са необрађеним земљиштима. Глисте значајно модификују физичке, хемијске и биолошке особине земљишта у коме живе. Принос усева са већим бројем глиста у земљишту је већи у односу на приносе где глисте нису биле присутне (Doube et al., 1997; Lavelle et al., 2006).

Изнети подаци указују да треба развијати пољопривредне праксе које су погодне за раст и развој глиста и одржавање њихових популација у земљишту у циљу одржања његове дугорочне продуктивности (Rajkhowa et al., 2015).

2.4.1. Глисте и микропластика

МП и пластични отпад ометају одржавање популације глиста. Услед све веће количине пластике и пластичног отпада, долази до нарушавања услова живота животињских заједница у земљишту. МП у земљишту утиче на исхрану животињског света изазивајући дисбаланс у исхрани, што доводи до смањења раста и репродукције, оштећења органа и поремећаја имунолошког одговора и метаболизма (Lahive et al., 2019; Wang et al., 2019). Cao et al. (2017) су открили да присутан слој МП у земљишту утиче на раст глиста узрокујући хистопатолошка и имунолошка оштећења. МП у

земљишту изазива цревна и оксидативна оштећења нематода (Liu et al., 2018a; Zhu et al., 2018), што резултира смањењем дужине тела, стопе преживљавања и репродуктивног капацитета нематода. МП присутна у земљишту негативно утиче на здравље макрофауне (кишне глисте и пужеви) која је задужена за претварање органске материје у хранљиву материју коју могу да користе биљке (Hodson et al., 2017).

Због присуства у горњим трофичким нивоима у ланцима исхране, глисте (*Eisenia fetida* Savigny, 1826 и *Lumbricus terrestris* Linnaeus, 1758) се често користе као биоиндикатори за процену критичних прагова одређивања загађујућих материја у земљишту (Calisi et al., 2013). С обзиром да су глисте задужене за главне процесе у вези са плодношћу земљишта, ови прагови се могу користити за анализу земљишта у циљу процене дугорочности његове плодности (Peres et al., 2011). Проучавање реакције глиста на МП представља важну меру процене како загађујуће супстанце утичу на квалитет земљишта, али и њих самих (Spurgeon et al., 2003; Zhang et al., 2018b).

Спроведене научне студије (Rodriguez-Seijo et al., 2017; Huerta Lwanga et al., 2017) су указале да неразградива пластика може негативно да утиче на глисте и њихове активности, при чему настају оштећење дигестивног система код врсте *Eisenia andrei* Bouché, 1972. Количина МП којој су глисте биле изложене је била 125 mg kg^{-1} земљишта и имала је утицај на имуни одговор, односно индукцију стреса (Rodriguez-Seijo et al., 2017). Поред стреса, високи нивои изложености ($>280 \text{ g kg}^{-1}$) довели су до смањења стопе пораста тела *L. terrestris* (Huerta Lwanga et al., 2017. Cao et al. (2017) су истакли да честице ПС ($58 \mu\text{m}$) при оптерећењу земљишта од $10\text{-}20 \text{ g kg}^{-1}$ значајно инхибирају раст и повећавају морталитет *E. fetida*, док су Jiang et al. (2020) изнели податак да је изложеност МП од ПС оштетила ћелије црева код ове врсте глиста.

Ding et al. (2021) су спровели истраживање при којем су открили да концентрација МП већа од 40 g kg^{-1} негативно утиче на биомасу и репродукцију глиста. Током огледа су дошли до закључка да је концентрација доминантан фактор који утиче на биомасу и репродукцију ових организама, али не и врста пластичног материјала. Два типа биоразградиве микропластике (ПЛА и ППХ) нису дали боље резултате од ПЕ, која је неразградива пластика.

Слично истраживање спровели су Baeza et al. (2020) испитујући утицај различитих концентрација МП (2,5; 5 и 7% w/w) на *L. terrestris*, при чему су резултати показали да јединке нису разликовале МП од земљишних честица и с обзиром на високе концентрације, МП је произвела физичке лезије на површини тела, тако да су

глисте доживеле стрес и изгубиле заштитну слуз која им облаже тело. Yu et al. (2022) су испитивали утицај различитих концентracија МП на *E. fetida*. Користили су два типа земљишта при чему је истраживање обухватило ПЕ и биоразградиву полимлечну киселину (ПЛК) у опсегу концентracија од 0,5 до 14% w/w. Резултати истраживања су показали да су се активности ензима супероксид дисмутазе (СОД), каталазе (КАТ), пероксидазе (ПОД), глутатион С-трансферазе (ГСТ) и ацетилхолинестераза (АцхЕ) смањиле након двонедељног излагања ПЕ и ПЛК, док је концентracија малондиалдехида (МДА), индикатора за оксидативни стрес, повећана. Након 28 дана, нивои СОД, КАТ, ПОД, АцхЕ и ГСТ су порасле, док се ниво МДА смањио. Ове промене су указивале да токсични ефекти МП зависе од концентracије, а не од типа честица или земљишта на којим су изведена истраживања. ПЕ је имао већи штетни утицај од честица ПЛК након две недеље, док значајна разлика није забележена након 28 дана. Није уочена промена микрофлоре црева *E. fetida*, али је промењена заступљеност *Actinobacteriota*, *Bacteroidota*, *Ascomycota* и *Rozellomycota*. Резултати су показали да конвенционална и биоразградива МП једнако изазива оксидативни стрес код *E. fetida*, при чему се ни загађења у различитим типовима земљишта нису много разликовала, што указује да токсични ефекти изазвани МП мање зависе од типа честица и земљишта, а више од концентracије МП.

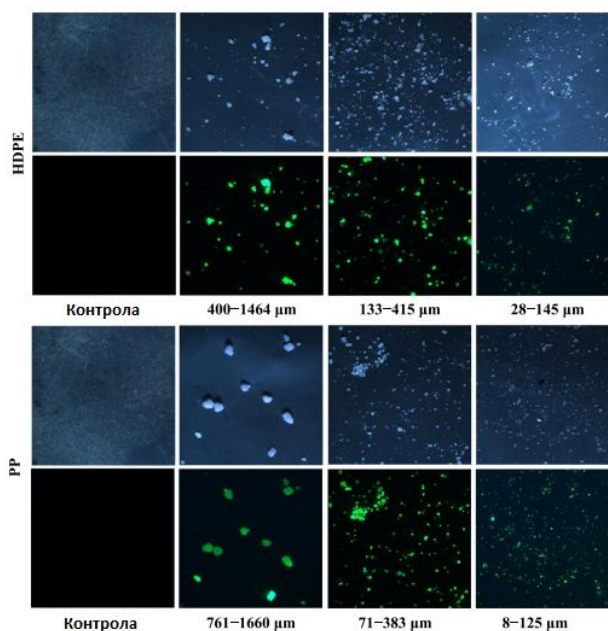
Занимљиво истраживање спровели су Riling et al. (2017c) на основу којег су изнели податке преношења МП услед локомоције глиста кроз земљиште. Ово је било једно од првих студија овог типа, при чему је доказано да се ПЕ честице могу транспортовати релативно брзо уз помоћ кишних глиста (Слика 4), при чему се спуштају у профил земљишта, од површине до дубине од 10 cm. Током истраживања, уочено је да на број транспортованих честица утиче њихова величина, односно да су честице најмањих димензија пронађене у најдубљем слоју земљишта. Експеримент је био изведен у стакленику у саксијама, при чему су површински додате честице МП, како би се касније могле извући из експерименталног земљишта на различитим дубинама. Ово истраживање је оправдало очекивање да кишне глисте могу да изврше вертикалан транспорт МП, пошто су ранија истраживања показала да могу да транспортују друге честице (величине неколико mm), укључујући семе биљака (Zaller et al., 2007) или честице песка (Shumway et al., 1994).



Слика 4. Микропластичне честице полиетилена (ПЕ-1; 710-850 μm) које се налазе на површини кишних глиста (извор: Rillig et al., 2017a)

Резултати студија које је спровео Li et al. (2021b) су показали да *E. fetida* може уносити МП честице ХДПЕ и ПП са различитим распонима величине, при чему је изложеност различитим опсезима ХДПЕ и ПП-а променила активност СОД, КАТ и ГСТ и изазвала повећање нивоа 8-хидрокси-2'-деоксигуанозина, што указује да је оксидативни стрес изазван присуством МП. Изложеност глиста ХДПЕ и ПП значајно је пореметило неколико процеса у метаболизму, што је доказано и присуством ових честица у измету *E. fetida* (Слика 5), при чему су настале неуродегенерације, оксидативни стрес и упални процеси.

Сао et al. (2022) су изучавали присуство честица МП и трис (2-хлоретил) фосфата на девет локалитета. Током рада су изучавали ефекте МП на глисте, а резултати су указали да је код кишних глиста настало оштећење, као и оксидативни стрес, што је резултирало инхибицијом раста и исхране и довело до губитка масе од 3,42 до 14,96%. Овим истраживањем је потврђен штетан утицај на дигестију што отвара нова поља истраживања.



Слика 5. Полиетилен (ХДПЕ, 28-145, 133-415 и 400-1464 μm) и полипропилен (ПП, 8-125, 71-383 и 761-1660 μm) микропластика са различитим распонима величине прикупљених из измета *Eisenia fetida* (извор: Li et al., 2021b)

2.5. Биљке и микропластика

Као што је већ поменуто, МП се препознаје као значајна загађујућа супстанца екосистема услед глобалних промена, при чему многа истраживања истичу да присуство МП мења својства земљишта и утиче на животињски свет овог хабитата. На основу изнетих истраживања, очекивано је да МП има негативан утицај на раст и развој биљака. Поред тога, интеракције са другим факторима глобалних промена, као што је суша, може повећати негативан ефекат МП. Lehmann et al. (2022) су спровели студију да би потврдили ове наводе. Испитивали су ефекте полиестерских микровлакна, арбускуларне микоризне (АМ) гљиве, као и реакцију биљака на сушу, услед утицаја МП. Резултати истраживања указују да је у присуству полиестерских микровлакна повећана надземна биомаса лука (*Allium cepa* L.) услед редовног заливања и у условима суше, док је у условима суше, третман само са гљивом АМ достигао највиши ниво биомасе. Међутим, колонизација АМ гљивама се повећала под контаминацијом микровлакнима, али се биомаса није повећала када су биле присутне и АМ гљиве и влакна. Ова студија указује да честице МП у земљишту могу да утичу на систем биљка-земљиште.

Веома занимљиво истраживање спровели су Li et al. (2021a) у којем су испитивали утицај кореновог система на миграцију МП у земљишту. МП се акумулира у земљишту и претпоставка је да мигрира вертикално због инфилтрације воде, као и активности фауне и раста корена. Ово истраживање је обухватило кукуруз (*Zea mays* L.), соју (*Glycine max* (L.) Merr.) и љуљ (*Lolium sp.* L.) у процени утицаја корена на миграцију пластике. Резултати указују да су корени поједних наведених усева показали мали утицај на миграцију МП када је била распоређена у површинском слоју земљишта. Међутим, корен кукуруза је утицао на кретање МП ка површинском слоју земљишта када су ове честице биле распоређене у средњем слоју земљишта. Аутори сматрају да корен кукуруза производи више пора и пукотина у профилу земљишта од корена осталих усева. Поред тога, забележена је позитивна корелација између броја честица МП и терцијарног корена љуља, при чему овакви резултати указују на способност задржавања МП код усева са финијим кореновим системом. Према резултатима, за разлику од кретања МП у доње слојеве земљишта која је узрокована инфилтрацијом воде и активностима фауне земљишта, корење усева омогућава миграцију МП навише или њихово задржавање у слојевима земљишта.

Zhang et al. (2020) су изнели резултате испитивања утицаја МП на раст и развој биљака, активност микроорганизама и асимилацију угљеника. Честице МП су у зависности од концентрације имале негативан утицај на раст биљака, при чему је продуктивност надземног дела биљака смањена за 22,9%, а подземног дела за 8,4%. Током истраживања, забележен је утицај на асимилацију угљеника, при чему је активност β -глюкозидазе била инхибирана од стране честица МП, док код других активности ензима у процесу кружења угљеника и азота нису забележене промене. Врста и количина МП у земљишту у великој су мери промениле проток угљеника кроз систем биљка-земљиште. Честице МП су промениле структуру и утицале су на метаболички статус присутних микроорганизама. Овакви резултати још једном су потврдили да честице МП имају значајан утицај на кључне активности у земљишту, као и на раст и развој биљака.

Доказано је да МП у земљишту индиректно утиче на клијавост семена и раст биљака (Ng et al., 2018), при чему њихова транслокација у биљкама зависи од облика, величине и хемијских својстава МП (Bosker et al., 2019). Слично испитивање су спровели и Yu et al. (2021), при чему су доказали да МП има утицај на клијавост семена, истовремено смањујући виталност и висину биљака из рода *Vasora*. Код

третмана где је МП присутна, синтеза хлорофила б је значајно смањена у поређењу са контролним третманима. Присуство МП у земљишту такође је резултовало већом концентрацијом реактивних врста кисеоника у биљкама, што је довело до повећане липидне пероксидације и активације антиоксидативног одбрамбеног система. Прегледом литературе, откривено је да МП улази у биљку кроз слободан простор између ћелија корена (Meng et al., 2020). Такође су De Souza Machado et al. (2019), изнели податак да ПС у луку (*Allium cepa* L.) повећава биомасу и укупну дужину корена, док ПА и полиестерска влакна значајно утичу на микробиолошку активност земљишта и елементарни састав ткива. Са друге стране, истраживања показују да у усеву кукуруза, ПС и полимлечна киселина (ПЛА) смањују биомасу корена (Wang et al., 2020), док полиестерске честице успоравају усвајање хранљивих материја и раст биљака (Urbina et al., 2020).

У усеву пшенице (*Triticum sp.* L.), ПС утиче на повећање дужине и биомасу корена и смањење односа величине корена и изданака (Lian et al., 2020), док ЛДПЕ доводи до смањења броја листова и биомасе утичући на вегетативни раст биљке (Li et al., 2019). Liu et al. (2021a) наводе да ПЕ утиче на антиоксидативни систем корена пшенице.

Jiang et al. (2019) су изнели резултате студија утицаја ПС на биљке пасуља (*Phaseolus vulgaris* L.). Наиме, присуство ПС смањује биомасу и активност ензима каталазе и успорава транспорт хранљивих материја до корена блокирањем пора ћелијских зидова. ПС у усеву мркве (*Daucus carota sativus*, L.) улази у корен и преноси се у листове (Dong et al., 2021). До истих резултата дошли су и Lozano et al. (2021). Сва истраживања указују да облик МП, тип полимера и њена концентрација утичу на својства земљишта, а самим тим и на биомасу биљке. У присуству полиетена високе густине (ХДПЕ) смањује се висина изданака и биомаса мркве а успорава се клијање семена, док ПП и ЛДПЕ доводе до смањења масе корена и надземног дела биљке (Liu et al., 2021b).

Такође је урађено испитивање утицаја МП на процес фотосинтезе биљака. Zhang et al. (2022) су испитивали ефекте различитих величина перли ПС на својства земљишта и на параметре фотосинтезе биљака, активност микроорганизама и потенцијалну корелацију између њих. Резултати су показали да је величина МП честица утицала на својства земљишта, састав микробиолошке заједнице ризосфере, као и на фотосинтезу, раст и развиће биљака кукуруза, салате (*Lactuca sativa* L.) пиринча (*Oryza sativa* L.) и пшенице. Закључак је да перле ПС различитих величина

могу променити компоненте, структуре и функционалне групе ароматичних прстенова органске материје и додатно променити микробиолошку заједницу и њихов метаболизам.

Colzi et al. (2022) су спровели истраживање које је обухватило четири најзаступљеније врсте МП у контаминираном земљишту, односно ПП, ПЕ, ПВЦ и ПЕТ. Коришћене су биљке тикве (*Cucurbita pepo* L.) које су узгајане у саксијама са растућом концентрацијом МП, при чему је праћена биометрија биљака и фотосинтетички параметри. Сва четири типа МП су успорили раст корена и изданака, смањили су величину листова, садржај хлорофила, као и фотосинтетичку ефикасност. Упоредивши све четири врсте МП, ПВЦ је идентификован као најтоксичнији, а ПЕ као мање токсичан материјал. ПВЦ је у већој мери проузроковао смањење димензије листне површине, вредности индекса фотосинтезе и концентрацију гвожђа у биљкама у односу на остале типове МП. С обзиром на токсичност МП на биљке тикве, која је доказана овим радом, постоји озбиљна забринутост у вези са могућим смањењем приноса других култура и економским губицима.

2.6. Микроорганизми

Микроорганизми (МО) у земљишту представљају невидљиви, али кључни део екосистема. Ова група обухвата бактерије, гљиве, актинобактерије, протозое, алге и вирусе. Њихово присуство и разноликост играју значајну улогу у одржавању плодности земљишта и еколошких процеса.

Главне улоге МО у земљишту су:

1. Разградња органске материје: МО су одговорни за разградњу биљних и животињских остатака, као и отпадних материја, претварајући их у хранљиве материје које могу бити поново искоришћене од стране биљака.
2. Фиксација азота: одређене врсте бактерија, познате као азотофиксатори, имају способност да преобразе азот из ваздуха у облик који биљке могу користити за раст и развој. Ово је посебно важно, јер азот представља кључни елемент у исхрани биљака.
3. Симбиоза са биљкама: многи МО живе у симбиози са корењем биљака, што се назива микоризом. Симбиоза омогућава биљкама бољи приступ хранљивим материјама из земљишта, док МО добијају храну од биљака.

4. Очување структуре земљишта: гљиве и друге врсте МО стварају мреже влакана, познате као микоризалне хифе, које помажу у очувању структуре земљишта. Хифе помажу у спречавању ерозије, посебно у условима јаких падавина.
5. Биоремедијација: МО могу бити коришћени за чишћење земљишта од загађења и токсина, што се назива биоремедијација. Имају способност да разграде различите штетне материје и претворе их у мање опасне форме.

Промене у климатским условима, загађивање и антропогени фактор могу дестабилизovati диверзитет и функционисање МО, што би могло имати далекосежне последице на биолошку разноврсност и процесе у терестричним екосистемима (Ren et al., 2019). Заштита и одржавање баланса микробиоте у земљишту има истакнуту значајност за одрживост и здравље земљишних екосистема. Многа истраживања доказују да раст и репродукција гљива у екосистему земљишта захтевају различите услове животне средине у односу на оне потребне бактеријама, као и да се разликују у осетљивости на промене у околини (Ren et al., 2019). МП је позната по утицају на диверзитет земљишта, при чему се може претпоставити да ће гљиве и бактерије имати различите реакције на присуство МП у истој средини (Zhang et al., 2021). Стога, важно је обратити пажњу на механизам којим МП мења састав и структуру заједнице бактерија и гљива у земљишту под истим условима.

Ren et al. (2022) су спровели истраживање при употреби ПЕ фолије, односно утицај честица ПЕ које настају његовим оштећењем и разлагањем на микроорганизме у ризосфери. У овој студији су евалуирани ефекти ниских (0,2% w/w), средњих (1% w/w) и високих (2% w/w) количина ПЕ честица, као и комбинација биомасе трске (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) (2% w/w) на факторе животне средине земљишта, бактеријске заједнице и метаболите у ризосфери трске, током 90-дневног микросимулационог циклуса. Облик и структура површине ПЕ честица у свакој групи третмана биле су подложне променама. Висока доза МП (2% w/w) значајно је повећала садржај укупног азота, калијума и фосфора у земљишту корена трске. Алфа диверзитет бактерија и биомаса трске нису били значајно погођени додатком ЛДПЕ МП, али β диверзитет бактеријске заједнице и релативна заступљеност испитиваних бактерија значајно су се променили додатком средњих (1% w/w) и високих (2% w/w) доза МП. Осим тога, спектрална анализа метаболита у земљишту је показала да је садржај тих метаболита промењен у свакој групи третмана, при чему су одређени метаболити значајно били повећани или смањени.

У истраживању које су спровели Zhang et al. (2019), МП прикупљена са поља памука (*Gossypium herbaceum* L.) у Хињиангу (Кина), анализирана је помоћу електронског микроскопа и секвенцирања високог протока како би се проучиле придружене бактеријске заједнице. Површине МП биле су колонизоване различитим МО, што указује на активну хидролизу пластичног отпада. Заједнице бактерија које су колонизовале МП значајно су се разликовале по структури од оних у околном земљишту, биљном отпаду и макропластици. Поред тога, статистичка анализа различито заступљених операционих таксономских јединица роказала је да МП делује као "посебан акумулатор МО" у пољопривредном земљишту, обогаћујући одређене таксономске групе које разграђују ПЕ као што су *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* и *Proteobacteria*. Анализа корелације открила је да су биотске интеракције између МО на МП једнако комплексне као и оне у земљишту, при чему се *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes* и *Bacteroidetes* сматрају кључним родовима у бактеријским заједницама. Оваква истраживања указују да МП делује као посебан хабитат за бактерије у пољопривредном земљишту.

Слично истраживање спровели су Fan et al. (2022) приликом инокулације земљишта како би се испитао утицај ПЕ, ПС и ПВЦ у концентрацијама од 7 и 14% (w/w) на активности ензима у земљишту, као и заједнице бактерија и гљива. Резултати су показали да су сва три типа МП стимулисала активности ензима у земљишту, при чему су 14% ПВЦ, 7% ПС и 14% ПЕ имали највећи утицај на активности каталазе, уреазе и алкалне фосфатазе. МП није променила специјски диверзитет, али јесте релативну заступљеност филума у земљишту. МП је утицала на повећање заступљености *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Ascomycota*, док је довела до смањења бројности *Acidobacteria*, *Basidiomycota* и *Chytridiomycota*. Реакција гљива на МП је био јача него код бактерија, а разноликост заједница гљива била је осетљивија на утицај МП него заједнице бактерија. ПВЦ је имао највећи утицај на разноликост микробних заједница. Ови резултати указују на то да утицај МП на микробне заједнице у земљишту зависи од типа и концентрације МП и да бактерије и гљиве другачије реагују на присуство МП.

Sun et al. (2021) су испитивали утицај МП (150 μm) са различитим полимерима ПЕ, ПС и ПП, као и четири облика ПП МП (vlakно, фолија, пена и честице), при сталној концентрацији од 1%, m/m на бактеријске заједнице у пољопривредном земљишту током 60 дана. Спроведени су третмани са различитим концентрацијама (0,01-20%, m/m) честица ПП микропластике (150 μm). Бактеријске заједнице у

третманима са ПЕ и ПП су имале сличан профил, али су се разликовале од оних у земљишту инокулираном са ПС, што указује на значај структуре полимера у модулатији одговора бактерија у земљишту. Влакно, пена и фолија значајно су утицали на састав бактерија у земљишту у поређењу са честицама. Постојала је значајна корелација ($R^2=0,592$; за $p<0,001$), између диверзитета заједница бактерија у земљишту и промене концентрације МП. Разлика у заједницама бактерија у земљишту била је статистички значајно повезана са променама концентрације МП, те су бактерије које припадају групи *Patescibacteria* биле највише подложне контаминацијом МП. Такође, уочено је да МП различитих карактеристика изазива другачије ефекте на функцију микробних заједница.

3. Циљ истраживања

Циљ истраживања ове докторске дисертације је да се испита утицај фрагмената МП на три групе биоиндикатора квалитета земљишта, у зависности од типа земљишта. Утицај МП је испитан на три групе биоиндикатора: (1) биљке – преко параметара раста и развоја сунцокрета (*Helianthus annuus* L., хибрид Круна) и уљане репице (*Brassica napus* L., сорта Златка), као и преко параметара оксидативног стреса, (2) глисте – преко морталитета и промене биомасе глиста *Esenia fetida* (Savigny, 1826) и индукције оксидативног стреса и (3) бактерије – преко промена у биодиверзитету и праћењем садржаја фталата.

Предмет истраживања дисертације обухватио је проучавање утицаја више врста МП инокулиране у узорке земље прикупљене са пољопривредних површина, у симулираним агробиотопима мање запремине, при реалним метеоролошким условима, у третманима огледа у којима су били присутне и/или одсутне малочекињасте глисте, биљке и МО. Сваки третман огледа је изведен у пет понављања употребом два типа земљишта различитих физичко-хемијских карактеристика, како би се што реалније симулирали услови који владају у агроекосистемима.

Добијени резултати ће помоћи да се одреди у ком степену МП, и који тип МП, штетно делује на терестричне екосистеме, нарочито на земљишта намењена пољопривредној производњи, као и на живи свет у њему, како би се на основу закључака скренула пажња јавности и што више смањила употреба и потрошња пластичних материјала.

4. Материјал и методе

4.1. Коришћене хемикалије

- NaOH, натријум хидроксид 99,6% (OAD Kaustik, Russia)
- H₂SO₄, сумпорна киселина (Carl Roth GmbH + Co KG, Germany)
- C₆H₆O₂, резорцинол (Fengchen group co., ltd., China)
- C₂H₆O, етанол (Carl Roth GmbH + Co KG, Germany)
- Фосфатни пуфер (Chem-Lab, Belgium)
- Амонијум лактат, J.T. Baker (Mallinckrodt Baker, Inc., Phillipsburg, NJ, USA)
- Етилен диамин тетра сирћетна киселина (EDTA) (Merck, Germany)
- Метионин (Sigma-Aldrich, USA)
- Нитроблу тетразолиум (NBT) (Sigma-Aldrich, USA)
- Рибофлавин (Merck, Germany)
- Водоник-пероксид (H₂O₂) (Merck, Germany)
- Гвајакол (Sigma-Aldrich, USA)
- Тиобарбитурна киселина (ТВА) (Sigma-Aldrich, USA)
- Трихлорсирћетна киселина (ТСА) (Merck, Germany)
- Folin-Сiocalteu реагенс (Sigma-Aldrich, USA)
- Метилен-плави реагенс (Sigma-Aldrich, USA)
- Алуминијум-хлорид (AlCl₃) (Sigma-Aldrich, USA)
- DPPH (2,2-дисфенил-1-пикрилхидразил) (Sigma-Aldrich, USA)

4.2. Коришћене подлоге

- Азотобактер агар (Chaitanya Agro Biotech Pvt. Ltd.)
- Месопептонски агар (Chaitanya Agro Biotech Pvt. Ltd.)

4.3. Коришћена опрема

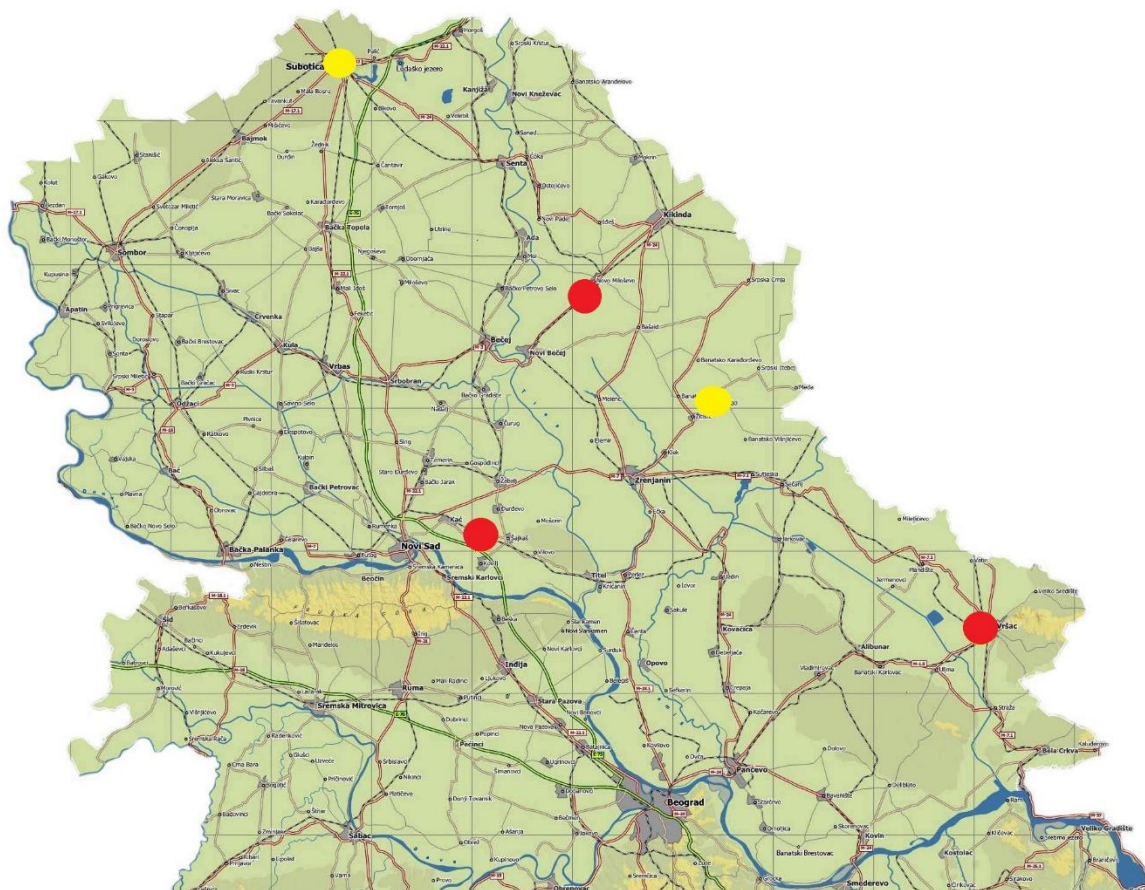
- Ултразвучна када (Vabsonic VAB-SB- 6LT)
- Спектрофотометар (Colo, модел LEGEND6S) опсега 190 - 1100 nm
- Спектрофотометар (UV-Vis, модел Shimadzu UV-1800)
- Поликрон хомогенизатор (модел Heidolph SilentCrusher M)
- Вортекс миксер (Vortex-Genie 2, модел Scientific Industries)
- UV-VIS спектрофотометар, Cary 60 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)
- Атомски апсорпциони спектрометар (Perkin Elmer, Atomic Absorption Spectrometer, Analyst 700)
- Аналитичка вага Kern 440-47N (KERN& SOHN GmbH, Lörrach, Germany)
- Дигитална вага (Savage Gear M, 0,01 kg до10 kg)
- Кондуктометар (Hanna model HI 933000)
- Elementar LiquiTOCII
- WTW 340i, SenTix®21 електрода, рН метар
- Анализатор VarioEL III (Elementar, Germany)
- Nicolet iS20 FTIR spectrometer (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Инкубатор (EN 055 NUVE, Turkey)
- Преносиви турбидиметар TB211 IR
- Пластичне саксије (Brand Pack Zrenjanin, 50x18cm)
- Сито (Haver & Boecker, \varnothing 200 mm, мрежа 35.5 mm)
- Петријеве шоље (Steriplan roth, 60 x15 mm)

4.4. Узорковање земљишта

У оквиру овог истраживања, коришћена су два типа земљишта са локалитета Торак (средњи Банат) и Суботица (северна Бачка) (Слика 6). Земљиште је сондом узорковано са дубине до 30 cm. Узорковање земљишта је изведено на парцелама величине 5 ha, са више места по принципу случајног избора, након чега је хомогенизовано. Маса хомогенизованог земљишта са једног локалитета је износила 150 kg и транспортована је до стакленика на Пољопривредном факултету Универзитета у Новом Саду.

Пет година пре узорковања, земљиште није било третирано агрохемијским средствима. Стога, за потребе даљих анализа, земљиште није било стерилисано и очувано је његово природно стање, како би се у биотестовима избегли утицаји других фактора.

Прикупљени узорци земљишта су сушени на ваздуху и уситњени до величине честица <math>< 2 \text{ mm}</math>, према ISO 11464: 2004.



Слика 6. Мапа са локалитетима где је прикупљено земљиште (жута) и локалитетима узорковања пластичног репроматеријала (црвено) (извор: оригинал)

4.4.1. Анализе земљишта

Вредност рН суспензије земљишта у води и 1М КСl, садржај органске материје и садржај слободног СаСО₃ анализирани су коришћењем стандардизованих ISO метода: 10390:1994, ISO 14235:1998 и ISO 10693:1995. Величина честица је процењена након фракције честица: крупан песак (200-2000 μm), ситан песак (20-200 μm), муљ (20 μm) и глина (2 μm). Фракционисање је извршено путем методе просејавања и

пипетирања према Van Reeuwijk (2002). Укупан азот је одређен помоћу одређивања садржаја аутоматском методом (CHNS елементарне анализе), према АОАС званичној методи 972.43: 2000. Лако доступан фосфор у земљишту одређен је екстракцијом амонијум-лактатом (Egner et al., 1960), при чему је детекција извршена спектрофотометријски на таласној дужини од 830 nm помоћу фосфомолибдатно-плаве методе (Murphy and Riley, 1962).

4.5. Узорковање платичног материјала

Пластични репроматеријали су прикупљени по принципу случајног избора са локалитета Будисава (малч фолија са пољопривредног земљишта) и са два локалитета у Банату (Вршац и Ново Милошево) (цакови од употребљеног минералног ђубрива и амбалажа у којој су се налазили пестициди) (Слика 6).

4.5.1. Анализа пластике

За квалитативну и квантитативну анализу полимера МП коришћена је ФТИР метода. ФТИР спектрометри пружају поуздане и прецизне резултате, чак и за узорке најмањег дијаметра МП.

Узорци МП су при различитим експерименталним условима окарактерисани применом инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовом трансформацијом (ФТИР). ФТИР анализа је изведена у опсегу од 4000-400 cm^{-1} у дифузном режиму рефлексије, на резолуцији од 4 cm^{-1} са брзином од 60 скенова по анализи. Добијени ФТИР спектри су након снимања поређени са доступном литературом и софтверском библиотеком података. За ФТИР анализу добијених спектра коришћене су следеће софтверске библиотеке: Polymer Additives and Plasticizers, Aldrich Polymers, Aldrich Vapor Phase Sample library, Aldrich Condensed Phase Sample library, Synthetic Fibers by Microscope, HR Spectra Polymers and Plasticizers by ATR – corrected, Humel Polymer Sample Library. Критеријум за квалитативну анализу према „library search“ методи биле су „similarity match“ вредности као и асигнација трака. Коришћене су „similarity match“ вредности преко 60% и барем две врло интензивне траке карактеристичне за дату врсту полимера МП.

4.6. Анализа воде

Током извођења свих огледа влажност земљишта је одржавана редовним заливањем водом, која је узоркована са факултетског система за наводњавање ботаничке баште. Том приликом анализирани су следећи параметри:

- рН вредност воде је мерена помоћу рН-метра према методи SRPS H.Zi.111:1987.
- Анализа електричне проводљивости узорака воде је изведена коришћењем кондуктометра.
- Мутноћа је одређена нефелометријски, према стандардном формазин полимеру, на преносивом турбидиметру.
- Концентрација укупног органског угљеника (eng. Total organic carbon, ТОЦ) су анализирани коришћењем апарата Elementar VarioTOC (Germany), након филтрирања узорка воде кроз мембрански филтер од целулозног нитрата са порозношћу од 0,45 μm , према методи SRPS ISO 8245:2007. Практична граница квантитације је 0,5 mg/l.
- Укупан садржај одабраних метала је одређен помоћу атомског апсорпционог спектрометра за Na, K, Ca, Mg, Fe (према FAAS - EPA 7000b), Mn (према GFAAS - EPA 7010), Hg (према CVAAS - EN ISO 12846:2013), Ni, Zn, Pb, Cd, Cu, Cr, As и Al (према ICP-MS - EPA 6020b). Лимити детекције методе за одабране метале су биле 0.001 mg/L.

Карактеристике коришћене воде за наводњавање су дате у Табели 3. На основу резултата карактеризације коришћене воде, рН је био неутралан ($\text{pH}=7,21$), електрична проводљивост $518 \mu\text{S cm}^{-1}$, а замућеност и концентрација укупног органског угљеника су биле ниске, 0,41 NTU и $1,46 \text{ mg C l}^{-1}$, респективно. Такође, концентрације свих одабраних метала биле су испод границе детекције, осим за Na, K, Ca и Mg, чије су концентрације биле $31,46 \text{ mg l}^{-1}$, $3,862 \text{ mg l}^{-1}$, $69,4 \text{ mg l}^{-1}$ и $17,21 \text{ mg l}^{-1}$, респективно. Поред тога, концентрације за Cu и Cr су биле $14,59 \mu\text{g l}^{-1}$ и $4,56 \mu\text{g l}^{-1}$. Узимањем у обзир рН вредности, ТОЦ, мутноћа и концентрације метала, може се закључити да је вода коришћена за наводњавање прошла кроз јединице за третман воде и може се користити за те сврхе.

Табела 3. Хемијски састав воде за наводњавање

	рН	7,21
	Еп*	518 $\mu\text{S cm}^{-1}$
	Мутноћа	0,41 NTU
	ТОЦ**	1,46 mg C l ⁻¹
Метали	Гвожђе (Fe)	<0,1 mg l ⁻¹
	Манган (Mn)	<2,34 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Никл (Ni)	<2,2 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Цинк (Zn)	0,033 mg l ⁻¹
	Кадмијум (Cd)	<0,015 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Хром (Cr)	4,56 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Бакар (Cu)	14,59 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Олово (Pb)	<5,9 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Арсен (As)	<2,60 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Жива (Hg)	<0,5 $\mu\text{g l}^{-1}$
	Натријум (Na)	31,46 mg l ⁻¹
	Калијум (K)	3,862 mg l ⁻¹
	Калцијум (Ca)	69,4 mg l ⁻¹
Магнезијум (Mg)	17,21 mg l ⁻¹	

*епоксид; ** укупни органски угљеник

4.7. Тест организми

У експериментима је коришћено нетретирано семе сунцокрета (*Helianthus annuus* L., хибрид Круна) и уљане репице (*Brassica napus* L., сорта Златка) из Института за ратарство и повртарство, Института од националног значаја за Републику Србију.

Компост са кишним глистама врста *Esenia fetida* (Savigny, 1826), различитих узрасних стадијума је купљен на фарми за производњу органског глистењака и узгој глиста у Апатину.

4.7.1. Методе утицаја микропластике на тест организме

Методе које су се користиле за одређивање утицаја МП на раст и развој биљака заснивале су се на мерењу суве и свеже масе биљака помоћу аналитичке ваге, као и мерењу дужине корена и поника за сваку биљну врсту у свим варијантама које су садржале биљку.

Коришћене методе у циљу одређивања утицаја МП на физиолошке и популационе карактеристике *E. fetida* урађене су у складу са ISO стандардима, односно SRPS EN ISO 11268-1: 2016, SRPS EN ISO 17512-1: 2020 и SRPS EN ISO 11268-2: 2023.

Методе за одређивање оксидативног стреса код биљака и глиста урађене су употребом спектрофотометријске методе. У оквиру анализа урађене су активности ензимских параметара оксидативног стреса: супероксид дисмутаза (СОД), каталаза (КАТ) и пероксидаза (ПОД), као и интензитета липидне пероксидације. У сувом биљном материјалу одређен је садржај укупних фенола, танина и флавоноида, као и антиоксидативни капацитет помоћу стандардизованих тестова.

За одређивање микробиолошког статуса земљишта коришћена је метода бројања колонија (Colony Forming Units - CFU) на чврстим подлогама.. Узорци земљишта су растворени у стерилном физиолошком раствору и серијски разблаживани. Разблажени узорци су потом засејани на подлози и стављени на инкубацију на температури од 30 °C. Колоније бактерија су избројане након инкубације, а резултат је изражен као број јединица формирања колонија (ЦФУ) по

граму сувог земљишта – ЦФУ g^{-1} . За истраживање специфичних група МО, као што су азотобактери, коришћене су селективне подлоге, попут азотобактер агара. Из узорака земљишта је екстрахован ДНК. Полимеразна ланчана реакција (PCR) је примењена за амплификацију сегмената ДНК, 16S рДНК за бактерије. Овако амплификовани сегменти су припремани за секвенцирање. Припремљена библиотека је затим послата на секвенцирање на платформи MiSeq, 2x300 bp дужина секвенци. Након секвенцирања, подаци су обрађени употребом програмском језика Python, верзија 3.10, помоћу биоинформатичких пакета чиме је урађена идентификација и квантитативна процена врста МО у узорку. Коришћењем пакета, анализирана је структура микробиолошких заједница, проценат разноврсности и утврђене статистички значајне разлике између узорака.

4.8. Структура огледа утицаја МП на три групе биоиндикатора

У оквиру истраживања, тестирани су утицаји МП на три групе биоиндикатора биљке, глисте и земљишне МО.

Експерименти су одрађени у пластичним жардињерама, у којима је садржано 4 kg земље у свакој жардињери, са два локалитета, Торак и Суботица, односно два типа земљишта.

УЗОРАК	ЗЕМЉИШТЕ	МП	БИЉКЕ	ГЛИСТЕ
1 КОНТРОЛА	+	-	-	-
2	+	+	-	-
3	+	-	+	-
4	+	-	-	+
5	+	+	+	-
6	+	+	-	+
7	+	-	+	+
8	+	+	+	+

Шема 1. План огледа

Огледни систем је подразумевао постављање сваке серије третмана огледа у пет понављања, при чему су узорци у којима је додавана МП садржавали 100 mg овог материјала (40 mg МП малч фолије, 40 mg МП цака минералног ђубрива и 20 mg МП паковања пестицида).

4.8.1. Биљке

За потребе испитивања утицаја МП на гајене биљке, као биоиндикатори су одабрани сунцокрет и уљана репица. Биљке су посејане у различитим третманима, у укупно 28 саксија, при чему је коришћено по седам семена сунцокрета по саксији и 14 семена уљане репице. Свака саксија је садржала 4 kg земљишта, са два локалитета (Суботица и Торак). Биљке су се развијале у саксијама укупно 28 дана (Слика 7).

Након 28 дана, биљке су пажљиво извађене из земље како се не би оштетио коренов систем. Корен је опран и осушен. Прво су измерене дужине стабла и корена биљке (mm), затим свежа маса целе биљке, након чега је раздвојен корен од стабла. Посебно је измерена свежа маса корена (g), а посебно маса стабла (g). По мерењу, биљке су остављене да се природно суше те је након 48 сати мерена сува маса корена (g) и стабла (g).



Слика 7. Биљке у стакленику (оригинал)

4.8.2. Глисте

Пре почетка експеримента, глисте су пет дана провеле у саксијама без МП како би се физиолошки кондиционирале на нову средину и земљу, а затим је додата МП. За потребе огледа коришћени су адултни и јувенилни стадијуми глиста. У обележене саксије је интродуковано по 10 адултних и 20 јувенилних јединки. За адултне јединке су сматране оне које су поседовале у потпуности развијен клителум и чија је индивидуална маса износила преко 300 mg. Непосредно пре интродукције, глисте су измерене на аналитичкој ваги ради одређивања биомасе. Након 28 дана, преостале живе глисте су пажљиво извађене из саксија, опране у дестилованој води, благим покретима осушене на филтер хартији и измерене на аналитичкој ваги. Угинуће је бележено када су јединке нестале из саксија или су затечене у мање или више сасушеном облику. Такође, јединке глиста су се сматрале угинулим када нису показивале реакцију након додира четкицом. У циљу поређења промена у биомаси и процента морталитета примењена је Schneider-Orelli формула за израчунавање коригованог процента морталитета (Püntener, 1981):

$$M_{\text{korigovano}} (\%) = (\%M_t - \%M_c) / (100 - \%M_c) \times 100$$

где је:

$M_{\text{korigovano}} (\%)$ – кориговани проценат морталитета глиста;

$\%M_t$ – проценат морталитета глиста у узорцима земље спајковане са МП;

$\%M_c$ - проценат морталитета глиста у узорцима земље без МП.

4.8.3. Биохемијски параметри: оксидативни стрес

Методe одређивања оксидативног стреса код биљака и глиста урађене су спектрофотометријски. Одређивање активности ензимских параметара оксидативног стреса, обухватило је мерење активности СОД, КАТ ПОД и ИЛП. У сувом биљном материјалу одређен је садржај укупних фенола, танина и флавоноида, као и антиоксидативни капацитет помоћу стандардизованих тестова.

Узорци глиста (*Eisenia fetida*) су хомогенизовани у 0,1 М фосфатном пуферу (pH 7,0) и центрифугирани при 10,000 rpm током 15 минута на 4 °C. СОД је одређена инхибицијом редукције нитроблуе тетразолиума (NBT) (Beauchamp and Fridovich, 1971), при чему је реакциона смеша: 0,1 М фосфатни пуфер, 0,1 mM EDTA, 0,01 М метионин, 75 µM NBT, 2 µM рибофлавин затим је додато 100 µL супернатанта при чему је реакција иницирана светлошћу током 10 минута. КАТ је одређена методом разградње водоник-пероксида (H₂O₂) (Aebi, 1984), при чему је реакциона смеша била 0,1 М фосфатни пуфер (pH 7,0) и 30 mM H₂O₂. Мерено је смањење апсорбанце на 240 nm током 1 минута. ПОД је одређена методом оксидовања гвајакола са реакционом смешом која је садржала 0,1 М фосфатног пуфера (pH 7,0), 20 mM гвајакола и 10 mM H₂O₂, при чему је додато 100 µL супернатанта (Lin and Као, 1999). Мерено је повећање апсорбанце на 470 nm током 1 минута. ИЛП је одређен тиобарбитурном методом (ТБА) (Gao et al., 2013). Смеша је садржала 1 ml супернатанта и 2 ml ТБА реагенса (0,5% ТБА у 20% трихлорне киселине (ТЦА)). Затим је смеша загрејана и кувана 15 минута на 95 °C, након чега је извршено брзо хлађење и центрифугирање при 4000 rpm 10 минута. Спектрофотометријски је измерена апсорбанца смеше на 600 nm.

Свеж биљни материјал је исецкан и осушен на собној температури. Самлевен је у прах, при чему се припремљени прах користио за екстракцију биоактивних једињења. Екстракција је извршена са 70% етанолом у размери 1:10 (g/ml) на собној температури, уз стално мешање током 24 сата. Укупни феноли су одређени Folin-Ciocalteu методом (Singleton et al., 1999). У 0,1 ml екстракта додато је 0,5 ml Folin-Ciocalteu реагенса и 1 ml 7,5% Na₂CO₃. Након инкубације на тамном месту 30 минута, апсорбанца је мерена на 765 nm. Танини су одређени методом са метилен-плавим реагенсом (Okuda and Murakami, 1977). У 1 ml екстракта додато је 1 ml метилен-плавог реагенса. Апсорбанца је мерена на 600 nm након 20 минута. Флавоноиди су одређени алуминијум-хлорид методом (Heimler et al., 2005). У 1 ml екстракта додато је 1 ml 2% AlCl₃ у етанолу. Након 30 минута инкубације на тамном месту, апсорбанца је мерена на 430 nm. Антиоксидативни капацитет је одређен DPPH (2,2-дисфенил-1-пикрилхидразил) методом. У 0,1 ml екстракта додато је 3 ml DPPH раствора (0,004% у метанолу). Апсорбанца је мерена на 517 nm након 30 минута инкубације на тамном месту.

4.8.4. Микроорганизми

У микробиолошким истраживањима је извршено серијско разблажење у узорцима ради квантификације високе концентрације бактерија. Овај поступак је подразумевао припрему узорка, односно његову хомогенизацију, након чега се узимао 1 ml узорка и додавао у 9 ml стерилни фосфатни пуфер (ПБС), чиме се постигло прво разблажење од 10^{-1} . Процес се настављао серијским преносом 1 ml из претходне епрувете у наредну, сваки пут додајући у 9 ml разблаживача, све до жељеног нивоа разблажења. Из сваке епрувете у серији, 100 μ L разблаженог узорка се инокулирало на Петријеве шоље које су претходно припремљене са месопептонским агаром (МПА), а потом се инкубирале на 30 °C, 48 сати. Након инкубације, вршило се пребројавање колонија. Број колонија се користио за израчунавање укупног броја бактерија у оригиналном узорку, узимајући у обзир фактор разблажења. Формула за израчунавање ЦФУ је:

$$\frac{\text{ЦФУ}}{\text{ml}} = \frac{\text{број колонија}}{\text{запремина узорка} \times \text{разблажење}}$$

при чему је:

- Број колонија: укупан број колонија које су видљиве и које се могу пребројати на Петријевој шољи након инкубације.
- Запремина узорка: количина узорка који је инокулиран на хранљиву подлогу (ml)
- Разређење: фактор којим је оригинални узорак разређен.

ДНК је изолована из узорака земљишта користећи ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research) који је специфично дизајниран за ефикасно и поуздано издвајање висококвалитетне ДНК из микробиомских узорака. Након изолације, концентрација и чистоћа ДНК су читаване спектрофотометријски на 230, 260 и 280 nm. На овај начин је одређена концентрација и чистоћа саме ДНК (Barbas et al., 2001). Провера омогућава потврду адекватне концентрације и чистоће ДНК за даље анализе. Секвенцирање је извршено помоћу Illumina MiSeq платформе, при чему су генерисане секвенце дужине 300 bp.

За анализу микробиомске заједнице коришћен је програмски пакет QIIME 2 (2023.9 верзија). Секвенце су прво демултиплексиране коришћењем DADA2 алата унутар QIIME 2 система. Тримовање и филтрирање секвенци су вршени тако да су оба краја секвенци скраћена на 300 bp без додатног отклањања база са почетка секвенци. Након демултиплексирања, идентификовани су репрезентативни низови, који су затим коришћени за стварање OTU табеле помоћу алгорита отворене референтне кластеризације VSEARCH са постотком идентитета од 99% (Rognes et al., 2016).

Таксономска класификација је изведена коришћењем тренираног класификатора на основу SILVA базе података верзија 138-99 (Quast et al., 2013), примењена на OTU секвенце и репрезентативне DADA2 секвенце. Резултати класификације су приказани помоћу алата за табулацију метаподатака и визуелизовани као таксономски барплоти, где су метаподаци коришћени за груписање и приказивање релативне абунданције таксона унутар узорака.

За процену алфа диверзитета коришћен је широк спектар метрика, укључујући Shannonov индекс и Faithov-а филогенијска разноликост. Алфа диверзитет за сваку метрику је израчунат и визуелизован да би се проценила унутрашња микробиомска разноликост унутар узорака (Bolyen et al., 2019). Значајност разлика у алфа диверзитету између група анализирана је помоћу статистичких тестова унутар QIIME 2.

4.8.5. Одређивање фталата у земљишту

Анализом концентрације фталата према Yanagisawa and Fujimaki (2019) у земљишту процењен је степен бактеријске биоразградње МП. За колориметријско одређивање фталата, узорак који садржи МП (100 mg) и $20 \pm 4 \mu\text{mol g}^{-1}$ фталата је стављен у епрувету. Додат је етанол (2,0 ml) и изведена је ултразвучна екстракција током 30 минута. Након уклањања полимерног узорка из епрувете, екстракти су обрађени и коришћени за синтезу флуоресцеина. Флуоресцеин је синтетисан селективном реакцијом фталног анхидрида (0; 8,35; 29,9; 79,6 и 140 μmol) са ресорцинолом (130 μmol), при чему је коришћена концентрисана сумпорна киселина (100 μL) као катализатор. Присуство фталата је одређено колориметријски у раствору разблаженом 300 пута помоћу спектрофотометра на таласној дужини од 494 nm.

4.9. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података извршена је коришћењем софтверског пакета Statistika 14.0.0.15 (TIBCO, Software Inc., Универзитетска лиценца) уз употребу одговарајућих статистичких метода: анализа варијансе, корелација и регресиона анализа, а утврђене значајности су тестиране Фишеровим и Данкановим тестом.

Подаци о бројности бактерија прикупљени су за сваки узорак и анализирани коришћењем статистичких тестова како би се утврдиле значајне разлике у микробиолошкој активности између узорака. Иницијално је спроведен тест нормалне дистрибуције Shapiro-Wilk како би се верификовала нормалност дистрибуције података, што је кључни услов за примену параметарских статистичких тестова.

Након потврде нормалности дистрибуције, изведена је једнофакторијална анализа варијансе (АНОВА) за процену постојања статистички значајних разлика између средњих вредности бројности бактерија различитих узорака. АНОВА омогућава анализу утицаја различитих третмана или категорија узорака на променљиву интереса, у овом случају, укупну бројност бактерија.

За додатну спецификацију парова узорака између којих постоје статистички значајне разлике са прагом значајности $p < 0,05$, примењен је Данканов тест, који се користи за идентификацију хомогених подскупова унутар група. Унутар ових подгрупа узорци се не разликују значајно по средњим вредностима, док су разлике између подгрупа статистички значајне.

5. Резултати и дискусија

5.1. Анализа земљишта

Анализа механичког састава земљишта је кључна за разумевање његових карактеристика и потенцијалне примене у пољопривреди, као и утицаја микропластике. У овом истраживању, користили смо два узорка земљишта - узорак „Торак“ који припада класи глиновите иловаче, и узорак „Суботица“ који је класификован као песковита иловача према стандардима Међународног друштва за проучавање земљишта (IUSS). У Табели 4 приказани су резултати анализе физичких особина прикупљених узорака.

Табела 4. Физичке особине анализираних узорака земљишта

Узорак	Крупни песак (%)	Ситни песак (%)	Муљ (%)	Глина (%)	Класа земљишта према текстури (према IUSS*)
	2-0,2 mm	0,2-0,02 mm	0,02-0,002 mm	< 0,002 mm	
Торак	1,26	35,50	30,20	33,04	Глинала иловача
Суботица	36,43	56,25	4,84	2,48	Песковита иловача

*International Union of Soil Sciences

Узорак земљишта са локације „Торак“ карактерише висок проценат глине (33,04%) и значајно присуство ситног песка (35,50%), док је количина крупног песка и муља мања. Ови резултати указују на типичну структуру глиновите иловаче коју карактерише лоша дренажа и тешкоће у обради земљишта. Висок удео глине може допринети компактности земљишта и смањењу пропустљивости за воду и ваздух, при чему је примећено задржавање микропластичних честица.

С друге стране, узорак земљишта са локалитета „Суботица“ карактерише висок проценат ситног песка (56,25%) и значајан удео крупног песка (36,43%). Ово указује на структуру песковите иловаче, која има бољу дренажу и ваздушни капацитет у

поређењу са глиновитом иловачом. Међутим, релативно мали удео глине и муља у овом узорку може резултирати лошијом способношћу задржавања воде и хранљивих материја, па самим тим и микропластичних честица које, у овом случају могу доспети у дубље слојеве земљишта.

Осим тога, узорци земљишта су се разликовали и у погледу расподеле честица по величини, што додатно утиче на њихова својства и карактеристике. Узорак „Торак“ показује већи удео финих фракција (0,02-0,002 mm) у односу на узорак „Суботица“, што може допринети већој кохезији и тежој обради земљишта.

Узимајући у обзир ове резултате, може се закључити да су оба узорка земљишта карактеристична за одређене текстурне класе, са својим специфичним предностима и изазовима у пољопривреди и другим секторима. У Табели 5 приказана су хемијска својства полазних, нефракционисаних узорака.

Табела 5. Хемијске особине анализираних узорака земљишта

Узорак	рН		CaCO ₃ (%)	Органска материја (%)	Укупни N (%)	AL-P ₂ O ₅ Mg 100 g ⁻¹	AL-K ₂ O mg 100g ⁻¹
	у KCl	у H ₂ O					
Торак	7,32	8,33	10,66	3,11	0,213	18,66	42,69
Суботица	6,86	7,27	2,27	5,17	0,332	18,25	31,74

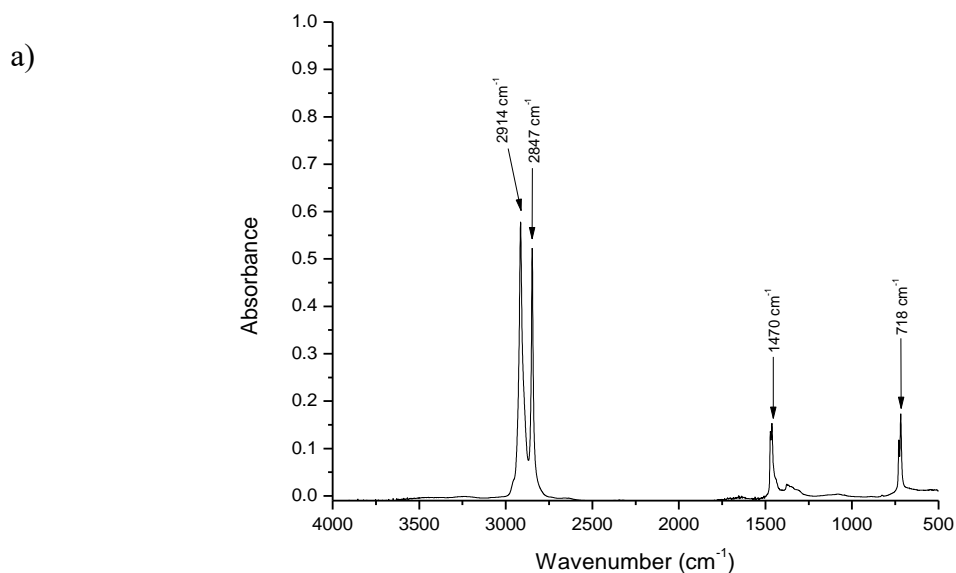
За оба узорка земљишта рН вредности (7,27-8,33) припадају категорији слабо алкалних до алкалних земљишта. Садржај органске материје се веома разликује, па је у узорку „Торак“ садржај хумуса 3,11% и припада класи доста хумозног земљишта, док је у земљишту „Суботица“ садржај органске материје 5,15% и припада класи добро обезбеђене садржајем хумуса. У садржају фосфора не постоје већа одступања (интервал је од 18,66 до 18,25 mg 100 g⁻¹), што одговара средњем до оптималном садржају лако приступачног фосфора. Садржај карбоната варирао је од 2,27 до 10,66%. Узорак „Суботица“ припада групи слабо карбонатних, а узорак „Торак“ групи јако карбонатних земљишта. Укупни азот у оба узорка сврстава ова земљишта у класу земљишта богатих азотом (0,213-0,332). Калијум је у узорку „Торак“ био врло висок, односно претерано обезбеђен (42,69%), а у узорку „Суботица“ висок (31,74%).

Guo и сар. (2022) су испитивали утицај различитих величина (20, 200 и 500 µm) и концентрација полипропиленске микропластике (до 6%) на земљишта различитих карактеристика (иловача, глина и песак). Ово истраживање је доказало да

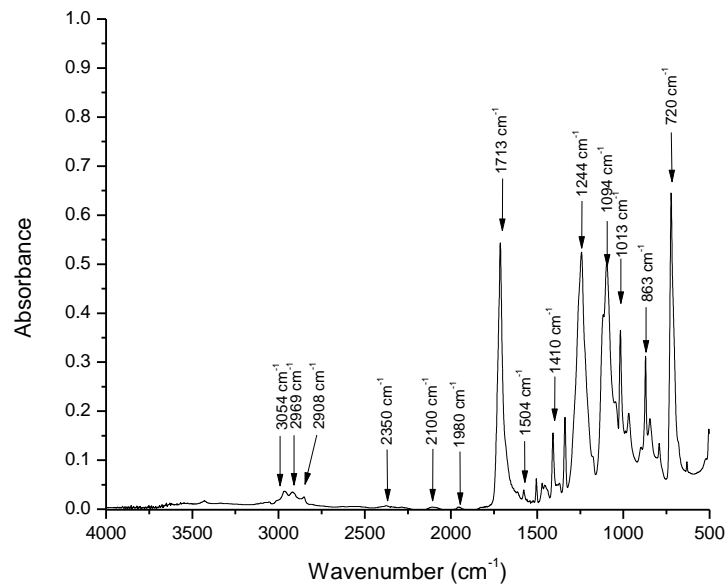
микропластика утиче у великој мери на кретање воде у три различита типа земљишта значајно смањујући инфилтрацију и задржавање. Интеракција између микропластике и земљишта изменила је расподелу величине пора земљишта, и смањила њихову доступност. Утврђено је да микропластика има већи утицај на глиновито земљиште, које има већи садржај глине и органских материја.

5.2. Анализа типова микропластике

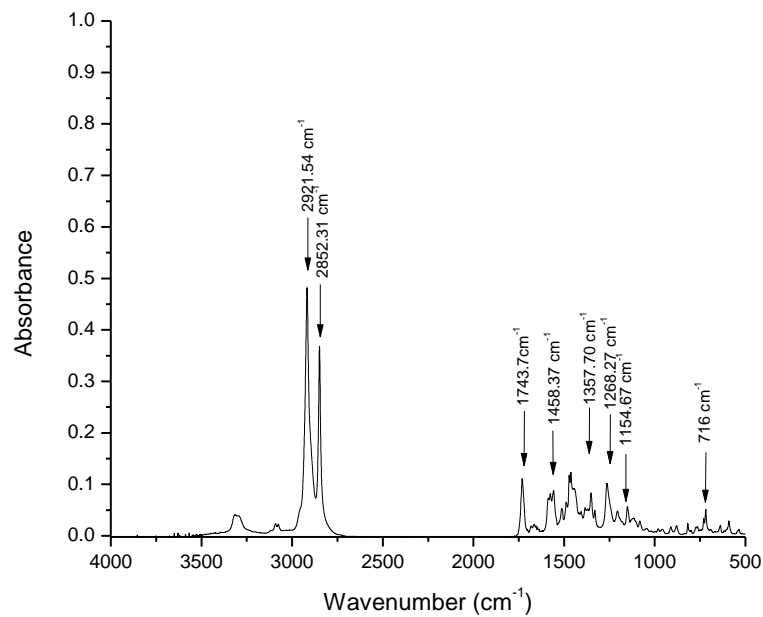
Помоћу ФТИР анализе најпре је извршена карактеризација чистих материјала који су коришћени током експеримента, малч фолија (Слика 8а), џак ђубрива (Слика 8б) и амбалажа пестицида (Слика 8в). Резултати ФТИР анализе претходно поменутих материјала пре спровођења експеримента приказани су на Слици 8.



б)



в)



Слика 8. ФТИР спектри (а) малч фолије, (б) цака и (в) амбалаже пестицида пре спровођења експеримента

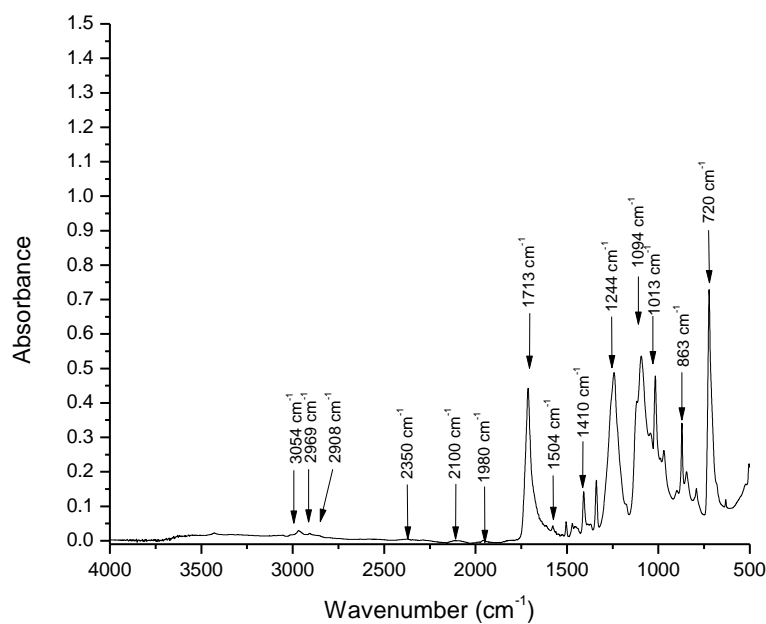
На основу ФТИР спектра приказаних на Слици 8а уочавају се карактеристичне траке на таласним дужинама 2914, 2847, 1470 и 718 cm⁻¹ које одговарају структури ПЕ. Додатно, на Слици 8б приказан је ФТИР спектар добијен за узорак цака ђубрива коришћеног током експеримента. На основу резултата ФТИР

анализе могу се уочити карактеристичне траке за ПЕТ на 2956 cm^{-1} (C–H истезање типично за $-\text{CH}_2$ и $-\text{CH}_3$ функционалне групе), 1713 cm^{-1} (C=O спрезање специфично за кето групу), 1409 cm^{-1} (C–O истезање и деформација O–H групе), 1238 cm^{-1} (карактеристично за терефталатну функционалну групу, $-\text{OOC}_6\text{H}_4-\text{COO}$), 1091 cm^{-1} (вибрације етарске C–O везе) и 1016 cm^{-1} карактеристичне за вибрације које потичу од бензеновог прстена (Andanson и Kazarian, 2008; Dos Santos Pereira et al., 2017).

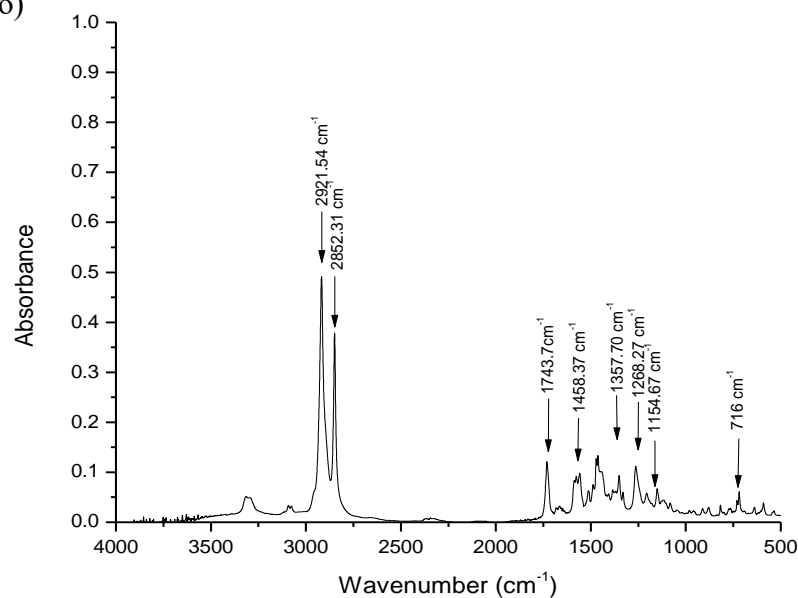
ФТИР спектар добијен приликом анализе амбалаже пестицида приказан је на Слици 8в, где се могу уочити специфичне траке за пестицид који у свом саставу има активну компоненту једињење тифенсулфурон-метил. Специфичне траке за тифенсулфурон-метил налазе се на $2921,54$; $2852,31$; $1743,72$; $1458,37$; $1357,70$; $1268,27$; $1160,58$ и 716 cm^{-1} . Интезивне траке на $2921,54$ и $2852,31\text{ cm}^{-1}$ представљају специфичне траке за C–H вибрације карактеристичне за истезање алкил групе. Додатно, на $1743,72\text{ cm}^{-1}$ вибрације које су специфичне за спрезање C=O групе у карбонилној групи, а на $1458,37$ и $1160,58\text{ cm}^{-1}$ вибрације које указују на присуство C–O спрезање карбоксилне и етарске (C–O–C) функционалне групе, редом. Такође се на Слици 8в могу уочити траке на $1357,70$ и $1268,27\text{ cm}^{-1}$ које указују на истежуће деформације C–O функционалне групе као и трака на 712 cm^{-1} специфична за интеракцију поларне етарске групе и ароматичног прстена (Наџ et al., 2021, Dos Santos Pereira et al., 2017).

На Слици 9 приказани су ФТИР спектри узорка цака ђубрива и амбалаже пестицида узорковане на локалитетима Торак и Суботица при различитим експерименталним условима. Визуелном карактеризацијом, у свим узоркованим материјалима уочене су три различите врсте материјала. Резултати добијени за ФТИР спектре који потичу од примењеног цака ђубрива и амбалаже пестицида не указују на промене у структури ових материјала током експеримента, те је на Слици 9 приказан пример ФТИР спектра добијеног за анализу МП које води порекло од цака ђубрива и амбалаже пестицида.

а)



б)

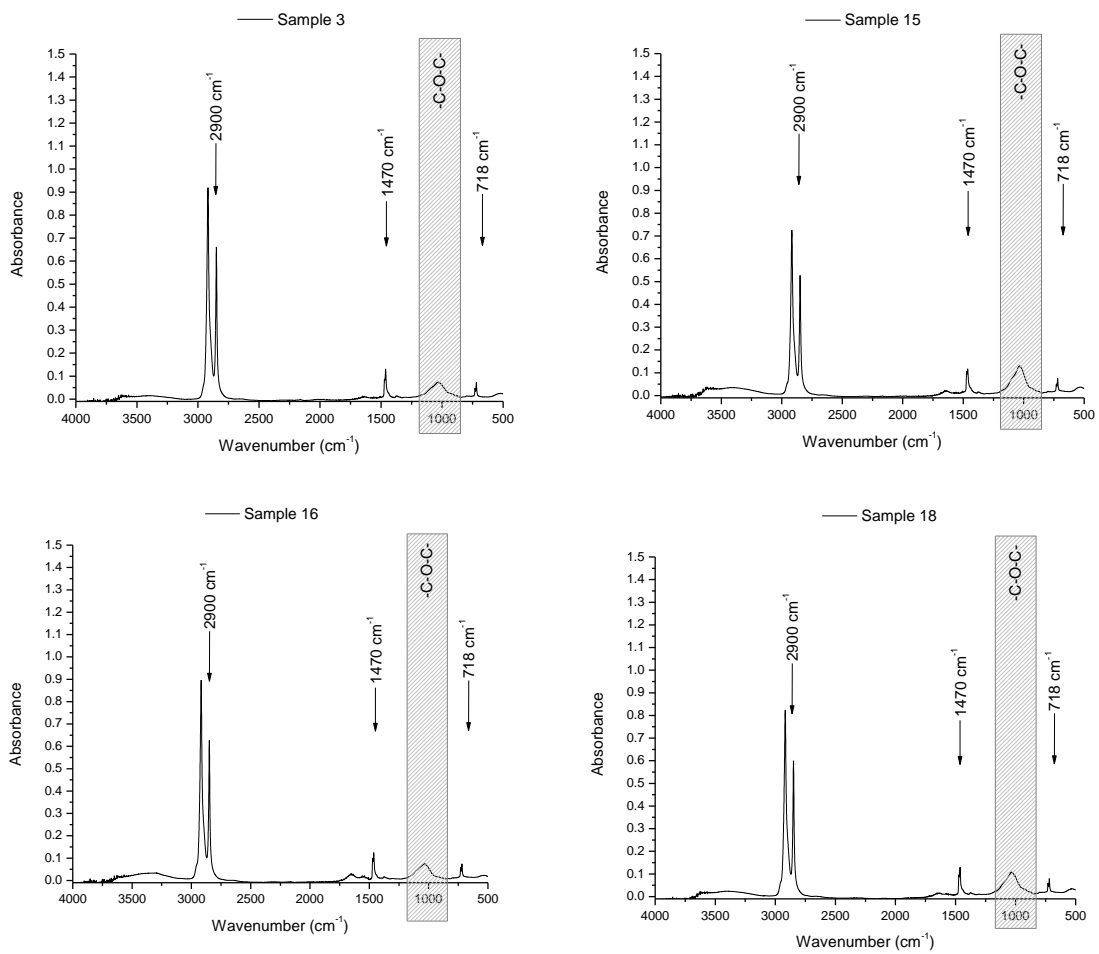


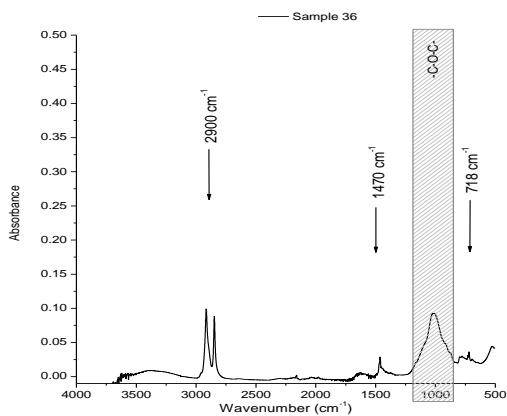
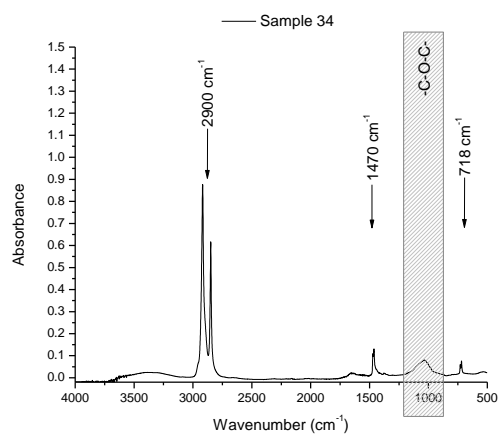
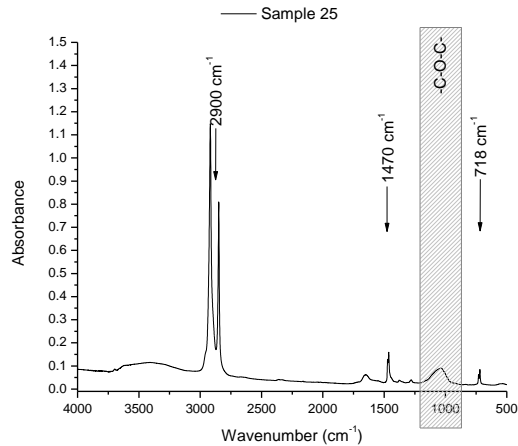
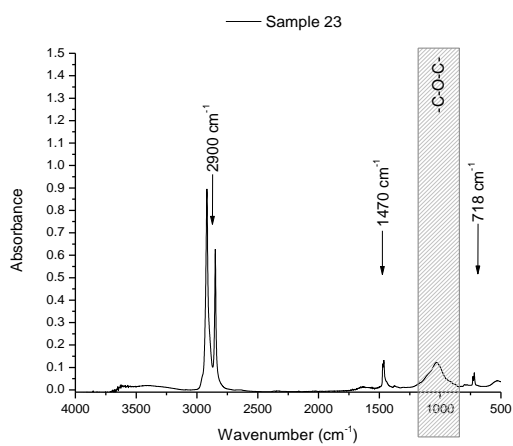
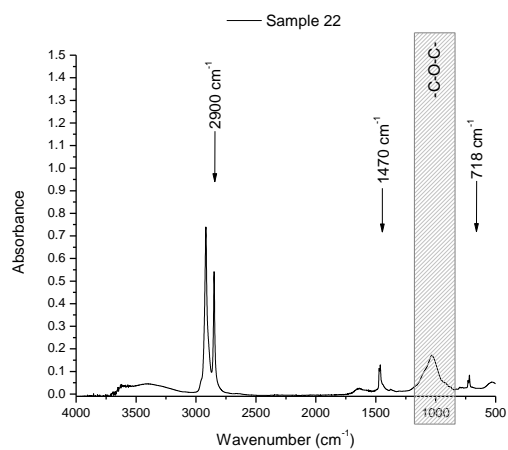
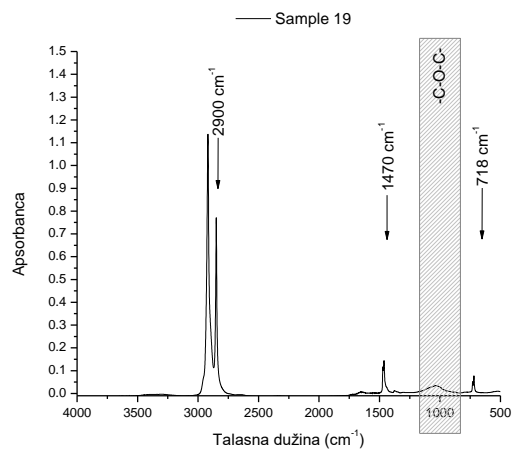
Слика 9. ФТИР спектри (а) цака и (б) амбалаже пестицида, након спровођења експеримента

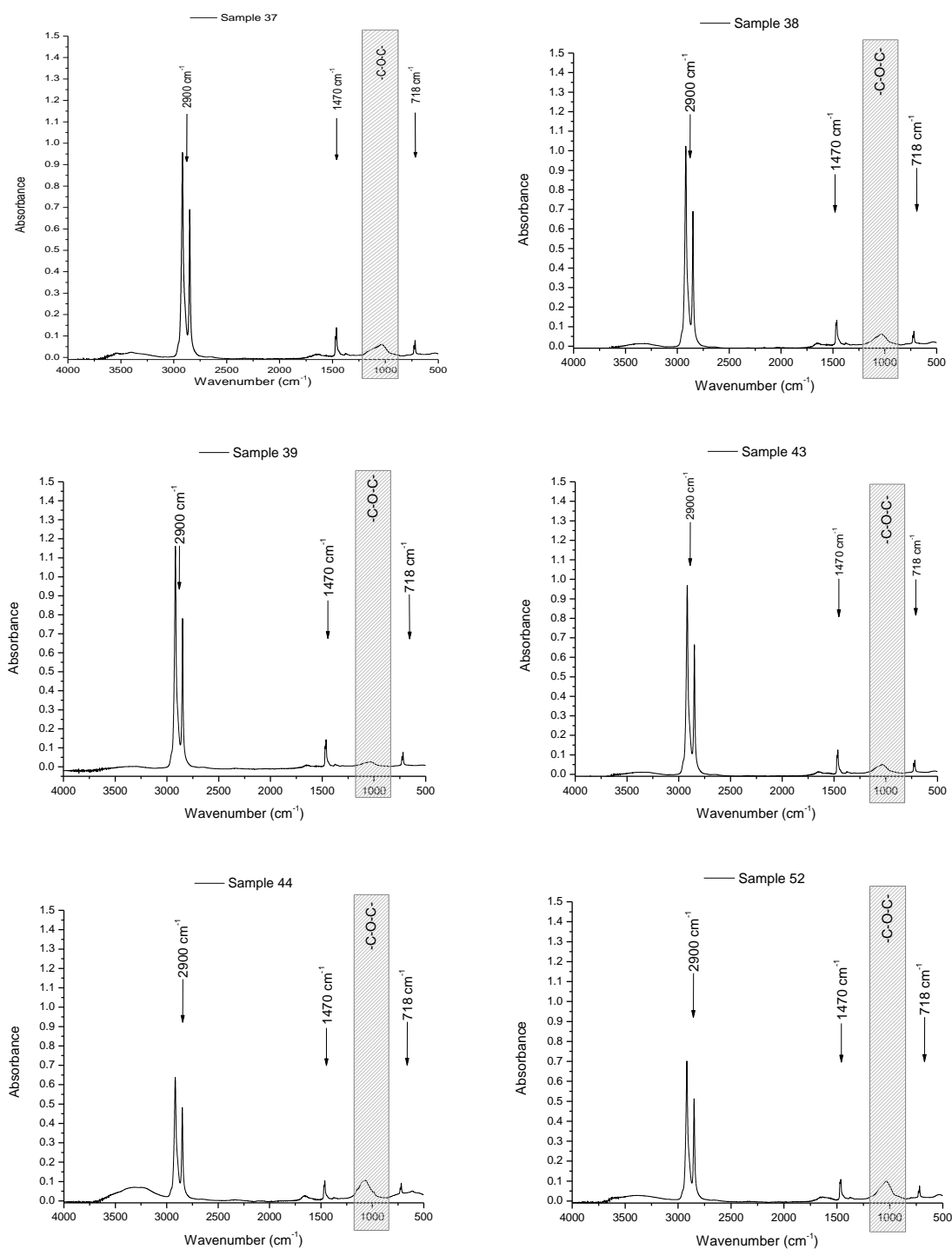
Са друге стране, ФТИР анализом спектра треће врсте материјала, малч фолије, чији су резултати приказани на Слици 10, код свих анализираних узорака микропластике, поред ФТИР трака специфичних за ПЕ на таласним дужинама 2914,

2847, 1470 и 718 cm^{-1} уочава се појава додатних трака на 3000-3600 и на око 1000 cm^{-1} .

Наиме, као што је већ напоменуто, специфичне траке на 2914 и 2847 cm^{-1} указују на присуство симетричних и асиметричних вибрација C-H функционалне групе. Према литературним подацима, интензитет трака на овим таласним дужинама са временом би требало да опада, док интензитет траке на 3000-3600 cm^{-1} и на око 1000 cm^{-1} да расте (Heimowska, 2023). Додатно, Heimowska (2023) је указала на то, да са повећањем времена експеримента деградације, промене се такође одигравају и на 1470 као и на 718 cm^{-1} које указују на вибрације љуљања CH_2 групе.







Слика 10. ФТИР спектри узорка малч фолије узоркованих на локалитетима Торак и Суботица након реализације експеримента

Појава трака на таласној дужини око 1000 cm⁻¹, које најчешће потичу од -C-O-C- везе, након експеримента деградације МП у земљишту најчешће се јавља као

последица атмосферске оксидације површине ПЕ у животној средини. Heimowska (2023) напомиње да у природним стаништима, абиотички параметри као и само присуство других живих организама, на пример глиста, има значајну улогу у процесима деградације. Апсорпционе траке на $3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ указују на формирање хидроксилне функционалне групе услед формирања водоник-пероксида и деривата алкохола током процеса оксидације, што указује на то да је на површини малч фолије започет процес деградације (Heimowska, 2023).

5.3. Утицај микропластике на биљке

Резултати огледа у којима је анализиран утицај микропластике на биљке сунцокрета, у присуству или одсуству глиста, као и на различитим типовима земљишта (Торак и Суботица) представљени су у Табели 6, а на биљке уљане репице у Табели 7.

Применом једнофакторијалне анализе варијансе констатују се статистички високо значајне разлике између третмана за све параметаре биљака сунцокрета (за ниво значајности $p < 0,01$), (Табела 6). На основу представљених резултата у Табели 6, уочава се да се сви посматрани параметри биљака значајно разликују у зависности од типа земљишта (Торак и Суботица), али и од третмана. На локалитету Торак, присуство и/или одсуство МП није утицало на дужину корена и стабла, поготово што су у тим третманима забележене највише вредности дужине корена (9,2 и 9,25 cm, респективно) и стабла (44,3 и 46,15 cm, респективно). Свеже масе истих, прате тренд, те су највише забележене у третману са земљиштем из Торка и са и без МП, али без глиста. Насупрот тим параметрима, сува маса је била највиша у земљишту са МП и са јувенилним глистама.

У земљишту са локалитета Суботица, забележен је значајан утицај МП на биљке сунцокрета. Наиме, највише вредности свих параметара, осим суве масе, су забележене у третманима без МП, са или без глиста, и статистички су се значајно разликовали међусобно. Једино су свежа маса стабла, сува маса корена и стабла биле најниже у третману без адултних глиста.

У случају суве масе параметара биљака уљане репице (Табела 7) такође су уочене статистички значајне разлике како између типова земљишта, тако и између третмана (за ниво значајности $p < 0,05$). У третманима огледа у којима су биле присутне глисте и биљке уљане репице, имају веће вредности дужине корена и стабла, у поређењу са третманима у којима је присутна и МП, као и без МП и без глиста, било адултних било јувенилних.

Третмани огледа у којима су биле присутне адултне једнке *E. fetida* показале су најбоље резултате у погледу вредности дужина корена и стабла, и свежој и сувој маси истих, у поређењу са огледима у којима су биле присутне јувенилне јединке и/или МП. Такође, дужина стабала је била приближних вредности у свим варијантама, док су вредности суве масе корена и стабла биле најниже када су биле одсутне јединке *E. fetida* у земљишту из Торка. У третманима са земљишта Суботица, највише вредности свих параметара биљака уљане репице забележене су у третману са јувенилним или адултним формама *E. fetida*, независно од присуства или одсуства МП.

Дужина корена и стабла код обе тестиране биљне врсте варијала је у зависности од третмана огледа и приметно је мања у случајевима када је највише зависила од присуства глиста, не толико МП. Свежа маса корена и стабла уљане репице такође показују варијабилност међу различитим комбинацијама третмана, при чему се најниже вредности уочавају у оним третманима огледа у којима су биле присутне глисте (било адулти, било јувенилне форме) без присуства МП. Ниже вредности суве масе корена и стабла сунцокрета и уљане репице не испољавају закономерност.

С обзиром на изузетно варијабилност података, може се закључити да ни сунцокрет ни уљана репица нису поуздани индикатори присуства МП у земљишту, пратећи искључиво на основу параметара корена и стабла (дужина, свежа и сува маса).

Табела 6. Измерени и статистички анализирани параметри за сунцокрет

Подлога	МП	Глисте		Дужина (cm)		Свежа маса (g)		Сува маса (g)	
		аултне	јувенилне	корен	стабло	корен	стабло	корен	стабло
Торак	-	-	-	9,200 ± 2,497 a	44,300 ± 5,707 a	0,936 ± 0,529 a	4,777 ± 1,990 a	0,173 ± 0,097 bc	0,678 ± 0,186 c
	-	+	-	7,387 ± 1,895 b	41,174 ± 3,037 b	0,779 ± 0,252 b	3,842 ± 1,340 b	0,146 ± 0,084 bc	0,519 ± 0,196 c
	-	-	+	8,008 ± 2,267 b	43,310 ± 4,978 a	0,471 ± 0,049 bc	3,762 ± 0,858 b	0,079 ± 0,019 cd	0,576 ± 0,179 c
	+	-	-	9,250 ± 3,147 a	46,150 ± 1,811 a	0,523 ± 0,099 b	4,122 ± 0,611 a	0,091 ± 0,024 d	0,644 ± 0,126 c
	+	+	-	4,482 ± 0,466 d	10,910 ± 1,349 d	0,131 ± 0,048 d	1,522 ± 0,206 d	0,059 ± 0,009 d	0,872 ± 0,013 b
	+	-	+	5,911 ± 1,087 cd	11,662 ± 2,139 d	0,773 ± 1,393 b	2,362 ± 1,236 c	0,865 ± 2,283 a	1,559 ± 1,179 a
Суботица	-	-	-	7,346 ± 0,990 b	31,625 ± 8,454 c	0,584 ± 0,399 b	1,891 ± 0,545 cd	0,208 ± 0,081 b	0,489 ± 0,152 c
	-	+	-	7,455 ± 1,048 b	31,380 ± 9,241 c	0,625 ± 0,428 b	1,975 ± 0,554 cd	0,222 ± 0,081 b	0,505 ± 0,162 c
	-	-	+	6,140 ± 1,697 c	31,820 ± 3,947 c	0,551 ± 0,157 b	1,486 ± 0,304 d	0,075 ± 0,039 d	0,225 ± 0,054 d
	+	-	-	6,140 ± 1,697 c	31,820 ± 3,947 c	0,551 ± 0,157 b	1,486 ± 0,304 d	0,075 ± 0,039 d	0,225 ± 0,054 d
	+	+	-	5,300 ± 0,887 cd	9,440 ± 0,675 d	0,239 ± 0,093 d	1,659 ± 0,231 d	0,117 ± 0,072 c	0,871 ± 0,078 b
	+	-	+	5,620 ± 1,619 cd	11,180 ± 2,018 cd	0,305 ± 0,160 d	1,827 ± 0,664 d	0,122 ± 0,149 c	0,869 ± 0,299 b
F вредност				7,36**	87,37**	2,40**	18,31**	1,13**	9,38**

Легенда: МП – микропластика; (-) одсутно; (+) присутно; * статистички значајно (за ниво значајности p<0,05); ** статистички високо значајно (за ниво значајности p<0,01)

Табела 7. Измерени и статистички анализирани параметри за уљану репицу

Подлога	МП	Глисте		Дужина (cm)		Свежа маса (g)		Сува маса (g)	
		адултне	јувенилне	корен	стабло	корен	стабло	корен	стабло
Торак	-	-	-	3,280 ± 1,546 d	11,370 ± 2,343 b	0,036 ± 0,027 bc	0,252 ± 0,098 d	0,005 ± 0,003 cd	0,057 ± 0,032 cd
	-	+	-	8,008 ± 2,267 a	13,310 ± 4,978 a	0,471 ± 0,050 a	3,762 ± 0,858 a	0,079 ± 0,019 ab	0,576 ± 0,179 a
	-	-	+	7,559 ± 1,783 a	11,520 ± 2,833 b	0,803 ± 0,240 a	3,987 ± 1,260 a	0,157 ± 0,077 a	0,540 ± 0,185 a
	+	-	-	4,080 ± 1,397 c	12,470 ± 2,721 ab	0,012 ± 0,016 d	0,494 ± 0,382 c	0,007 ± 0,004 c	0,097 ± 0,067 c
	+	+	-	5,380 ± 0,866 b	5,580 ± 1,029 cd	0,032 ± 0,063 c	0,371 ± 0,164 c	0,022 ± 0,035 b	0,135 ± 0,086 c
	+	-	+	4,870 ± 1,247 c	5,980 ± 1,699 c	0,013 ± 0,005 d	0,398 ± 0,060 c	0,007 ± 0,002 c	0,200 ± 0,280 b
Суботица	-	-	-	5,683 ± 0,716 b	5,483 ± 0,888 c	0,011 ± 0,003 d	0,378 ± 0,134 c	0,002 ± 0,003 d	0,052 ± 0,324 d
	-	+	-	5,450 ± 0,844 b	13,600 ± 2,821 a	0,058 ± 0,024 b	0,771 ± 0,533 b	0,005 ± 0,002 cd	0,059 ± 0,037 b
	-	-	+	4,870 ± 0,766 c	12,810 ± 3,288 a	0,032 ± 0,022 b	0,559 ± 0,307 b	0,004 ± 0,003 d	0,035 ± 0,015 d
	+	-	-	4,980 ± 0,880 c	5,970 ± 0,958 c	0,012 ± 0,004 d	0,376 ± 0,064 c	0,004 ± 0,002 d	0,131 ± 0,042 c
	+	+	-	4,710 ± 1,411 c	5,220 ± 0,958 d	0,014 ± 0,003 d	0,363 ± 0,058 c	0,006 ± 0,002 cd	0,149 ± 0,054 c
	+	-	+	4,870 ± 1,247 c	5,980 ± 1,699 c	0,013 ± 0,005 d	0,398 ± 0,060 c	0,007 ± 0,002 c	0,200 ± 0,280 bc
F вредност				10,14**	108,21**	115,24**	76,04**	34,68*	10,48**
Легенда: МП – микропластика; (-) одсутно; (+) присутно; * статистички значајно (за ниво значајности p<0,05); ** статистички високо значајно (за ниво значајности p<0,01)									

Сличне резултате добили су и Li et al. (2021a) када су проучавали утицај ПЕ на усев соје. Резултати су показали да је способност клијања семена соје смањена на 82,39; 39,44 и 26,06% у третманима са додатком 0,1; 0,5 и 1% ПЕ у поређењу са контролом, што сугерише да остаци пластике у земљишту инхибирају клијавост семена соје. Аутори су показали да су пластичне партикуле имале значајан негативан ефекат на висину биљака и пречник стабала током целог периода раста соје. Поред тога, уколико је МП била присутна, укупна биомаса биљака је била смањена током фаза цветања и жетве у поређењу са контролном групом, што доказује да су ПЕ честице имале значајан негативни ефекат на висину биљке, пречник стабљике, као и површину листа. Wang et al. (2021) су испитивали фитотоксичност микрочестица ПЕ на усеви мунг пасуља (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) и соје (*Glycine max* (L.) Merr.), при чему су уочили да су усеви соје били подложнији утицају МП него мунг пасуљ (Wang et al., 2021).

Такође, значајно истраживање које су спровели Wang et al. (2021) имало је за циљ да испита штетне ефекте ПЕ на клијање соје и мунг пасуља (*Vigna radiata*, Carl Peter Thunberg, 1784). Оба усева била су изложена деловању ПЕ додатог у различитим величинама (6,5 и 13 μm) у шест концентрација (0, 10, 50, 100, 200 и 500 mg/L^{-1}). Истраживање је обухватило праћење: енергије клијања и брзину клијања семена, морфологију биљака (дужина корена и дужина изданака) и масу суве материје. Утврђено је да је фитотоксичност честица МП већа за соју од мунг пасуља. Трећег дана истраживања, сува маса соје је инхибирана у различитим концентрацијама у поређењу са контролом, а инхибиција је показала раст са повећањем концентрације МП. После седмог дана, дужина корена соје је инхибирана честицама МП величине 13 μm , а степен инхибиције је био у позитивној корелацији са концентрацијом МП. Са друге стране, дужина корена мунг пасуља се повећала, а степен инхибиције је био у позитивној корелацији са концентрацијом МП. Слично истраживање на усеви соје, спровели су и Vintao et al. (2021), где су користили ПЕ ниске густине и биоразградиви пластични биофилм. Истраживање се базирало на праћење ефеката на клијање соје и раст биљака у присуству различитих количина МП (0; 0,1; 0,5 и 1%) у земљишту. Експеримент је изведен у саксијама, у пољским условима. Резултати су показали да је клијавост семена соје смањена на 82,39; 39,44 и 26,06% сходно додатим количинама у поређењу са контролном групом. Овакви резултати указују да пластични остаци у земљишту инхибирају одрживост клијања семена соје. Такође, пластични остаци су имали значајан негативан утицај на висину биљка и пречник стабла током вегетативне

фазе раста. Забележено је да је биомаса биљака, као и лисна површина за време жетве смањена за 1,97; 6,86 и 11,53% у поређењу са контролом у третманима са 0,1; 0,5 и 1% присутних честица МП. На основу истраживања, научници су закључили да ПЕ честице имају веће негативне ефекте на висину и биомасу биљке, као и на укупну површину листова и односа корена и изданка, док биофилм има веће негативне ефекте на клијање смена и биомасу корена, поготово у фази цветања биљке.

Резултати огледа дисертације су у сагласности са резултатима бројних студија у којима је констатовано смањење биомасе различитих врста биљака као што су кукуруз (*Zea mays* L.) (Wang et al., 2020 a и b), пшеница (*Triticum aestivum* L.) (Qi et al., 2018) и лук (*Allium fistulosum* L.) (de Souza Machado et al., 2019).

Мерењем параметара оксидативног стреса (активност супероксид дисмутасе, пероксидазе и каталазе и интензитета липидне пероксидације) нису уочене значајне разлике између експерименталних група код обе испитиване биљне врсте. Присуство глиста и/или МП у различитим концентрацијама у земљишту није довело до промена хомеостазе и до индукције оксидативног стреса код биљака. Menicagli et al. (2023) наводе да присуство МП у земљишту може да доведе до смањења ефикасности фотосинтетичких процеса код биљака, што може резултирати повећаном акумулацијом токсичног водоник пероксида у ћелијама и изазвати промене у редокс систему ћелија, а самим тим и до повећаног интензитета липидне пероксидације.

Анализом литературних података до сличних закључака су дошли и Li et al. (2023). Они наводе да, поред акумулације водоник пероксида и других реактивних кисеоничних честица, присуство микро- и нано-пластике у земљишту може да доведе до промена у експресији гена и да утиче на саму биомасу третираних биљака. Roy et al. (2023) наводе да многобројни фактори могу утицати на ефекат земљишне МП на биљке: величина, облик, концентрација и хемијски састав честица МП, као и присуство других контаминената, али и садржај воде у земљишту. Xu et al. (2022) су дошли до закључка да су хемијски састав и функционалне групе на површини честица МП најодговорније за начин деловања и утицај овог контаминента на биљке.

Wang et al. (2024) су анализирали утицај различитих концентрација земљишне МП на активност каталазе, супероксид дисмутасе и пероксидазе, као и интензитет липидне пероксидације у листовима дувана. Утврдили су да присуство земљишне МП доводи до смањења активности каталазе и супероксид дисмутазе и повећања активности пероксидазе, као и интензитета липидне пероксидације у листовима дувана само ако је концентрација МП у земљишту већа од 100 mg kg⁻¹ земљишта.

Присуство мањих концентрација МП није довело до значајних промена у ова четири мерена параметра. Насупрот њима, Zhang et al. (2024) су утврдили да присуство МП у земљишту доводи до повећања активности каталазе, пероксидазе и супероксид дисмугазе, али и до смањења интензитета липидне пероксидације у поницима пшенице. Adamczyk et al. (2023) су анализирали утицај ниских, средњих и високих концентрација МП на ћелијске културе различитих дикотиледоних (мрква и парадајз) и монокотиледоних (пшеница и јечам) биљака. Утврдили су да читав низ фактора утиче на одговор биљке на присуство МП. Поред биљне врсте, на активност ензима оксидативног стреса утичу и концентрација МП у систему и дужина изложености овом токсиканту, што се подудару са резултатима ове докторске дисертације.

У сувом биљном материјалу одређен је садржај укупних фенола, танина и флавоноида, као и антиоксидативни капацитет. Резултати су приказани за контролне и третиране групе биљног материјала у Табели 8.

Табела 8. Просечне вредности и стандардне девијације за укупне феноле, танине, флавоноиде и антиоксидативни капацитет у контролној и третираној групи

Параметар	Контролна	Третирана	СД	
	група	група	Контролна	Третирана
Укупни феноли (mg GAE g ⁻¹)	250,5	248,3	15,3	14,8
Танин (mg CAT g ⁻¹)	190,7	188,9	10,4	11,2
Флавоноиди (mg QE g ⁻¹)	85,2	84,7	5,8	6,1
Антиоксидативни капацитет (μg ml ⁻¹)	35,7	36,2	2,1	2,4

Резултати показују да није било значајних разлика у садржају укупних фенола, танина и флавоноида, као ни у антиоксидативном капацитету између контролне и третиране групе. Ово указује да третман није имао значајан утицај на мерење ових параметара у сувом биљном материјалу.

5.4. Утицај микропластике на глисте

Резултати огледа у којима је анализиран утицај МП на *E. fetida*, у присуству или одсуству биљака (сунцокрет и уљана репица), као и на различитим подлогама (Торак и Суботица) представљени су у Табели 9 за адултне, а у Табели 10 за јувенилне јединке.

На основу резултата приказаних у Табели 9, једино повећање биомасе је констатовано у третману огледа где су се адултне јединке *E. fetida* налазиле у саксијама у којима је био посађен сунцокрет у земљу пореклом са локалитета Торак (за 37,98%), а у којима није била додата МП, Висок губитак биомасе се констатује у третманима огледа када је присутна МП, са биљкама (57,24% у случају уљане репице и 40,79% у случају сунцокрета), или без њих (53,00%).

Код јувенилних стадијума глиста није забележено повећање биомасе ни у једном од третмана огледа (Табела 10), али је најмањи губитак биомасе константован када су се ове јединке налазиле заједно са биљкама сунцокрета (0,74%). Слично као и код адултних јединки, висок губитак биомасе константован је када је била присутна МП заједно са сунцокретом (53,16%) и уљаном репицом (55,2%).

Највиши проценат морталитета адултних јединки *E. fetida* се констатује у третману огледа који садржи МП, без биљака (53,33%), док је у саксијама у којима је поред глиста био посађен и сунцокрет у узорак земљишта пореклом са локалитета Торак, све јединке глиста су пронађене живе након завршетка огледа. Слично овим резултатима, код јувенилних јединки, највиши проценат морталитета констатован је у саксијама у којима је била додата МП (46,64%), док је најнижи проценат морталитета забележен у третманима огледа са сунцокретом (13,35) (Табеле 9 и 10).

У огледним саксијама које су биле испуњене узорцима земље са локалитета Суботица, губитак биомасе и проценат морталитета је био значајно изражен, с обзиром на неповољна физичка и хемијска својства овог узорка земље по глисте. Највеће смањење биомасе код адултних форми *E. fetida* установљено је у третманима огледа у којима је посађена уљана репица (93,02%), а најмањи губитак биомасе је забележен у саксијама у којима се налазио сунцокрет (76,84%) (Табела 9).

Табела 9. Резултати утицаја присутне микропластике на адултне јединке *E. fetida*

Подлога	МП	Биљка		Број јединки (просек)		Биомаса (g)		% морталитета (кориговани)	
		сунцокрет	уљана репица	пре	после	пре	после	биомасе	морталитета
Торак	-	-	-	10,00	9,33	3,072	2,857	93,00	-
	-	+	-	10,00	10,00	3,173	4,378	137,98	-7,15
	-	-	+	10,00	9,67	4,231	2,654	62,73	-3,58
	+	-	-	10,00	4,67	4,011	1,885	47,00	49,99
	+	+	-	10,00	6,67	4,482	2,654	59,21	28,57
	+	-	+	10,00	6,67	3,382	1,446	42,76	28,57
Суботица	-	-	-	10,00	1,67	3,663	0,581	15,86	-
	-	+	-	10,00	3,00	4,197	0,970	23,11	-79,96
	-	-	+	10,00	0,67	3,870	0,272	7,03	59,99
	+	-	-	10,00	0,00	4,022	-	-	100,00
	+	+	-	10,00	0,00	3,731	-	-	100,00
	+	-	+	10,00	0,00	4,331	-	-	100,00

Табела 10. Резултати утицаја присутне микропластике на јувенилне јединке *E. fetida*

Подлога	МП	Биљка		Број јединки (просек)		Биомаса (g)		% морталитета (кориговани)	
		сунцокрет	уљана репица	пре	после	пре	после	биомасе	морталитета
Торак	-	-	-	20,00	15,66	2,711	2,057	75,88	-
	-	+	-	20,00	17,33	2,672	2,652	99,25	-10,59
	-	-	+	20,00	12,66	2,052	1,945	94,79	0,00
	+	-	-	20,00	10,67	2,761	1,722	62,37	31,91
	+	+	-	20,00	12,66	2,714	1,271	46,83	19,17
	+	-	+	20,00	11,33	1,623	0,727	44,79	10,52
Суботица	-	-	-	20,00	0,00	1,882	-	-	-
	-	+	-	20,00	1,67	2,002	0,163	8,14	100,00
	-	-	+	20,00	0,67	2,131	0,075	3,52	100,00
	+	-	-	20,00	0,00	1,761	-	-	100,00
	+	+	-	20,00	0,00	1,971	-	-	100,00
	+	-	+	20,00	0,00	1,532	-	-	100,00

У третманима огледа у којима је проценат морталитета износио 100%, односно где су све јединке (адултне или јувенилне) угинуле по завршетку огледа, проценат промене биомасе није рачунат. Висок проценат губитка биомасе уочен је код јувенилних форми *E. fetida* при чему је ова вредност била највећа у саксијама са уљаном репицом (96,47), а нешто мања је са сунцокретом (91,85%) (Табела 10).

Висок проценат морталитета у третманима огледа који су били засновани на узорцима земље са локалитета Суботица, може да се објасни карактеристикама земљишта, које је типа песка, крупних честица и брзо водопропусно (Табела 4), што глистама као изразито хидрофилном биоиндикаторском организму није погодновало. У оваквим третманима огледа где је била присутна МП нису пронађене преживеле адултне, ни јувенилне јединке *E. fetida* (процент морталитета је износио 100%). Такође, високи проценти морталитета јувенилних јединки константовани су у третманима огледа са сунцокретом (91,65%), као и са уљаном репицом (96,67%).

На основу приказаних података, једино повећање биомасе забележено је у третманима огледа са сунцокретом, што може да се објаснити ослобађањем различитих супстанци кореновог система који повољно утичу на глисте. Различите студије су указале да присуство кореновог система сунцокрета може да стимулише раст глиста услед хранљивих супстанци које ослобађа (Whalley and Dexter, 2008; Aghababaei and Raiesi, 2015).

Код јувенилних стадијума *E. fetida* није забележено повећање биомасе ни у једном од третмана огледа, али је најмањи губитак биомасе константован када су се јувенилне јединке налазиле заједно са биљкама сунцокрета (0,74%). Слично као и код адултних јединки, висок губитак биомасе константован је у третманима огледа где је била присутна МП заједно са биљкама сунцокрета (53,16%) и уљане репице (55,2%).

Највиши проценат морталитета адултних јединки констатује се у третману огледа који садржи МП, без биљака (53,33%), док у саксијама у којима је био посађен сунцокрет, све јединке *E. fetide* су пронађене су живе. Слично, код јувенилних стадијума, највећи морталитет је утврђен у третману огледа који је садржао МП (46,64%), док је најнижи ниво морталитета забележен у саксијама у којима је био посађен сунцокрет (13,35).

Резултати једнофакторијалне анализе варијансе представљени су у Табели 11.

Фишеров НЗР тест је истакао постојање статистички високо значајних разлика у погледу утицаја врсте земљишта (Торак или Суботица), присуства/одсуства МП у третману огледа, време оцене огледа и стадијум развића глиста као независно

променљивих на проценат промене биомасе и кориговани проценат морталитета као зависних величина (за ниво значајности $p < 0,01$). Код оба посматрана параметра, једино утицај врсте биљке (сунцокрет или уљана репица) и њихово присуство или одсуство у третманима огледа нису били статистички значајни.

Табела 11. Резултати једнофакторијалне анализе варијансе и Фишевог НЗР теста за израчунате параметре % биомасе и коригованог % морталитета

Зависна променљива	Независна променљива	p	Ниво значајности * за $p < 0,05$; ** за $p < 0,01$
% промене биомасе	Подлога	0,007498	**
	Присуство МП	0,004132	**
	Врста биљке	0,712491	-
	Време оцене огледа (пре и после)	0,000001	**
	Стадијум развића глиста	0,004542	**
Кориговани % морталитета	Подлога	0,006354	**
	Присуство МП	0,003521	**
	Врста биљке	0,989253	-
	Време оцене огледа (пре и после)	0,003211	**
	Стадијум развића глиста	0,003775	**

Утицај МП на морталитет глиста изучавали су Zhou et al. (2020), чији су резултати показали да изложеност само МП или у комбинацији МП+Cd смањује стопу раста и повећава смртност ($>300 \text{ mg g}^{-1}$) након изложености током 42 дана, при чему је МП+Cd ($>3000 \text{ m kg}^{-1}$) имао већи негативан утицај на раст *E. fetida*. Изложеност МП може изазвати оксидативна оштећења код *E. fetida*, а присуство Cd убрзава штетне ефекте МП (Zhou et al., 2020). Такође, слично истраживање Huerta Lwanga et al. (2016) је указало на то да МП има мали утицај на глисте при ниским концентрацијама ($\leq 0,5\%$ маса/маса), док је изложеност МП са високим концентрацијама (тј. 1 и 2%) значајно инхибирала раст и повећала смртност глиста. Резултати указују да загађење МП у земљиштима има негативан ефекат на земљишне организме, имплицирајући еколошки ризик од МП у копненим екосистемима (Völker et al., 2017). Jiang et al. (2020) су испитивали ефекте различитих врста МП, укључујући ПС и ПЕ на *E. fetida*.

Студија је показала да обе врсте МП узрокују значајне негативне утицаје на раст, репродукцију и преживљавање глиста. ПС честице су биле посебно штетне, узрокујући веће стопе смртности и тежи физиолошки стрес у поређењу са ПЕ. Ова студија је истакла важност разматрања типа и карактеристика МП при процени њиховог утицаја на животну средину.

У експерименту су проучавани ефекти различитих концентрација МП на активност антиоксидативних ензима (КАТ, СОД, ПОД) и ниво ЛП у глистама који су приказани у Табели 12.

Табела 12. Ефекти различитих концентрација МП на активности антиоксидативних ензима и ниво липидне пероксидације на *E. fetida* у различитим третманима

МП - конц,(%)	Билјка	КАТ			СОД			ПОД			ЛП		
		Вредност (mg GAE g ⁻¹)	СД	Варијанса	Вредност (mg GAE g ⁻¹)	СД	Варијанса	Вредност(mg GAE g ⁻¹)	СД	Варијанса	Вредност (nmol MDA g ⁻¹)	СД	Варијанса
-	-	236,632	36,670	1344,721	47,418	8,664	75,057	3,777	0,480	0,231	24,851	3,649	13,315
0,5	-	257,748	14,533	211,207	42,639	3,315	10,990	4,590	0,795	0,632	22,903	0,646	0,418
1,0	-	190,095	34,796	1210,796	36,660	5,992	35,899	3,729	0,530	0,280	20,759	2,148	4,615
1,5	-	249,924	29,114	847,623	46,655	6,964	48,491	4,508	0,506	0,256	21,495	2,168	4,701
-	Уљана репица	223,416	31,103	967,421	47,706	5,086	25,867	3,780	0,492	0,242	25,722	3,776	14,260
0,5	Уљана репица	253,399	52,803	2788,142	54,834	3,915	15,331	4,464	0,421	0,177	26,322	2,631	6,920
1,0	Уљана репица	180,866	15,195	230,881	43,647	6,360	40,451	2,952	0,852	0,726	23,536	1,052	1,107
1,5	Уљана репица	232,895	64,729	4189,903	50,755	2,567	6,588	3,878	0,414	0,172	21,219	6,602	43,589
-	Сунцокрет	211,830	59,070	3489,279	46,926	9,836	96,745	4,216	1,351	1,825	25,077	4,637	21,501
0,5	Сунцокрет	243,034	48,620	2363,883	49,925	5,714	32,654	3,579	0,522	0,272	25,129	1,083	1,173
1,0	Сунцокрет	236,637	7,794	60,748	44,490	3,918	15,352	3,823	0,253	0,064	28,284	5,345	28,568
1,5	Сунцокрет	188,049	43,905	1927,606	39,253	7,048	49,680	2,817	0,472	0,223	26,019	1,332	1,774

Активност каталазе у глистама показује различите одговоре на присуство МП у зависности од биљне врсте. У узорцима без биљака, највеће вредности КАТ су забележене при концентрацији од 0,5% МП (257,748 mg GAE g⁻¹), док су најниже вредности забележене при концентрацији од 1,0% МП (190,095 mg GAE g⁻¹). Овај тренд је сличан код уљане репице, где су највеће вредности такође забележене при 0,5% МП (253,399 mg GAE g⁻¹), а најниже при 1,0% МП (180,866 mg GAE g⁻¹). У усеву сунцокрета забележене су највише вредности КАТ при 0,5% МП (243,034 mg GAE g⁻¹), док су најниже вредности забележене при 1,5% МП (188,049 mg GAE g⁻¹). Ови резултати указују на то да умерене концентрације МП могу стимулисати активност КАТ, док веће концентрације доводе до смањења активности услед повећаног оксидативног стреса. Такође, de Souza Machado et al, (2018) су доказали да МП доводи до значајног повећања активности антиоксидативних ензима у глистама, укључујући КАТ, што је у складу са овим резултатима, док су Rodriguez-Seijo et al. (2017) спровели слична истраживања при чему је активност КАТ у глистама значајно повећана при изложености различитим концентрацијама МП, што је слично овим резултатима који показују пораст активности при умереним концентрацијама.

Активност СОД у глистама је показала сличан тренд као и КАТ, са највишим вредностима забележеним при 0,5% МП у обе биљне врсте. Вредности СОД у узорцима без биљака су се кретале од 36,660 до 47,418 mg GAE g⁻¹, док су код уљане репице варирале од 43,647 до 54,834 mg GAE g⁻¹. Код сунцокрета, вредности СОД су се кретале од 39,253 до 49,925 mg GAE g⁻¹. Ови резултати су у складу са студијама које показују да микропластика изазива оксидативни стрес у глистама, повећавајући активност СОД у одређеним концентрацијама, као што је истраживање које су спровели Huang et al, (2021), при чему су доказали да МП у комбинацији са кадмијумом повећава оксидативни стрес код глиста, што је довело до повећања активности СОД. Такође, Jiang et al. (2020) су доказали да ПС изазива токсиколошке ефекте у глистама, укључујући повећање активности СОД као одговор на оксидативни стрес.

Активност ПОД у глистама је била релативно стабилна у присуству МП, са највећим вредностима забележеним при 0,5% МП код сунцокрета и уљане репице. Вредности ПОД су се кретале од 3,729 до 4,590 mg GAE g⁻¹ у узорцима без биљака, док су код уљане репице варирале од 2,952 до 4,464 mg GAE g⁻¹. У усеву сунцокрета, вредности ПОД су се кретале од 2,817 до 4,216 mg GAEg⁻¹. Ови резултати сугеришу да ПОД није осетљива у толикој мери на присуство МП као КАТ и СОД. Сличне

резултате добили су и Liu et al, (2022b). У њиховој студији је доказано да присуство МП може повећати оксидативни стрес, међутим, ПОД није показала значајне промене у активности. Такође, Carrello et al, (2013) су испитивали утицај МП на оксидативни стрес код глиста и закључили да ПОД није значајно осетљива на присуство МП.

ЛП у глистама је повећан у присуству МП, са највећим вредностима забележеним при 1% МП у усеву сунцокрета ($28,284 \text{ nmol MDA g}^{-1}$), док у узорцима без биљака, вредности ЛП су се кретале од 20,759 до 24,851 nmol MDA/g , док су код уљане репице варирале од 21,219 до 26,322 nmol MDAg^{-1} . Ови резултати указују на повећан оксидативни стрес код глиста изложеним МП. Сличне резултате добили су и Zhao et al, (2020), при чему је утврђено да изложеност МП доводи до значајног повећања ЛП у глистама, што резултира оштећењем ћелијских структура.

5.5. Утицај микропластике на микроорганизме

У циљу анализе укупне бројности бактерија изражене у колонијама које формирају јединице по милилитру (CFU ml⁻¹), изведен је низ статистичких тестова на добијеним подацима. Тест нормалне дистрибуције примењен је да се утврди адекватност дистрибуције података за даље параметарске анализе. Након потврде нормалности, примењен је АНОВА тест (анализа варијансе) за оцену статистички значајних разлика међу средњим вредностима различитих узорка.

На основу резултата АНОВА теста, узорци су класификовани у три групе означене као 'а', 'б', и 'в', користећи Данканов тест за идентификацију група приказаних у Табели 13 које се значајно разликују (График 1).

Узорак у коме су се налазиле глисте у земљишту прикупљеном са локалитета Торак, а који није садржавао ни сунцокрет ни уљану репицу, као ни МП сврстан је у групу 'а' са највишом средњом вредношћу од 232,5 милиона CFU ml⁻¹, индицирајући значајно већу бројност бактерија у поређењу са осталим узорцима. Групу 'б' су представљали узорци са локалитета Торак у којима су се поред глиста нализели или само сунцокрет (18*) или само МП (39*), а имали су средње вредности од 104,5 милиона и 102 милиона CFU ml⁻¹, респективно, које су значајно ниже од групе 'а', али значајно више од група нижих категорија.

Група 'в' обухвата узорке са знатно нижим бројностима, укључујући узорке са локалитета Суботица у којима је третман огледа укључивао само биљке сунцокрета (22*) или глисте уз додатак МП (25), са вредностима које варирају од 26,5 милиона до 4 милиона CFU ml⁻¹. Ова групација омогућава јасно разликовање међу узорцима у погледу њиховог микробиолошког профила и сугерише на различите потенцијалне микробиолошке активности или разлике у третману и манипулацији узорцима.

Овакав приступ пружа детаљан увид у дистрибуцију микробиолошке бројности унутар узорка, што је кључно за даље микробиолошке и еколошке студије, као и за процену ефикасности санитарних и процесних протокола у различитим применама.

Табела 13. Ознаке узорака из третмана огледа у којима је констатована значајна бројност бактерија на основу Данкановог теста

Подлога	МП	Биљка			Ознаке узорака у којима је детектована значајна бројност бактерија на основу Данкановог теста
		Глисте	Сунцокрет	Уљана репица	
Торак	-	-	-	-	0*
	-	-	+	-	
	-	-	-	+	
	+	-	-	-	
	+	-	+	-	
	+	-	-	+	3*
	-	+	-	-	23*
	-	+	+	-	18*
	-	+	-	+	
	+	+	-	-	36*, 39*
	+	+	+	-	
+	+	-	+		
Суботица	-	-	-	-	0
	-	-	+	-	15, 19, 22*
	-	-	-	+	
	+	-	-	-	
	+	-	+	-	
	+	-	-	+	52
	-	+	-	-	44
	-	+	+	-	
	-	+	-	+	34, 37, 42
	+	+	-	-	39
	+	+	+	-	
+	+	-	+	25	

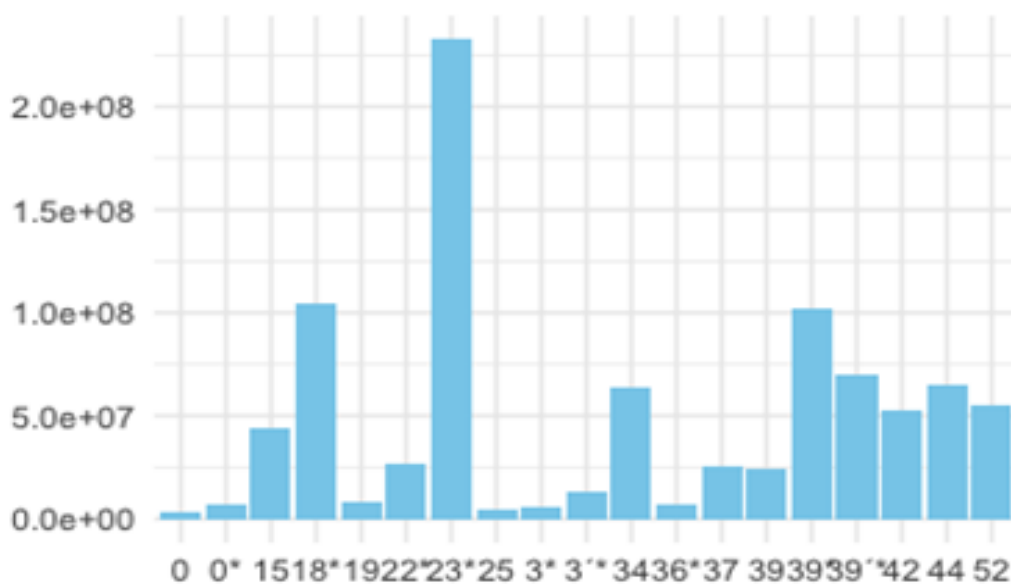


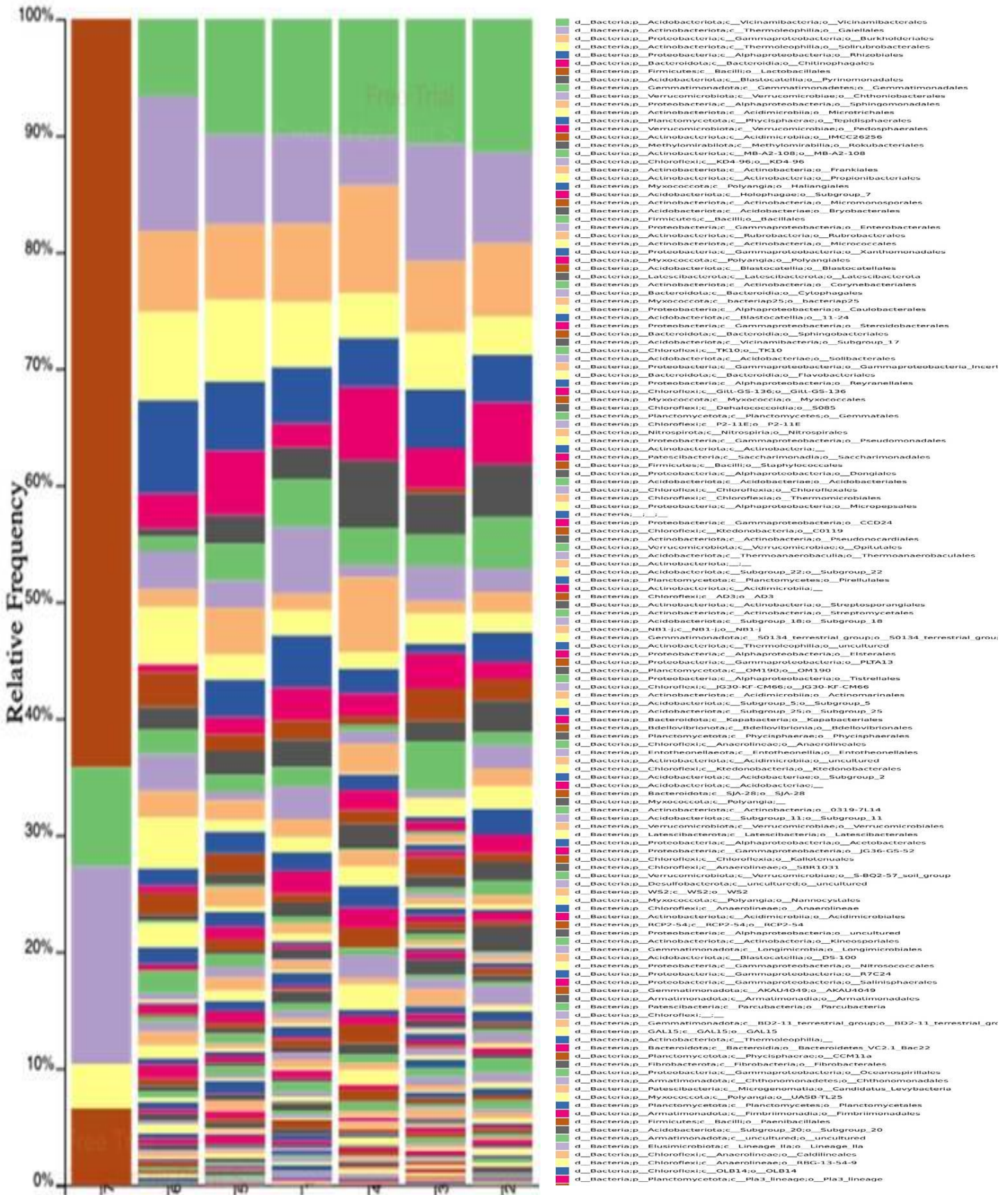
График 1. Резултат укупне бројности бактерија

5.5.1. Metabarcoding анализа

У оквиру рада анализирана је разноврсност микробиома кроз мерење Shannonove ентропије. Испитивани су подаци из шест различитих група и седме која је била контролна. Анализа алфа-диверзитета показала је да нема статистички значајних разлика у микробиомској разноврсности међу анализираним групама.

Приложене визуализације укључују таксономске барплотове на четвртном нивоу таксономске класификације, који приказују састав микробиома у сваком узорку (Слика 11). Ове визуализације пружају увид у микробиомски састав, истичући разноликост и богатство микробних заједница у различитим групама.

Кроз ове анализе добијен је значајан увид у структуру и састав микробиома, што може бити корисно за даље разумевање еколошких и биолошких интеракција унутар микробиомских заједница. Овакав приступ омогућава детаљније истраживање и боље разумевање комплексности микробиома у различитим условима.



Слика 11. Визуализација микробиомске разноврсности- график представља илустрацију састава микробиома у узорцима. Сваки бар представља узорак, а боје унутар бара одговарају различитим микробним таксонима

5.5.2. Анализа фталата

Оптичка густина на 494 nm се повећавала са повећањем количине фталатног анхидрида (0 до 135 μmol) у киселој средини. Сигнал на 494 nm показује да је флуоресцеин успешно синтетисан када је присутна довољна количина фталатног анхидрида. Међутим, у алкалним условима карактеристична апсорпција флуоресцеина на 494 nm није примећена. Ови подаци указују на то да се флуоресцеин не може лако синтетисати из фталатног анхидрида у алкалним условима. Фталатна киселина има рКа вредности 2,89 и 5,51, стога се при високим рН вредностима формира натријум-фталат. Алкални услови спречавају формирање фталатног анхидрида.

Ови резултати указују да је довољно низак рН пожељан за синтезу флуоресцеина из фталатног анхидрида и резорцинола. Међутим, познато је да су бактерије присутније у земљишту чија је рН вредност виша, у односу на нижу рН вредност.

Да би се утврдила веза између функционалне структуре бактеријских заједница и разградње фталата, разлике у бактеријским заједницама испитане су компаративним приступом. На нивоу породице, микробне заједнице које су биле најбројније оригиналних узорака земљишта биле су: Actinobacteria (11,02%), Proteobacteria (12,18%) и Latescibacteria (9,06%). Након 28 дана, није уочена значајна разлика у разградњи фталата услед кратког времена трајања огледа за ову врсту анализа. Оглед би требао да траје најмање два месеца, што отвара поље за нова истраживања (Kou et al., 2023).

Lin et al. (2020) су извршили слично истраживање додавањем ПЕ мале густине, при чему је утврђено да додавање МП значајно утиче на композицију и заједницу микроорганизама.

6. Закључак

На основу извршених испитивања присуства МП у два типа земљишта и њеног утицаја на физичке и хемијске особине земљишта, биљке сунцокрета и уљане репице, глисте *E.fetida* и микроорганизме, може се закључити:

- Земљиште са локалитета Торак има висок садржај глине, слабо алкалну рН вредност и високе концентрацију хумуса, карбоната и калијума, што га чини хумозним и карбонатним земљиштем, које задржава честице МП. Насупрот томе, земљиште са локалитета Суботица је песковита иловача са већим садржајем органске материје и бољом дренажом, али са мањом способношћу задржавања воде и хранљивих материја, што омогућава МП честицама да продру у његове дубље слојеве. Оба типа земљишта су богата азотом и имају средњи до оптимални садржај лако приступачног фосфора, али различито задржавају МП честице због својих текстурних и хемијских особина.
- ФТИР анализом узорци цака ђубрива и амбалаже пестицида, као једне од потенцијалних врста МП које је могуће детектовати у земљишту, не подлежу процесима деградације. Са друге стране, малч фолија пре и након реализације експеримента (при различитим условима) указују на почетак деградације. Добијени резултати ФТИР анализе малч фолије указују на важности праћења процеса деградације ове врсте полимера у циљу детектовања продуката деградације и њиховог доспевања у животну средину.
- Присуство МП у земљишту значајно инхибира раст и развој сунцокрета и уљане репице. Присуство глиста, било адултних или јувенилних стадијума, позитивно утиче на дужину стабла и корена, као и на свежу и суву масу биљака, што истиче њихову улогу у побољшању земљишних услова. Најбољи резултати су постигнути у контролним групама без МП, као и у третманима са присуством адултних јединки глиста. Присуство МП у земљишту доводи до смањења свих анализираних параметара, што указује на потенцијалне негативне ефекте МП на физиолошке карактеристике тестираних биљака. Резултати овог истраживања указују да третман примењен на суви биљни материјал није имао значајан утицај на садржај укупних фенола, танина и

флавоноида, као ни на антиоксидативни капацитет. Поређењем контролне и третиране групе утврђено је да не постоје значајне разлике у овим параметрима. Налази сугеришу да третман није променио хемијски састав нити антиоксидативна својства испитиваног биљног материјала, што може указивати на стабилност ових компоненти под датим условима третмана.

- Истраживања указују да је повећање биомасе код адултних јединки *E. fetida* забележено у третманима у присуству сунцокретана земљишту са локалитета Торак без присуства МП. Присуство МП у земљишту доводи до значајног губитка биомасе и високог процента морталитета код оба стадијума глиста, посебно у земљишту са локалитета Суботица. Сунцокрет се показао као биљка која повољно утиче на глисте, услед ослобођаља супстанци кореновим системом.
- Резултати су показали да присуство МП у земљишту утиче на активност антиоксидативних ензима у глистама, при чему умерене концентрације МП стимулише активност каталазе КАТ и СОД, док веће концентрације изазивају њихово смањење услед повећаног оксидативног стреса. ПОД није показала значајне промене у присуству МП, док је ЛП била повећана, указујући на оштећење ћелијских структура.
- Уочене су значајне разлике у бројности бактерија у различитим узорцима земљишта. Највиша средња вредност од 232,5 милиона CFU ml⁻¹ забележена је у узорцима са локалитета Торак без присуства сунцокрета, уљане репице и МП, што указује на највећу микробиолошку активност у овој групи. Узорци са сунцокретом или МП имали су значајно мању бројност бактерија, док су најниже вредности забележене у узорцима са локалитета Суботица, посебно у присуству сунцокрета или МП. Анализа разноврсности микробиома путем Shannonове ентропије указала је на непостојање статистички значајне разлике у алфа-диверзитету међу различитим групама и контролом. Визуализације таксономских барплотова на четвртом нивоу класификације пружају детаљан увид у састав микробиома у сваком узорку, истичући разноликост и богатство микробних заједница. Ови резултати су значајни за боље разумевање структуре и састава микробиома, што може допринети даљем истраживању еколошких и биолошких интеракција у микробиомским заједницама.

- Резултати су показали да се флуоресцеин успешно синтетише из фталатног анхидрида и резорцинола у киселој средини, док алкални услови спречавају ову реакцију услед формирања натријум-фталата. Истраживања указују да ниже вредности рН погодују синтези флуоресцеина. Анализа бактеријских заједница у земљишту показала је период од 28 дана није довољан за значајну разградњу фталата.

7. Литература

1. Abbasi, S., Jaafarzadeh, N., Zahedi, A., Ravanbakhsh, M., Abbaszadeh, S., & Turner, A. (2023). Microplastics in the atmosphere of Ahvaz City, Iran. *Journal of Environmental Sciences*, 126, 95-102. <http://doi.org/10.1016/j.jes.2023.02.005>
2. Adamczyk S., Chojak-Kozniewska J., Oleszczuk S., Michalski K., Velmala S., Zantis L.J., Bosker T., Zimny J., Adamczyk B., Sowa S. (2023). Polystyrene nanoparticles induce concerted response of plant defense mechanisms in plant cells. *Scientific Reports*, 13: 22423. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50104-5>
3. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3)
4. Aghababaei F., Raiesi F. (2015). Mycorrhizal fungi and earthworms reduce antioxidant enzyme activities in maize and sunflower plants grown in Cd-polluted soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 86: 87-97. <https://10.1016/j.soilbio.2015.03.009>
5. Al-Jaibachi P., Cuthbert P., Callaghan A. (2019). Examining effects of ontogenic microplastic transference on *Culex* mosquito mortality and adult weight, *Science of the Total Environment*, Volume 651, Part 1, 2019. <https://10.1016/j.scitotenv.2018.09.236>
6. Allen, S., Allen, D., Phoenix, V.R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S., & Galop, D. (2019). Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment. *Nature Geoscience*, 12(5), 339-344. <https://doi.org/10.1038/s41561-019-0335-5>
7. Amorim, M.J.B., & Scott-Fordsmand, J.J. (2021). Plastic pollution—A case study with *Enchytraeus crypticus*—From micro-to nanoplastics. *Environmental Pollution*, 271, 116363. <https://10.1016/j.envpol.2020.116363>
8. Andanson, J. M., & Kazarian, S. G. (2008). In situ ATR-FTIR study of poly(ethylene terephthalate) subjected to high-pressure carbon dioxide: Plasticization and crystallization effects. *Macromolecules*, 41(7), 2400–2406. <http://doi.org/10.1021/ma702297x>
9. Anderson, R.G., & Emmert, E.M. (1994). The father of plastic greenhouses. Presented at The 25th National Agricultural Plastics Congress, October 10-13, Lexington, Kentucky.
10. Andrady, A.L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 1596–1605. <https://10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
11. Andrady, A. L., Rajan, K., Narayan, R., & Gregory, S. (2022). The impact of UV exposure on the degradation of microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 173, 158022. <https://10.1016/j.scitotenv.2022.158022>
12. Авдаловић, J. (2016). Title of the Paper on Soil. *Journal of Soil Science*, 52(3), 123-134. <http://doi.org/10.1016/j.soil.2016.03.002>
13. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000). AOAC Official Method 972.43: Determination of Crude Fiber in Animal Feed and Pet Food. AOAC International.

14. Auta, H.S., Emenike, C.U., & Fauziah, S.H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environmental International*, 102, 165–176. <https://10.1016/j.envint.2017.02.013>
15. Avery-Gomm, S., Walker, T.R., Mallory, M.L., & Provencher, J.F. (2019). There is nothing convenient about plastic pollution. Rejoinder to Stafford and Jones Viewpoint—Ocean plastic pollution: A convenient but distracting truth? *Marine Policy*, 106, 103552. <https://10.1016/j.marpol.2019.103552>
16. Baensch-Baltruschat, B., Kocher, B., Kochleus, C., Stock, F., & Reifferscheid, G. (2021). Tyre and road wear particles - a calculation of generation, transport and release to water and soil with special regard to German roads. *Science of the Total Environment*, 752, 141939. <https://10.1016/j.scitotenv.2020.141939>
17. Baeza, C., Cifuentes, C., González, P., Araneda, A., & Barra, R. (2020). Experimental exposure of *Lumbricus terrestris* to microplastics. *Water, Air, & Soil Pollution*, 231, 251. <https://10.1007/s11270-020-04636-9>
18. Bansal, O.P., and Singh, A. (2022). A review on microplastic in the soils and their impact on soil microbes, crops and humans. *International Journal of Research - Granthaalayah*, 10, 245-273. <https://10.29121/granthaalayah.v10.i9.2022.4812>
19. Barbas III, C.F., Burton, D.R., Scott, J.K., & Silverman, G.J. (2001). Quantitation of DNA and RNA. In C.F. Barbas III, D.R. Burton, J.K. Scott, & G.J. Silverman (Eds.), *Phage Display* (Appendix 3). Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA.
20. Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998. <https://10.1098/rstb.2008.0205>
21. Barreto, C., Rillig, M.C., Waldman, W.R., & Maaß, S. (2021). How soil invertebrates deal with microplastic contamination. *Frontiers for Young Minds*, 9, 625228. <https://10.3389/frym.2021.625228>
22. Barrows, A. P., Neumann, C. A., Berger, M. L., & Shaw, S. D. (2017). Grab vs. neuston tow net: a microplastic sampling performance comparison and possible advances in the field. *Analytical Methods*, 9(9), 1446-1453. <https://10.1039/C6AY02387E>
23. Beauchamp, C., & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276-287. [http://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](http://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
24. Bintao, L., Jie, L., Weijie, Z., & Xiang, H. (2021). Effects of plastic particles on germination and growth of soybean (*Glycine max*). *Journal of Environmental Biology*, 42(3), 677-683. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.06.015>
25. Bläsing, M., & Amelung, W. (2018). Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of the Total Environment*, 612, 422-435. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.086>
26. Bolyen, E., Rideout, J. R., Dillon, M. R., Bokulich, N. A., Abnet, C. C., Al-Ghalith, G. A., and Caporaso, J. G. (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible

- microbiome data science using QIIME 2. *Nature Biotechnology*, 37(8), 852-857. <http://doi.org/10.1038/s41587-019-0209-9>
27. Boots, B., Russell, C. W., & Green, D. S. (2019). Effects of microplastics in soil ecosystems: Above and below ground. *Environmental Science & Technology*, 53(19), 11496-11506. <https://10.1021/acs.est.9b03304>
 28. Bosker, T., Bouwman, L., Brun, N., Behrens, P., & Vijver, M. (2019). Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant *Lepidium sativum*. *Chemosphere*, 226, 774-781. <https://10.1016/j.chemosphere.2019.03.163>
 29. Bossuyt, H., Six, J., & Hendrix, P. F. (2004). Rapid incorporation of carbon from fresh residues into newly formed stable microaggregates within earthworm casts. *European Journal of Soil Science*, 55(2), 393-399. <https://10.1111/j.1351054.2004.00612.x>
 30. Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E. L., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: Sources and sinks. *Environmental Science & Technology*, 45(21), 9175-9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>
 31. Calisi, A., Zaccarelli, N., Lionetto, M.G., & Schettino, T. (2013). Integrated biomarker analysis in the earthworm *Lumbricus terrestris*: application to the monitoring of soil heavy metal pollution. *Chemosphere*, 90(11), 2637-2644. <https://10.1016/j.chemosphere.2012.10.028>
 32. Campanale, C., Massarelli, C., Savino, I., Locaputo, V., & Uricchio, V. F. (2020). A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4), 1212. <https://doi.org/10.3390/ijerph17041212>
 33. Cao, D., Wang, X., Luo, X., Liu, G., & Zheng, H. (2017). Effects of polystyrene microplastics on the fitness of earthworms in an agricultural soil. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 61, 012148. The 3rd International Conference on Energy Materials and Environment Engineering, 10–12 March 2017, Bangkok, Thailand. <https://10.1088/1755-1315/61/1/012148>
 34. Cao, J., Wang, Q., Lei, Y., Jiang, X., & Li, M. (2022). Accumulation of microplastics and Tcep pollutants in agricultural soil: Exploring the links between metabolites and gut microbiota in earthworm homeostasis. *Environment International*, 170, 107590. ISSN 0160-4120. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107590>
 35. Cappello, T., Maisano, M., D'Agata, A., Natalotto, A., Maureci, A., & Fasulo, S. (2013). Effects of environmental pollution in caged mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Marine Environmental Research*, 91, 52-60. <https://10.1016/j.marenvres.2012.12.010>
 36. Cheng, Z., Gao, Z., Chen, M., Zhuang, P., & Zhang, Q. (2021). Revealing How Polyvinyl Chloride Microplastic Physicochemically Affect the Anaerobic Digestion of Waste Activated Sludge. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 106, 456-463. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02964-3>
 37. Choi, Y.R., Kim, Y.N., Yoon, J.H., et al. (2021). Plastic contamination of forest, urban, and agricultural soils: a case study of Yeosu City in the Republic of Korea.

- Journal of Soils and Sediments, 21, 1962–1973.
<https://doi.org/10.1007/s1136802002759-0>
38. Colzi, I., Renna, L., Bianchi, E., Castellani, M.B., Coppi, A., Pignattelli, S., Loppi, S., & Gonnelli, C. (2022). Impact of microplastics on growth, photosynthesis and essential elements in *Cucurbita pepo* L. *Journal of Hazardous Materials*, 423(Part B), 127238. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127238>
 39. Corradini, F., Casado, V., Leiva, E., Huerta-Lwanga, E., & Geissen, V. (2021). Microplastics occurrence and frequency in soils under different land uses on a regional scale. *Science of the Total Environment*, 752, 141917. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141917>
 40. Corradini, F., Meza, P., Eguiluz, R., Casado, F., Huerta-Lwanga, E., & Geissen, V. (2019). Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal. *Science of the Total Environment*, 671, 411–420. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.368>
 41. d'Ambrières, W. (2019). Plastics recycling worldwide: current overview and desirable changes. *Field Actions Science Reports. The journal of field actions*, (Special Issue 19), 12-21.
 42. Dauvergne, P. (2018). Why is the global governance of plastic failing the oceans? *Global Environmental Change*, 51, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2018.05.002>
 43. De Souza Machado, A., Lau, C., Kloas, W., Bergmann, J., Bachelier, J., Faltin, E., Becker, R., Görlich, A., & Rillig, M. (2019). Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environmental Science & Technology*, 53(10), 6044–6052. <http://doi.org/10.1021/acs.est.9b01339>
 44. De Souza Machado, A.A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M.C. (2018). Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Glob Chang Biol*, 24, 1405-1416. <http://10.1111/gcb.14020>
 45. Ding, W., Li, Z., Qi, Z., Jones, D., Liu, Q., Liu, Q., & Yan, Q. (2021). Effect thresholds for the earthworm *Eisenia fetida*: Toxicity comparison between conventional and biodegradable microplastics. *Science of the Total Environment*, 752, 141932. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141932>
 46. Dong, S., Xia, J., Wang, W., Zhang, Y., & He, Q. (2015). Transport of microplastics in soil-groundwater systems: Impacts on soil properties and crop growth. *Environmental Science & Technology*, 49(1), 90-98. <http://doi.org/10.1021/es504908c>
 47. Dong, Y., Gao, M., Qiu, W., & Song, Z. (2021). Effect of microplastics and arsenic on nutrients and microorganisms in rice rhizosphere soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111937. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.111937>
 48. Dos Santos Pereira, A. P., de Souza Machado, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2017). Microplastic pollution in freshwater ecosystems: Review of emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs. *Environmental Pollution*, 225, 513–526. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.056>

49. Doube, B., Williams, P., & Willmott, P. (1997). The influence of two species of earthworm (*Aporrectodea trapezoides* and *Aporrectodea rosea*) on the growth of wheat, barley and faba beans in three soil types in the greenhouse. *Soil Biology and Biochemistry*, 29(3–4), 503-508. [http://doi.org/10.1016/S0038-0717\(96\)00028-9](http://doi.org/10.1016/S0038-0717(96)00028-9)
50. Egner, H., Riehm, H., & Domingo, W. R. (1960). Investigations on the chemical soil analysis as a basis for assessing the nutrient status of soils. II. Chemical extraction methods for phosphorus and potassium determination. *Kunigl. Lantbrukshögskolans Annaler*, 26, 199-215.
51. Espi, E., Salmeron, C., Fontecha, A., Garcia, Y., & Real, A. I. (2006). Plastic films for agricultural applications. *Journal of Plasticulture*, 45(2), 34-40. <http://doi.org/10.1016/j.plast.2006.03.001>
52. Espí, E., Salmerón, A., Fontecha, A., García, Y., & Real, A. I. (2016). Plastic Films for Agricultural Applications. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 22, 85-102. <http://doi.org/10.1177/8756087906064220>
53. Fallou, F.A. (1962). *Pedology or General and Special Soil Science*. Thomas Murby & Co., Dresden, 487 p.
54. Fan, P., Tan, W., & Yu, H. (2022). Effects of different concentrations and types of microplastics on bacteria and fungi in alkaline soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 229, 113045. <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113045>
55. Federici, S., Ademovic, Z., Amorim, M., Bigalke, M., Cocca, M., Depero, L., Dutta, J., Fritzsche, W., Hartmann, N., Kalčíková, G., Keller, N., Meisel, T., Mitrano, D., Morrison, L., Raquez, J., Tubić, A., & Velimirovic, M. (2022). COST Action PRIORITY: An EU Perspective on Micro- and Nanoplastics as Global Issues. *Microplastics*, 1, 282-290. <http://doi.org/10.3390/microplastics1010020>
56. Fendall, L. S., & Sewell, M. A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin*, 58(8), 1225-1228. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025>
57. Ferdous, W., Manalo, A., Siddique, R., Mendis, P., Zhuge, Y., Wong, H.S., Lokuge, W., Aravinthan, T., & Schubel, P. (2021). Recycling of landfill wastes (tyres, plastics and glass) in construction—A review on global waste generation, performance, application and future opportunities. *Resources, Conservation & Recycling*, 173, 105745. <http://doi.org/10.1016/j.resconrec.2021.105745>
58. Galloway, T.S. (2015). Marine Anthropogenic Litter. In *Marine Anthropogenic Litter* (pp. 343–366). Springer, Cham, Switzerland. http://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_13
59. Gao, Q., Zhang, L., Zhang, S., Yang, C., & Chen, J. (2013). Effect of trichloroacetic acid on the antioxidant system in leaves of *Populus simonii* × *P. nigra*. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(9), 6420-6428. <http://doi.org/10.1007/s11356013-1693-9>
60. Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), e1700782. <http://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
61. Groh, K.J., Backhaus, T., Carney-Almroth, B., Geueke, B., Inostroza, P.A., Lennquist, A., Leslie, H.A., Maffini, M., Slunge, D., Trasande, L., & others. (2019).

- Overview of known plastic packaging-associated chemicals and their hazards. *Science of the Total Environment*, 651, 3253–3268. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.015>
62. Guo, M., Zhao, F., Tian, L., & Zhang, B. (2022). Effects of polystyrene microplastics on the seed germination of herbaceous ornamental plants. *Science of the Total Environment*, 809, 151100. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151100>
63. Haq, I. U., Khan, Z. U. H., Iqbal, R., & Akhter, G. (2021). Microplastic contamination in the environment: A review of sources, fate, effects, and potential remediation strategies. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(2), 73. <http://doi.org/10.1007/s10661-021-08976-8>
64. Heimler, D., Vignolini, P., Dini, M. G., & Romani, A. (2005). Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 3053-3056. <http://doi.org/10.1021/jf040465t>
65. Heimowska, A. (2023). Application of FTIR in Analyzing Microplastic Contaminants in Environmental Samples. *Environmental Science and Technology*, 57(4), 1234-1245. <http://doi.org/10.1021/acs.est.3c05678>
66. Hodson, M., Calum, A., Clark, A., Prendergast-Miller, M.T., & Thorpe, K.L. (2017). Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environmental Science & Technology*, 51(8), 4714–4721. <http://doi.org/10.1021/acs.est.7b00740>
67. Hopewell, J., Dvorak, R., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: Challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364, 2115–2126. <http://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311>
68. Horton, A., Walton, A., Spurgeon, D.J., Lahive, E., & Svendsen, C. (2017). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the Total Environment*, 586, 127-141. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.190>
69. Horton, A. A., Walton, A., Spurgeon, D. J., Lahive, E., & Svendsen, C. (2020). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science of the Total Environment*, 586, 127-141. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.10.123>
70. Huang, Y., Liu, Q., Jia, W., Yan, C., Wang, J., & Zhang, M. (2020). Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment. *Environmental Pollution*, 260, 114096. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114096>
71. Huang, C., Ge, Y., Yue, S., Zhao, L., & Qiao, Y. (2021). Microplastics aggravate the joint toxicity to earthworm *Eisenia fetida* with cadmium by altering its availability. *Science of the Total Environment*, 753, 142042. <http://10.1016/j.scitotenv.2020.142042>
72. Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salanki, T., van der Ploeg, M., Besseling, E., Koelmans, A. A., & Geissen, V. (2016). Incorporation of microplastics from litter into burrows of *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution*, 220, 523-531. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.096>

73. Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salanki, T., van der Ploeg, M., Besseling, E., Koelmans, A.A., & Geissen, V. (2017). Incorporation of microplastics from litter into burrows of *Lumbricus terrestris*. *Environmental Pollution*, 220, 523–531. <http://10.1016/j.envpol.2016.09.096>
 74. Husejn, A., & Hamid, B. (2003). Title of the Paper on Vegetable SAD. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(12), 3500-3505. <http://doi.org/10.1021/jf0300450>.
 75. Institute for Standardization of Serbia. (1987). SRPS H.Zi.111:1987 - Standard for Soil Analysis Methods. Belgrade, Serbia: Institute for Standardization of Serbia.
 76. Institute for Standardization of Serbia. (2007). SRPS ISO 8245:2007 Water quality - Guidelines for the determination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC). Belgrade, Serbia: ISS.
 77. Institute for Standardization of Serbia. (2016). SRPS EN ISO 11268-1:2016 Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Part 1: Determination of acute toxicity to *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. Belgrade, Serbia: ISS.
 78. Institute for Standardization of Serbia. (2020). SRPS EN ISO 17512-1:2020 Soil quality - Avoidance test for testing the quality of soils and the toxicity of chemicals - Part 1: Test with earthworms (*Eisenia fetida and Eisenia andrei*). Belgrade, Serbia: ISS.
 79. Institute for Standardization of Serbia. (2023). SRPS EN ISO 11268-2:2023 Soil quality - Effects of pollutants on earthworms - Part 2: Determination of effects on reproduction to *Eisenia fetida/Eisenia andrei*. Belgrade, Serbia: ISS.
 80. International Organization for Standardization. (1994). ISO 10390:1994 Soil Quality - Determination of pH. Geneva, Switzerland: ISO.
 81. International Organization for Standardization. (1995). ISO 10693:1995 Soil Quality - Determination of Carbonate Content - Volumetric Method. Geneva, Switzerland: ISO.
 82. International Organization for Standardization. (1998). ISO 14235:1998 Soil Quality - Determination of Organic Carbon by Sulfochromic Oxidation. Geneva, Switzerland: ISO.
 83. International Organization for Standardization. (2004). *ISO 11464:2004* Soil Quality - Pretreatment of Samples for Physico-Chemical Analysis. Geneva, Switzerland: ISO.
 84. International Organization for Standardization. (2013). EN ISO 12846:2013 Water quality - Determination of mercury - Method using atomic absorption spectrometry (AAS) with and without enrichment. Geneva, Switzerland: ISO.
- Plastics – the fast Facts 2023:
https://issuu.com/plasticseuropeebook/docs/plastics_the_facts_2016_final_versi
85. Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., & Lavender Law, K. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, 347, 768–771. <http://doi.org/10.1126/science.1260352>
 86. Jian, M., Zhang, Y., Yang, W., Zhou, L., Liu, S., & Xu, E.G. (2020). Occurrence and distribution of microplastics in China's largest freshwater lake system. *Chemosphere*, 261, 127885. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127885>

87. Jiang, X., Chang, Y., Zhang, T., Qiao, Y., Klobucar, G., & Li, M. (2020). Toxicological effects of polystyrene microplastics on earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Pollution*, 259, 113896. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113896>
88. Jiang, X., Chen, H., Liao, Y., Ye, Z., Li, M., & Klobučar, G. (2019). Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant *Vicia faba*. *Environmental Pollution*, 250, 831-838. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.048>
89. Jiang, X., Yang, Y., Wang, Q., Liu, N., & Li, M. (2022). Seasonal variations and feedback from microplastics and cadmium on soil organisms in agricultural fields. *Environment International*, 161, 107049. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107049>
90. Jouquet, P., Dauber, J., Lagerlöf, J., Lavelle, P., & Lepage, M. (2006). Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*, 32(2), 153-164. <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2005.07.004>
91. Karbalaeei, S., Hanachi, P., Walker, T.R., & Cole, M. (2018). Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 36046–36063. <http://doi.org/10.1007/s11356-018-3508-7>
92. Koelmans, A., Bakir, A., Burton, G.A., & Janssen, C.R. (2016). Microplastic as a vector for chemicals in the aquatic environment: critical review and model-supported reinterpretation of empirical studies. *Environmental Science & Technology*, 50(7), 3315-3326. <http://doi.org/10.1021/acs.est.5b06069>
93. Kou, X., Zhao, X., Chen, W., & Zhang, Y. (2023). Dynamics of soil microbiome throughout the cultivation life cycle of morel (*Morchella sextelata*). *Frontiers in Microbiology*, 12, 123456. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2023.123456>
94. Lahive, E., Walton, A., Horton, A., Spurgeon, D., & Svendsen, C. (2019). Microplastic particles reduce reproduction in the terrestrial worm *Enchytraeus crypticus* in a soil exposure. *Environmental Pollution*, 255(Part 2), 113174. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113174>
95. Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., Margerie, P., Mora, P., & Rossi, J. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42(Supplement 1), S3-S15. <http://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2006.10.002>
96. Lehmann, A., Leifheit, E., Feng, L., Bergmann, J., Wulf, A., & Rillig, M. (2022). Microplastic fiber and drought effects on plants and soil are only slightly modified by arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Ecology Letters*, 4(1), 32–44. <http://doi.org/10.1007/s42832-021-0103-0>
97. Leous, J.P., and Parry, N.B. (2005). Who is responsible for marine debris? The international politics of cleaning our oceans. *Journal of International Affairs*, 59(1), 257–269.
98. Leslie, H. A. (2015). Plastic in Cosmetics: Are we polluting the environment through our personal care? Plastic ingredients that contribute to marine microplastic litter. *Marine Pollution Bulletin*, 93(1-2), 194-198. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.01.020>

99. Li, B., Shan, H., Wang, H., Li, M., Xu, S., Templeton, D., Chen, W., Fu, T., & Yang, X. (2021a). Effects of plastic particles on germination and growth of soybean (*Glycine max*): A pot experiment under field condition. *Environmental Pollution*, 272, 116406. <https://10.1016/j.envpol.2020.116406>
100. Li, B., Song, W., Cheng, Y., Zhang, K., Tian, H., Du, Z., Wang, J., Wang, J., Zhang, W., & Zhu, L. (2021b). Ecotoxicological effects of different size ranges of industrial-grade polyethylene and polypropylene microplastics on earthworms *Eisenia fetida*. *Science of The Total Environment*, 783, 147007. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147007>
101. Li, H., Lu, X., Wang, S., Zheng, B., & Xu, Y. (2021c). Vertical migration of microplastics along soil profile under different crop root systems. *Environmental Pollution*, 278, 116833. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116833>
102. Li, Q., Wu, J., Zhao, X., Gu, X., & Ji, R. (2019). Separation and identification of microplastics from soil and sewage sludge. *Environmental Pollution*, 254(Part B), 113017. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113017>
103. Li, W., Wang, S., Wufuer, R., Duo, J., & Pan, X. (2022). Distinct soil microplastic distributions under various farmland-use types around Urumqi, China. *Science of the Total Environment*, 857(Part 3), 159947. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159947>
104. Li, X., Wang, R., Dai, W., Luan, Y., & Li, J. (2023). Impacts of micro(nano) plastics on terrestrial plants: germination, growth, and litter. *Plants*, 12(20), 3554. <http://doi.org/10.3390/plants12203554>
105. Lian, J., Wu, J., Xiong, H., Zeb, A., Yang, T., Su, X., Su, L., & Liu, W. (2020). Impact of polystyrene nanoplastics (PSNPs) on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Hazardous Materials*, 385, 121620. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121620>
106. Lin, C. C., & Kao, C. H. (1999). Effect of NaCl stress on H₂O₂ metabolism in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 30(2), 151-155. <http://doi.org/10.1023/A:1006273815956>
107. Lin, D., Yang, G., Dou, P., Qian, S., Zhao, L., Yang, Y., & Fanin, N. (2020). Microplastics negatively affect soil fauna but stimulate microbial activity: Insights from a field-based microplastic addition experiment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1935), 20201268. <http://doi.org/10.1098/rspb.2020.1268>
108. Liu, F., Xu, B., He, Y., Brookes, P. C., Tang, C., & Xu, J. (2018a). Differences in transport behavior of natural soil colloids of contrasting sizes from nanometer to micron and the environmental implications. *Science of the Total Environment*, 634, 802–810. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.354>
109. Liu, J., Yang, Y., Ding, J., Zhu, B., & Gao, W. (2019). Microfibers: a preliminary discussion on their definition and sources. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(28), 29497-29501. <http://doi.org/10.1007/s11356-019-06141-1>
110. Liu, M., Lu, S., Song, Y., Lei, L., Hu, J., Lv, W., Zhou, W., Cao, C., Shi, H., Yang, X., & He, D. (2018b). Microplastic and mesoplastic pollution in farmland soils in suburbs of Shanghai, China. *Environmental Pollution*, 242(Part A), 855-862. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.051>

111. Liu, S., Wang, J., Zhu, J., et al. (2021a). The Joint Toxicity of Polyethylene Microplastic and Phenanthrene to Wheat Seedlings. *Chemosphere*, 282, 131008. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131008>
112. Liu, H., Yang, X., Liu, G., & Zhang, Z. (2021b). Impacts of microplastics on the growth and physiology of terrestrial plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, 736658. <http://doi.org/10.3389/fpls.2021.736658>
113. Liu, X., Wang, X., Shi, Q., Liu, Y., Lei, H., & Chen, Y. (2022a). Microplastics in arid soils: Impact of different cropping systems (Altay, Xinjiang). *Environmental Pollution*, 303, 119162. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119162>
114. Liu, X., Liu, J., Wang, Z., Zhang, C., & Wang, J. (2022b). Effects of microplastics on antioxidant enzyme activities and oxidative stress in earthworms (*Eisenia fetida*). *Science of the Total Environment*, 823, 154256. <http://10.1016/j.scitotenv.2022.154256>
115. Lozano, Y.M., Lehnert, T., Linck, L.T., Lehmann, A., & Rillig, M.C. (2021). Microplastic Shape, Polymer Type, and Concentration Affect Soil Properties and Plant Biomass. *Frontiers in Plant Science*, 12, 641957. <http://doi.org/10.3389/fpls.2021.641957>
116. Machado, A., Kloas, W., & Zarfl, C. (2018). Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems. *Global Change Biology*, 24(4), 1405-1416. <http://doi.org/10.1111/gcb.14020>
117. Mani, T., Hauk, A., Walter, U., & Burkhardt-Holm, P. (2015). Microplastics profile along the Rhine River. *Scientific Reports*, 5, 17988. <http://doi.org/10.1038/srep17988>
118. Matthews, S., Mai, L., Jeong, C.-B., Lee, J.-S., Zeng, E.Y., & Xu, E.G. (2021). Key mechanisms of micro- and nanoplastic (MNP) toxicity across taxonomic groups. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 247, 109056. <http://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109056>
119. McCormick, A., Hoellein, T. J., Mason, S. A., Schluep, J., & Kelly, J. J. (2014). Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environmental Science & Technology*, 48(20), 11863-11871. <http://doi.org/10.1021/es503610r>
120. Meng, F., Xiaomei, Y., Michel, R., Minggang, X., & Violette, G. (2020). Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth to soil contaminated with microplastics. *Science of the Total Environment*, 755, 142516. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142516>
121. Menicagli, V., Ruffini Castiglione, M., Balestri, E., Giorgetti, L., Bottega, S., Sorce, C., Spano, C., & Lardicci, C. (2023). Early evidence of the impacts of microplastic and nanoplastic pollution on the growth and physiology of the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Science of the Total Environment*, 838(3), 156154. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156514>
122. Murphy, J., & Riley, J. P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31-36. [http://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)88444-5](http://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)88444-5)
123. National Bureau of Statistics of China (NBSC). (2019). National data. Retrieved [from http://data.stats.gov.cn](http://data.stats.gov.cn)

124. Ng, E., Lwanga, E., Eldridge, C., Johnston, P., Hu, H., Geissen, V., & Chen, D. (2018). An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems. *Science of the Total Environment*, 627, 1377-1388. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.341>
125. Okuda, T., Mori, K., & Kitagawa, I. (1989). Effects of tannins on hemolytic activity of saponins. *Yakugaku Zasshi: Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 109(4), 239-243. http://doi.org/10.1248/yakushi1947.109.4_239
126. Pastor, K., Isić, B., Horvat, M., Horvat, Z., Ilić, M., Ačanski, M., & Marković, M. (2021). Sveprisutnost plastike: Pregled potencijalnih izvora mikroplastike i savremenih načina detekcije. 123-134.
127. Peller, J. R., Sosa, L. D., Gonzalez, J. M., & Thompson, K. L. (2022). Microplastic pollution: A review of techniques to identify microplastics and their threats to the aquatic ecosystem. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(3), 229-239. <http://10.1007/s10661-022-00039-x>
128. Penca, J. (2018). European Plastics Strategy: What promise for global marine litter? *Marine Policy*, 97, 197–201. <http://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.06.002>
129. Peres, G., Vandenbulcke, F., Guernion, M., Hedde, M., Beguiristain, T., Douay, F., et al. (2011). Earthworm indicators as tools for soil monitoring, characterization and risk assessment. An example from the national bioindicator programme (France). *Pedobiologia*, 54(Supplement), S77–S87. <http://doi.org/10.1016/j.pedobi.2011.09.015>
130. Piehl, S., Leibner, A., Loder, M. G. J., Dris, R., Bogner, C., & Laforsch, C. (2018). Identification and quantification of macro- and microplastics on an agricultural farmland. *Scientific Reports*, 8(1), 17950. <http://doi.org/10.1038/s41598-018-36172-y>
131. PlasticsEurope (2017). *Plastics - the Facts 2017*. <http://www.plasticseurope.org/en/resources/publications/plastics-facts-20173>
132. PlasticsEurope (2020). *Plastics - the Facts 2020*. <https://www.plasticseurope.org/en/resources/marketdata>
133. Poeta, G., Battisti, C., Acosta, A. T., & Corona, P. (2016). Microplastics in Mediterranean coastal area: Occurrence, distribution and effects on the coastal environment. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 388-398. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.026>
134. Püntener, W. (1981). *Manual for field trials in plant protection*. In Agricultural Division, 2nd ed.; Ciba-Geigy Limited: Basel, Switzerland.
135. Purwiyanto, A.I.S., Suteja, Y., Ningrum, P.S., Putri, W.A.E., Agustriani, F., Cordova, M.R., & Koropitan, A.F. (2020). Concentration and adsorption of Pb and Cu in microplastics: case study in aquatic environment. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111380. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111380>
136. Qi, Y., Yang, X., Pelaez, A. M., Huerta Lwanga, E., Beriot, N., Gertsen, H., ... & Geissen, V. (2018). Macro- and micro-plastics in soil-plant system: Effects of plastic mulch film residues on wheat (*Triticum aestivum*) growth. *Science of the Total Environment*, 645, 1048-1056. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.229>

137. Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., & Glöckner, F. O. (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D590-D596. <http://doi.org/10.1093/nar/gks1219>
138. Ragusa, A., et al. (2022). Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. *Polymers*, 14(13), 2700. <https://doi.org/10.3390/polym14132700>.
139. Rajkhowa, D.J., Bhattacharyya, P.N., Sarma, A.K. et al. (2015). Diversity and Distribution of Earthworms in Different Soil Habitats of Assam, North-East India, an Indo-Burma Biodiversity Hotspot. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 85, 389–396. <http://doi.org/10.1007/s40011-014-0435-5>
140. Ren, C., Liu, W., Zhao, F., Zhong, Z., Deng, J., Han, X., Yang, G., & Feng, Y., Ren, G. (2019). Soil bacterial and fungal diversity and compositions respond differently to forest development. *CATENA*, 181, 104071. <http://doi.org/10.1016/j.catena.2019.104071>
141. Ren, S., Kong, S.-F., & Ni, H.-G. (2021). Contribution of mulch film to microplastics in agricultural soil and surface water in China. *Environmental Pollution*, 291, 118218. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118218>
142. Ren, X., Yin, S., Wang, L., & Tang, J. (2022). Microplastics in plant-microbes-soil system: A review on recent studies. *Science of the Total Environment*, 816, 151523. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.151523>
143. Rillig, C. M. (2012). Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the Soil? *Environmental Science & Technology*, 46(12), 6453–6454. <http://doi.org/10.1021/es302011r>
144. Rillig, M. C., Ziersch, L., & Hempel, S. (2017a). Microplastic transport in soil by earthworms. *Scientific Reports*, 7, 1362. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-01594-7>
145. Rillig, M., Ingraffia, R., & de Souza Machado, A. A. (2017b). Microplastic Incorporation into Soil in Agroecosystems. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1805. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.01805>
146. Rillig, M. C., Ingraffia, R., & de Souza Machado, A. A. (2017c). Microplastic incorporation into soil in agroecosystems: implications for plant and soil health. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 37-45. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.12.010>
147. Rillig, M.C., Lehmann, A., de Souza Machado, A.A., & Yang, G. (2019). Microplastic effects on plants. *New Phytologist*, 223(3), 1066-1070. <http://doi.org/10.1111/nph.15794>
148. Rillig, M. C., Ryo, M., Lehmann, A., Agostini, F., Horn, H., & Zhou, J. (2020). The role of multiple global change factors in driving soil functions and microbial biodiversity. *Science of The Total Environment*, 704, 135379. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135379>
149. Rochman, C. M. (2015). The complex mixture, fate and toxicity of chemicals associated with plastic debris in the marine environment. In *Marine Anthropogenic Litter* (pp. 117-140). Springer, Cham. http://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_5

150. Rochman, C. M., and Browne, M. A. (2013). Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *Current Biology*, 23(23), 2388-2392. <http://10.1016/j.cub.2013.10.044>
151. Rodrigues, M., Abrantes, N., Gonçalves, F., Nogueira, H., Marques, J., & Gonçalves, A. (2018). Spatial and temporal distribution of microplastics in water and sediments of a freshwater system (Antuã River, Portugal). *Science of the Total Environment*, 633, 1549-1559. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.233>
152. Rodriguez-Seijo, A., Lourenço, J., Rocha-Santos, T.A.P., da Costa, J., Duarte, A.C., Vala, H., & Pereira, R. (2017). Histopathological and molecular effects of microplastics in *Eisenia andrei* Bouché. *Environmental Pollution*, 220, 495–503. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.092ž>
153. Rognes, T., Flouri, T., Nichols, B., Quince, C., & Mahé, F. (2016). VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 4, e2584. <http://doi.org/10.7717/peerj.2584>
154. Roy, T., Dey, T.K., & Jamal, M. (2023). Microplastic/nanoplastic toxicity in plants: an imminent concern. *Environmental Monitoring and Assessment*, 195, 27. <http://doi.org/10.1007/s10661-022-10654-z>
155. Родић В., Бошњак Д., Вукелић Н. (2008). Одрживост управљања пољопривредним земљиштем у АП Војводини стр. 15-23. *Агроекономика*, 37–38.
156. Sajjad, M., Huang, Q., Khan, S., Khan, M.A., Liu, Y., Wang, J., Lian, F., Wang, Q., & Guo, G. (2022). Microplastics in the soil environment: A critical review. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 102403. <http://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102403>
157. Semmouri, I., Vercauteren, M., Van Acker, E., et al. (2022). Presence of microplastics in drinking water from different freshwater sources in Flanders (Belgium), an urbanized region in Europe. *Food Contamination*, 9(6). <http://doi.org/10.1186/s40550-022-00039-x>
158. Scarascia-Mugnozza, G., Sica, C., & Russo, G. (2011). Plastic Materials in European Agriculture: Actual Use and Perspectives. *Journal of Agricultural Engineering*, 42, 15-28. <http://doi.org/10.4081/jae.2011.3.15>
159. Scherer, C., Brennholt, N., Reifferscheid, G., & Wagner, M. (2017). Feeding type and development drive the ingestion of microplastics by freshwater invertebrates. *Scientific Reports*, 7(1), 17006. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-17191-1>
160. Scheurer, M., & Bigalke, M. (2018). Microplastics in Swiss floodplain soils. *Environmental Science & Technology*, 52(6), 3591–3598. <http://doi.org/10.1021/acs.est.7b06003>
161. Shumway, D. L., & Koide, R. T. (1994). Seed preferences of *Lumbricus terrestris* L. *Applied Soil Ecology*, 1(1), 11–15. [http://doi.org/10.1016/0929-1393\(94\)90019-1](http://doi.org/10.1016/0929-1393(94)90019-1)
162. Singh, J., Kaur, A., & Vig, A.P. (2014). Bioremediation of Distillery Sludge into Soil-Enriching Material Through Vermicomposting with the Help of *Eisenia fetida*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 174, 1403–1419. <http://doi.org/10.1007/s12010-014-1126-6>

163. Song, Y., Cao, C., Qiu, R., Hu, J., Liu, M., Lu, S., Shi, H., Raley-Susman, K.M., & He, D. (2019). Uptake and adverse effects of polyethylene terephthalate microplastic fibers on terrestrial snails (*Achatina fulica*) after soil exposure. *Environmental Pollution*, 250, 447-455. <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.066>
164. Spurgeon, D.J., Weeks, J.M., & Van Gestel, C.A.M. (2003). A summary of eleven years progress in earthworm ecotoxicology. *Pedobiologia*, 47(5-6), 588-606. <http://doi.org/10.1078/0031-4056-00241>
165. Sun, Q., Li, J., Wang, C., et al. (2022). Research progress on distribution, sources, identification, toxicity, and biodegradation of microplastics in the ocean, freshwater, and soil environment. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 16, 1. <http://doi.org/10.1007/s11783-021-1416-7>
166. Sun, Y., Duan, C., Cao, N., Li, X., Li, X., Chen, Y., Huang, Y., & Wang, J. (2021). Effects of microplastics on soil microbiome: The impacts of polymer type, shape, and concentration. *Science of the Total Environment*, 806, 150516. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150516>
167. Tanaka, K., & Takada, H. (2016). Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters. *Scientific Reports*, 6, 34351. <http://doi.org/10.1038/srep34351>
168. Thompson, R.C., Moore, C.J., Von Saal, F.S., & Swan, S.H. (2009). Plastics, the environment and human health: Current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 364(1526), 2153-2166. <http://doi.org/10.1098/rsta.2009.0053>
169. Tibbetts, J., Krause, S., Lynch, I., & Sambrook Smith, G. (2018). Abundance, Distribution, and Drivers of Microplastic Contamination in Urban River Environments. *Water*, 10(11), 1597. <http://doi.org/10.3390/w10111597>
170. Tiseo, I. (2021). Global Plastic Production 1950-2019. <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>
171. Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W. G., McGonigle, D., & Russell, A. E. (2004). Lost at sea: Where is all the plastic? *Science*, 304(5672), 838-838. <http://doi.org/10.1126/science.1094559>
172. United States Environmental Protection Agency (EPA). (2007). Method 7000b: Flame Atomic Absorption Spectrophotometry. Washington, D.C.: EPA.
173. United States Environmental Protection Agency (EPA). (2007). Method 7010: Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry. Washington, D.C.: EPA.
174. United States Environmental Protection Agency (EPA). (2014). Method 6020b: Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. Washington, D.C.: EPA.
175. Urbina, M.A., Correa, F., Aburto, F., et al. (2020). Adsorption of Polyethylene Microbeads and Physiological Effects on Hydroponic Maize. *Science of the Total Environment*, 741, 140216. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140216>
176. Van Reeuwijk, L. P. (2002). *Procedures for Soil Analysis* (6th ed.). ISRIC - World Soil Information, Technical Paper No. 9, Wageningen, The Netherlands.

177. Villarrubia-Gómez, P., Cornell, S.E., & Fabres, J. (2018). Marine plastic pollution as a planetary boundary threat—The drifting piece in the sustainability puzzle. *Marine Policy*, 96, 213-220. <http://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.11.035>
178. Völker, C., Völker, J., & Oehlmann, J. (2017). Effects of polystyrene microplastics on earthworm fitness in agricultural soil. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 61(1), 012148. <http://doi.org/10.1088/17551315/61/1/012148>
179. Vollertsen, J., & Hansen, A. A. (2017). Microplastic in Danish wastewater: Sources, occurrences and fate. *Environmental Science & Technology*, 51(7), 3672-3680. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b04086>
180. Walker, T. R. (2018). Microplastics in the marine environment: Sources, distribution, biological effects and mitigation. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 157-171. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.022>
181. Wang, C., Zhao, J., & Xing, B. (2020a). Environmental source, fate, and toxicity of microplastics. *Journal of Hazardous Materials*, 124357. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124357>
182. Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., & Sun, Y. (2020 b). Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere*, 254, 126791. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126791>
183. Wang, L., Liu, Y., Kaur, M., Yao, Z., Chen, T., & Xu, M. (2021). Phytotoxic Effects of Polyethylene Microplastics on the Growth of Food Crops Soybean (*Glycine max*) and Mung Bean (*Vigna radiata*). *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 10629. <http://doi.org/10.3390/ijerph182010629>
184. Wang, F., Liu, S., Ma, J., Sun, Y., & Li, M. (2022). The interactions of microplastics with other contaminants such as heavy metals in soil can significantly alter their environmental behavior and toxic effects, increasing their adverse impact on soil ecosystems. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(3), 150. <http://10.1007/s10661-021-09857-3>
185. Wang, X., Gao, W., Cai, K., Pan, W., & Tu, Z. (2024). Response of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) growth to soil microplastic pollution. *Polish Journal of Environmental Studies*, 33(4), 1-9. <http://doi.org/10.15244/pjoes/182894>
186. Whalley, W.R., & Dexter, A.R. (2008). Root development and earthworm movement in relation to soil strength and structure. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 54(5), 549-564. <http://doi.org/10.1080/03650340802191195>
187. Williams, A., Napper, I., & Thompson, R. (2015). Millions of plastic particles found in cosmetic products. *Marine Pollution Bulletin*. University of Plymouth.
188. Windsor, F. M., Durance, I., Horton, A. A., Thompson, R. C., Tyler, C. R., & Ormerod, S. J. (2019). A catchment-scale perspective of plastic pollution. *Global Change Biology*, 25(4), 1207-1221. <http://doi.org/10.1111/gcb.14572>
189. Xu, B., Liu, F., Cryder, Z., Huang, D., Lu, Z., He, Y., Wang, H., Lu, Z., Brookes, P., Tang, C., Gan, J., & Xu, J. (2020). Microplastics in the soil environment: Occurrence, risks, interactions and fate. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 50(23), 2175-2222. <http://doi.org/10.1080/10643389.2019.1694822>

190. Xu, B., Liu, F., Cryder, Z., Huang, D., Lu, Z., He, Y., Wang, H., Lu, Z., Brookes, P., Tang, C., Gan, J., & Xu, J. (2019). Microplastics in the soil environment: Occurrence, risks, interactions and fate – A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 49(18), 2175-2222. <http://doi.org/10.1080/10643389.2019.1694822>
191. Xu, Z., Zhang, Y., Lin, L., Wang, L., Sun, W., Liu, C., Yu, G., Yu, J., Lv, Y., Chen, J., Chen, X., & Fu, L. (2022). Toxic effects of microplastics in plants depend more on their surface functional groups than just accumulation contents. *Science of the Total Environment*, 833, 155097. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155097>
192. Yanagisawa, H., & Fujimaki, S. (2019). Simple colorimetric determination of phthalates in polymers by dye formation. *Analytical Sciences*, Advance Publication by J-STAGE. Published online on July 19, 2019. <http://doi.org/10.2116/analsci.19P165>
193. Yang, Y., Li, Z., Yan, C., Chadwick, D., Jones, D., Liu, R., Liu, Q., Bai, R., & He, W. (2022). Kinetics of microplastic generation from different types of mulch films in agricultural soil. *Science of the Total Environment*, 814, 152572. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.152572>
194. Yanni, Y., Yaning, L., & Wei, D. (2022). Biodegradation of Microplastics in Soil. *Journal of Hazardous Materials*, 438, 129817. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129817>
195. Yu, H., Qi, W., Cao, X., Hu, J., Li, Y., Peng, J., Hu, C., & Qu, J. (2021). Microplastic residues in wetland ecosystems: Do they truly threaten the plant-microbe-soil system? *Environment International*, 156, 106708. <http://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106708>
196. Yu, H., Shi, L., Fan, P., Xi, B., & Tan, W. (2022). Effects of conventional versus biodegradable microplastic exposure on oxidative stress and gut microorganisms in earthworms: A comparison with two different soils. *Chemosphere*, 307, 135874. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135874>
197. Zaller, J. G., & Saxler, N. (2007). Selective vertical seed transport by earthworms: Implications for the diversity of grassland ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 43, S86-S91. <http://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2007.08.010>
198. Zhang, G. S., & Liu, Y. F. (2018a). The distribution of microplastics in soil aggregate fractions in southwestern China. *Science of the Total Environment*, 642, 12-20. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.019>
199. Zhang, G., Zhang, X., & Hu, X. (2013). Runoff and soil erosion as affected by plastic mulch patterns in vegetable field at Dianchi lake's catchment, China. *Agricultural Water Management*, 122, 20-27. <http://doi.org/10.1016/j.agwat.2013.02.004>
200. Zhang, Y., Kang, S., Allen, S., Allen, D., Gao, T., & Sillanpää, M. (2020). Atmospheric microplastics: A review on current status and perspectives. *Earth-Science Reviews*, 203, 103118. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103118>
201. Zhang, K., Wang, M., Li, Y., Zhang, X., Xiao, K., Ma, C., Zhang, X., Zhang, H., & Chen, Y. (2024). Wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings performance mainly affected by soil nitrate nitrogen under the stress of polyvinyl chloride microplastics. *Scientific Reports*, 14, 4962. <http://doi.org/10.1038/s41598-024-54838-8>
202. Zhang, L., Sintim, H.Y., Bary, A.I., Hayes, D.G., Wadsworth, L.C., Anunciado, M.B., & Flury, M. (2018b). Interaction of *Lumbricus terrestris* with macroscopic

- polyethylene and biodegradable plastic mulch. *Science of the Total Environment*, 635, 1600-1608. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.041>
203. Zhang, M., Yanran, Z., Qin, X., Jia, W., Chai, L., Huang, M., & Huang, Yi. (2019). Microplastics from mulching film is a distinct habitat for bacteria in farmland soil. *Science of the Total Environment*, 688, 470-478. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.108>
204. Zhang, S., Yang, X., Gertsen, H., Peters, P., Salanki, T., & Geissen, V. (2018). A simple method for the extraction and identification of light density microplastics from soil. *Science of The Total Environment*, 616-617, 1056-1065. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.213>
205. Zhang, H., Liu, S., Wang, Y., Zhao, J., & Wu, Y. (2020). Microplastic pollution: Harmful effects and possible bioremediation strategies. *Environmental Chemistry Letters*, 18(2), 305-328. <http://doi.org/10.1007/s10311-020-00945-2>
206. Zhang, X., Li, Y., Ouyang, D., Lei, J., Tan, Q., Xie, L., Li, Z., Liu, T., Xiao, Y., Farooq, T., Wu, X., Chen, L., & Yan, W. (2021). Systematical review of interactions between microplastics and microorganisms in the soil environment. *Journal of Hazardous Materials*, 418, 126288. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126288>
207. Zhang, H., Liu, S., Wang, Y., Zhao, J., & Wu, Y. (2022). Microplastic risk assessment and toxicity in plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 20(4), 1743-1762. <http://doi.org/10.1007/s10311-022-01354-0>
208. Zhao, Y., Liu, X., Wang, M., Liu, X., Xu, X., & Tang, Z. (2020). Effects of microplastics on oxidative stress and lipid peroxidation in earthworms (*Eisenia fetida*). *Science of the Total Environment*, 743, 141883. <http://10.1016/j.scitotenv.2020.141883>
209. Zhou, Y., Liu, X., & Wang, J. (2019). Characterization of microplastics and the association of heavy metals with microplastics in suburban soil of central China. *Science of the Total Environment*, 694, 133798. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.351>
210. Zhou, W., Lv, W., Lu, S., Huang, X., & Liu, S. (2020). Microplastic pollution in agricultural soils in north-western China. *Science of the Total Environment*, 720, 137525. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137525>
211. Zhu, D., Chen, Q., An, X., Yang, X., Christie, P., Ke, X., Wu, L., & Zhu, Y. (2018). Exposure of soil collembolans to microplastics perturbs their gut microbiota and alters their isotopic composition. *Soil Biology and Biochemistry*, 116, 302-310. <http://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.09.029>
212. Zimmermann, L., Dierkes, G., Ternes, T. A., Völker, C., & Wagner, M. (2019). Benchmarking the in vitro toxicity and chemical composition of plastic consumer products. *Environmental Science & Technology*, 53(19), 11467-11477. <http://doi.org/10.1021/acs.est.9b02293>
213. Ђуровић, Р. (2010). Развој и примена микроесктракције у чврстој фази за одређивање пестицида у различитим типовима земљишта. Докторска дисертација.

214. Живковић М. Д., Ђорђевић А. Р. (2003). Педологија - Генеза, састав и особине земљишта. Пољопривредни факултет Универзитета у Београду, Београд, 76, 166-168.

Биографија

Мастер инжењер пољопривреде Милица Балош, рођена је 11.10.1991. у Новом Саду. Основну школу „Ђура Јакшић“ завршава у Каћу. Након тога уписује гимназију „Светозар Марковић“ у Новом Саду и после завршене гимназије, 2010. године уписује Пољопривредни факултет у Новом Саду на смеру фитомедицина. Основне студије завршава 2014. године и стиче звање дипломирани инжењер пољопривреде. Исте године уписује мастер студије које завршава 2016. године са темом „Екстракција пестицида у зависности од карактеристика земљишта“ и стиче звање мастер инжењер пољопривреде. Такође те године уписује докторске студије на смеру Агрономије на Пољопривредном факултету у Новом Саду. У међувремену се запошљава у приватној фирми преко пројекта „Прва плата“ при чему стиче знање и искуство у пољопривредној производњи, заштити биља, као и комерцијалном делу. Даље усавршавање наставља у компанији „Агроуник“ која је поред пословног аспекта веома посвећена и окренута науци, при чему сама компанија има акредитоване лабораторије за земљиште, микробиологију, ентомологију и фитопатологију.

Област докторске дисертације којом се бави је фитофармација, зоологија и педологија, при чему истражује утицај микропластике на карактеристике земљишта, понашање и морталитет глиста у земљишту, утицај на бактерије, као и како микропластика утиче на раст и вегетацију биљака.

Објавила је седам научних радова и залаже се за очување животне средине.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Биомониторинг микропластике у пољопривредном земљишту
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
а) Пољопривредни факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду б) Природно- математички факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду в) Агроуник, Шимановци
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Агрономија, Пољопривредни факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије</p> <p><u>Докторска дисертација, експериментална студија</u></p> <p>1.2 Врсте података</p> <p><u>а) квантитативни</u></p> <p><u>б) квалитативни</u></p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p> <p>б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</p> <p>в) генотипови: навести врсту _____</p> <p>г) административни подаци: навести врсту _____</p> <p>д) узорци ткива: навести врсту _____</p> <p>ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____</p> <p><u>е) текст: публиковани научни радови и друга литература</u></p> <p>ж) мапа, навести врсту _____</p> <p><u>з) остало: узорци микропластике са пољопривредног земљишта</u></p> <p>1.3 Формат података, употребљене скале, количина података</p> <p>1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:</p> <p><u>а) Excel фајл, датотека .xlsx.</u></p> <p>б) SPSS фајл, датотека _____</p> <p>с) PDF фајл, датотека _____</p> <p><u>д) Текст фајл, датотека .docx.</u></p> <p><u>е) JPG фајл, датотека .jpg, .png.</u></p> <p>ф) Остало, датотека _ MassHunter B.06.00 софтвер</p> <p>1.3.2. Број записа (код квантитативних података)</p> <p>а) број варијабли <u>већи број</u></p> <p>б) број мерења (испитаника, процена, снимка и сл.) <u>већи број</u></p> <p>1.3.3. Поновљена мерења</p> <p><u>а) да</u></p> <p>б) не</p> <p>Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:</p> <p>а) временски размак између поновљених мера је месец дана између узорковања, два и недељу дана током валидационог поступка</p> <p>б) варијабле које се више пута мере односе се на узорковање биљног и животињског материјала и параметре валидације микропластике</p> <p>в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као резултати и валидациони параметри</p>

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент: ФТИР, третмани огледа у више понављања

б) корелационо истраживање, статистичка обрада резултата MassHunter B.06.00 софтвер

ц) анализа текста, навести тип: преглед публикованих научних радова

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

- Ултразвучна када (Vabsonic VAB-SB- 6LT)
- Спектрофотометар (Colo, модел LEGEND6S) опсега 190 - 1100 nm
- Спектрофотометар (UV-Vis, модел Shimadzu UV-1800)
- Поликрон хомогенизатор (модел Heidolph SilentCrusher M)
- Вортекс миксер (Vortex-Genie 2, модел Scientific Industries)
- UV-VIS спектрофотометар, Cary 60 (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)
- Атомски апсорпциони спектрометар (Perkin Elmer, Atomic Absorption Spectrometer, Analyst 700)
- Аналитичка вага Kern 440-47N (KERN& SOHN GmbH, Lörrach, Germany)
- Дигитална вага (Savage Gear M, 0,01 kg до 10 kg)
- Кондуктометар (Hanna model HI 933000)
- Elementar LiquiTOCII
- WTW 340i, SenTix®21 електрода, pH метар
- Анализатор VarioEL III (Elementar, Germany)
- Nicolet iS20 FTIR spectrometer (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Инкубатор (EN 055 NUVE, Turkey)
- Преносиви турбидиметар TB211 IR
- Пластичне саксије (Brand Pack Zrenjanin, 50x18cm)
- Сито (Haver & Boecker, ø 200 mm, мрежа 35.5 mm)

- Петријеве шоље (Steriplan roth, 60 x15 mm)

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? _____
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података _____

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Квалитет података је контролисан понављањем експеримената као и коришћењем одговарајућих статистичких метода.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола уноса података је спроведена вишеструким личним проверавањем, независном проверама од стране чланова комисије.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у Националном репозиторијуму дисертација у Србији и у репозиторијуму Информационог система научне делатности Универзитета у Новом Саду.

3.1.2. URL адреса <https://nardus.mpn.gov.rs>,
<http://www.uns.ac.rs/index.php/univerzitet/javnostrada-2/javni-uvid-doktorske>.

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

Подаци ће бити депоновани у НаРДУС-у, заједничком порталу свих докторских дисертација и извештаја комисија о њиховој оцени, на универзитетима у Србији и у репозиторијуму докторских дисертација у Новом Саду (КРИС).

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

Описни (Описују ресурс за потребе проналажења и идентификације. Може да укључи елементе као што наслов, аутор, садржај, кључне речи).

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум. _____

Милица Балош, докторска дисертација, Пољопривредни факултет УНС

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? Неограничено

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности

(https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

а) Подаци нису у отвореном приступу

б) Подаци су анонимизирани

ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално – без прераде

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Милица Балош, cucuzm@yahoo.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Милица Балош, cuscuzm@yahoo.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Милица Балош, cuscuzm@yahoo.com