



TALLINNA TEHNIKAÜLIKOOL
INSENERITEADUSKOND
TalTech Tartu Kolledž

GLÜFOSAADI MÕJU VIHMAUSSI *DENDROBAENA VENETA* KOOSLUSE OMADUSTELE LABORIKATSE TINGIMUSTES

**IMPACT OF GLYPHOSATE ON EARTHWORM
DENDROBAENA VENETA COMMUNITY
CHARACTERISTICS UNDER LABORATORY CONDITIONS**

MAGISTRITÖÖ

Üliõpilane: Romario Siimer

Üliõpilaskood 176722NAEM

Juhendaja: Mari Ivask, emeriitprofessor

Tartu 2021

(Tiitellehe pöördel)

AUTORIDEKLARATSIOON

Olen koostanud lõputöö iseseisvalt.

Lõputöö alusel ei ole varem kutse- või teaduskraadi või inseneridiplomit taotletud.

Kõik töö koostamisel kasutatud teiste autorite tööd, olulised seisukohad, kirjandusallikatest ja mujalt pärinevad andmed on viidatud.

“24” mai 2021

Autor: Romario Siimer

/ allkiri /

Töö vastab bakalaureusetöö/magistritööle esitatud nõuetele

“24” mai 2021

Juhendaja: Mari Ivask

/ allkiri /

Kaitsmisele lubatud

“.....”2021 .

Kaitsmiskomisjoni esimees Annely Kuu

/ nimi ja allkiri /

Lihtlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks¹

Mina Romario Siimer (sünnikuupäev: 07.01.1995)

1. Annan Tallinna Tehnikaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud teose „Glüfosaadi mõju vihmaussi *Dendrobaena veneta* koosluse omadustele laborikatse tingimustes“

mille juhendaja on Mari Ivask

1.1 reprodutseerimiseks lõputöö säilitamise ja elektroonse avaldamise eesmärgil, sh Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogusse lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2 üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tallinna Tehnikaülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas Tallinna Tehnikaülikooli raamatukogu digikogu kaudu kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. Olen teadlik, et käesoleva lihtlitsentsi punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. Kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest ning muudest õigusaktidest tulenevaid õigusi.

¹*Lihtlitsents ei kehti juurdepääsupiirangu kehtivuse ajal, välja arvatud ülikooli õigus lõputööd reprodutseerida üksnes säilitamise eesmärgil.*

_____ (allkiri)

23.05.2021

LÕPUTÖÖ ÜLESANNE

Üliõpilane: Romario Siimer, 176722NAEM

Õppekava, peeriala: Tööstusökoloogia, NAEM06/18

Juhendaja: Emeriitprofessor, Mari Ivask, +372 516 4546

Lõputöö teema:

Glüfosaadi mõju vihmaussi *Dendrobaena veneta* koosluse omadustele laborikatse tingimustes

Impact of glyphosate on earthworm *Dendrobaena veneta* community characteristics under laboratory conditions

Lõputöö põhieesmärgid:

1. Kuidas mõjutab glüfosaadi kasutamine vihmausse ja nende reproduktsioonivõimet.
2. Kuidas mõjutab glüfosaadi kasutamine mulla mikroobikoosluse parameetreid (SIR ja BA)

Lõputöö etapid ja ajakava:

Nr	Ülesande kirjeldus	Tähtaeg
1.	Kirjanduse läbitöötamine ja katse ülesseadmine	10.07.20 20
2.	Katse läbiviimine ja analüüside tegemine	31.01.20 21
3.	Tulemuste kirjeldamine, arutelu koostamine	29.02.20 21
4.	Lõputöö esitamine	24.05.20 21

Töö keel: Eesti

Lõputöö esitamise tähtaeg: "24" mai 2021

Üliõpilane: Romario Siimer "24" mai 2021a
/allkiri/

Juhendaja: ...Mari Ivask "24" mai 2021a
/allkiri/

Programmijuht: Annely Kuu. ".....".....20.....a
/allkiri/

SISUKORD

EESSÕNA	7
SISSEJUHATUS	8
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE	9
1.1 Herbitsiidide osa taimekaitses	9
1.2 Glüfosaat	9
1.3 Glüfosaadi kasutamine maailmas, Euroopa Liidus ja Eestis	10
1.3.1 Herbitsiidide kasutamine Eestis ja Euroopas	12
1.4 Glüfosaadi keskkonnaohtlikus	13
1.5 Glüfosaadi mõju muldkeskkonnale ja mullaelustikule	13
1.6 Mullaelustik (mikroobikooslus ja vihmaussid) taimekaitsevahendite mõju indikaatorina	15
1.6.1 <i>Dendrobaena veneta</i> ning teised vihmaussi liigid	17
2. MATERJAL JA METOODIKA	20
2.1 Katsetes kasutatud materjalide kirjeldus	20
2.2 Meetodid	21
2.2.1 Katsevariandid	21
2.2.2 Katsete ülevõtmise protsess	22
2.2.3 Katsetega seotud kuupäevad	23
2.3 Analüüside metoodika	25
2.3.1 Kuivaine sisaldus	25
2.3.2 Mikroobikoosluse basaalne aktiivsus	25
2.3.3 Mikroobne biomass	26
2.3.4 Andmetöötlus	27
3. TULEMUSED	28
3.1 Glüfosaadi mõju katse mullatingimustele	28
3.1.1 Mulla niiskusesisaldus	28
3.2 Glüfosaadi mõju mulla mikroobikooslusele	29
3.3 Glüfosaadi mõju mikroobikoosluse basaalsele aktiivsusele	31
3.4 Glüfosaadi mõju vihmaussidele	32
3.4.1 Vihmausside kehamassi vähenemine	33
3.4.2 Vihmausside arvu ja ühe isendi massi muutus katse jooksul	35
3.4.3 Vihmausside reproduktsioon katsetingimustes erineva glüfosaadi koormuse juures	36
3.5 Katse käigus mõõdetud parameetrite vahelised seosed	43
4 ARUTELU	45

KOKKUVÕTE	49
SUMMARY	50
KASUTATUD KIRJANDUSE LOETELU	51
LISAD	54

EESSÕNA

Käesoleva magistritöö teema pakkus autorile välja juhendaja emeriitprofessor Mari Ivask. Töö katsed viidi läbi Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledži laboris.

Töö autor tänab enda juhendajat Mari Ivaskit, kelle abiga töö valmis sai. Lisaks tahab autor tänada Laura Lokkot ning teisi ühel või teisel moel abiks olnud Tartu Kolledži inimesi.

Märksõnad: Glüfosaat, *Roundup*, *Dendrobaena veneta*, magistritöö

SISSEJUHATUS

Põllumajanduse kõige tähtsamaks taimekasvatuse tootmisvahendiks võib pidada mulda (Astover, Kõlli, Leedu, Reintam, & Roostalu, 2012). Mulla seisund määrab kasvatatavate kultuuride kvaliteedi ja saagikuse (Astover, Kõlli, Leedu, Reintam, & Roostalu, 2012). Glüfosaadi mõjust loodusele üldisemalt aga ka mullale ning mullaelustikule on väga palju erinevate arvamustega uuringuid, kuid enamjaolt on need seotud aine võimaliku negatiivse mõjuga. *Roundup* pestitsiidi patent kuulub suurkorporatsioonile Monsanto, mis on tuntud kui vastuoluline korporatsioon põllumajandusmaastikul (Metspalu, 2010). Kuna juttu pestitsiidide mõju üle on palju, siis keskendub autor just *Monsanto* tootele *Roundup*, sest antud toode on igati päevakorras ning seda pigem oma negatiivsete omaduste poolest. Märkimist tasub ka asjaolu, et Eestis pole selline uuring veel aset leidnud olenemata põllumeeste suures huvist.

Käesoleva magistritöö eesmärk oli laborkatse abil uurida, kas laialdaselt kasutatav herbitsiid glüfosaat avaldab mõju vihmaussiliigi *Dendrobaena veneta* koosluse arvukusele ja reproduktsioonile. Püstitati järgmine hüpotees: glüfosaadi mõju vihmaussidele ja nende järelkasvule on negatiivne, seejuures selle normikohane kasutamine mõjutab ussikooslust vähem kui üle normatiivne kasutamine.

Töö eesmärgi saavutamiseks püstitas autor järgnevad uurimisülesanded:

- 1) Kuidas mõjutab glüfosaadi kasutamine vihmausse ning nende reproduktsioonivõimet laborikatse tingimustes;
- 2) Kuidas mõjutab glüfosaat mulla mikroobikoosluse parameetreid.

Töö on jaotatud neljaks peatükiks. Esimene peatükk annab ülevaate herbitsiidide kasutamisest, herbitsiididega seotud probleemidest, glüfosaadist, tehtud uuringutest, teema aktuaalsusest, muldkeskkonnast ja katsetes kasutatud vihmaussi liigist. Teises peatükis kirjeldatakse materjali ja meetodikat, et mis materjale katsete läbiviimiseks kasutati ning kuidas teostati analüüse. Kolmandas peatükis kirjeldab autor saadud tulemusi. Neljandas peatükis arutleb autor saadud tulemuste üle tuginedes kirjandusallikatele.

1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

1.1 Herbitsiidide osa taimekaitstes

Taimekaitsevahendid ehk pestitsiidid on mürkkemikaalid, mida kasutatakse taimekahjurite või taimehaiguste mõju vähendamiseks kultuurtaimedele ja nende saagikusele (Maasik, 2013). Tänapäeva intensiivse põllumajandustegevuse käigus kasutatakse väga laialdaselt erinevaid pestitsiide ning seetõttu kannavad nad endas teatud riske keskkonnale (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). On selge, et pestitsiididest sai ulatuslik saasteallikas nii põllumajanduses kui ka külgnevatele looduslikele elupaikadele (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Pestitsiidide kasutamise lõppeesmärgiks on taimesaagi suurendamine ning taimehaiguste leviku piiramine (Maasik, 2013).

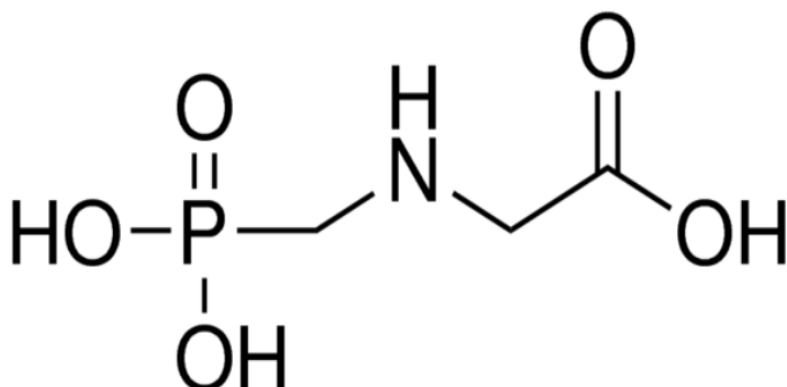
Herbitsiidid on mõeldud mittesoovitavate taimede hävitamiseks põllumajandusaladel (Maasik, 2013). Herbitsiidid võivad olla kas kontaktsed või süsteemsed (Maasik, 2013). Kontaktsed herbitsiidid hävitavad vaid neid taimeosi, millega nad vahetult kokku puutuvad (Maasik, 2013). Süsteemsed herbitsiidid tungivad taimedesse juurte või maapealsete osade kaudu, kanduvad taimedes laiali ja hävitavad kogu taime ning lehele sattudes võivad kiiresti jõuda juurtesse ja vastupidi (Maasik, 2013). *Roundup* on süsteemne herbitsiid, mis siseneb taime, kas lehtede või juurte kaudu (Maheklubi, 2013).

Üle maailma tehtud uuringute tulemustest on selgunud, et herbitsiidid on avaldanud mullaelustikule nii positiivset, negatiivset kui ka neutraalset mõju (Pochron, et al., 2019).

1.2 Glüfosaat

Glüfosaat on umbrohutõrjeks kasutatav taimekaitsevahend ehk herbitsiid, mida enamasti kasutatakse umbrohtude tärkamisjärgseks tõrjeks (Raudla, 2015). Glüfosaadi baasil tehtud herbitsiidid on laiaulatuslikud, mitteselektiivsed, süstemaatilised herbitsiidid, mida manustatakse taime lehtedele (Piola, et al., 2013). Glüfosaadi keemiline nimetus on N-(fosfonometüül)-glütsiin (Joonis 1.1) (Maheklubi, 2013). Glüfosaadil põhinevad süsteemsed laiaspektrilised umbrohutõrjevahendid ehk herbitsiidid (*Roundup, Glyphos, Glyphomax, Barbarian HI-Aktiv* jt) (Maheklubi, 2013). Pestitsiid toimib süstemaatiliselt ehk taime tungides takistab glüfosaat valgu sünteesi,

blokeerides aminohappe moodustamist, mille tagajärjel taim sisuliselt nälgib surnuks (Kasak, 2016). Nendeks aminohapeteks on fenüülalaniin, trüptofaan ja türosiin (Kasak, 2016).



Joonis 0.1 Glüfosaadi keemiline valem (Summerscales, 2018)

Viimase 50 aasta jooksul on inimpopulatsioon enam kui kahekordistunud, samas kui põllukultuuride pind on kasvanud vaid 10% (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Selle tagajärjel on põllumajandustootmise intensiivsus dramaatiliselt suurenenud, sealhulgas pestitsiidide kasutamine (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Pestitsiidide hulgas kasutatakse kõige laialdasemalt glüfosaadil põhinevaid herbitsiide, kuna need on väga tõhusad ja toimivad taimedel mitteselektiivselt, pärssides ainult taimedes ja mõnes mikroorganismis leiduvat shikiimhappe metaboolset rada (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Seetõttu ei tohiks glüfosaadi kasutamine loomorganismide teoreetiliselt mõjutada (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Glüfosaadi peetakse keskkonnasõbralikuks ka selle kiire lagunemise ja tugeva adsorptsiooni tõttu mullaosakestele, mis peaks vähendama leostumiskadu mullaprofiililt (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Sellest hoolimata jätkub tõendeid selle kohta, et glüfosaadil põhinevad herbitsiidid kahjustavad organisme, kes ei ole glüfosaadi sihtorganismiks, eriti kahepaikseid, sümbiootilisi mükoriisaseeni või vihmausse (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015).

1.3 Glüfosaadi kasutamine maailmas, Euroopa Liidus ja Eestis

Glüfosaadi baasil tehtud herbitsiidid tulid turule esimest korda 1974a. Roundup'i nime all (Pochron, et al., 2019). Seda toodab Monsanto nime all tegutsev vastuoluline korporatsioon (Pochron, et al., 2019). Peale turule tulekut on Roundup'i kasutamine

tõusnud 100-kordselt ning ainuüksi USA farmides kasutati 2014.a 109 miljonit kg glüfosaati (Pochron, et al., 2019). Praegusel ajal on glüfosaadi baasil töötavad herbitsiidid kõige rohkem kasutatavad herbitsiidid põllumajandus sektoris ning teisena kõige kasutatavamad herbitsiidid linnakeskkonnas (Pochron, et al., 2019).



Joonis 0.2 Pestitsiidide pritsimine traktoriga põllul (Euractiv, 2020)

Glüfosaat on laia toimespektriga ning maailmas enimmüüdud herbitsiid, mida kasutatakse enam kui 750 tootes, põllumajandusest kodumajapidamiseni (Kasak, 2016). Viimase aastakümne jooksul on maailmas toodetud 6,1 miljardit kilogrammi glüfosaati (Soil association, 2016). Glüfosaadil põhinevaid preparaate kasutatakse Euroopas teravilja-, rapsi-, maisi- ja päevalillepõldudel, samuti viinamarjaistandustes, oliivi- ja viljapuuaedades, rohumaadel, metsas ja mujal (Joonis 1.2) (Maheklubi, 2013). Seda on lubatud kasutada raudteehoolduses ning mõningates riikides isegi jõgedes ja järvedes (Maheklubi, 2013). Glüfosaat on eelkõige loodud umbrohu hävitamiseks ning seda kasutatakse peamiselt põllumajanduses (Soil association, 2016), kuid teda kasutatakse ka laialdaselt parkides, tänavatel ja aedades (Maheklubi, 2013), seega väga erineva funktsiooniga aladel. Näiteks 2014 aastal kasutati Suurbritannias 2,2 miljoni hektari kohta 1,9 miljonit kilogrammi herbitsiidi (Soil association, 2016). Glüfosaat kategoriseeriti 2015 aastal kui „ilmselt kantserogeenne inimestele“. WHO ning väga palju on tõstatatud küsimusi glüfosaadi ohtlikkuse kohta (Soil association, 2016).

1.3.1 Herbitsiidide kasutamine Eestis ja Euroopas

2019.a turustati Eestis 531 tonni herbitsiide, millest glüfosaati sisaldavad preparaadid moodustasid ligikaudu 60% (Helm, et al., 2020). Lisaks laialdasele kasutusele põllumajanduses umbrohutõrjevahendina, kasutatakse glüfosaati ka vahetult enne saagikoristust ühtlustamiseks vilja valmimise aega (Helm, et al., 2020). Eestis ja Euroopas tehtud vaatluste põhjal leidub glüfosaate ning selle laguprodukte põhja- ja pinnavees, põllumullas ning üha rohkem ka looduskeskkonnas (Helm, et al., 2020). Näiteks Prantsusmaal, Hollandis ning Saksamaal on professionaalstele taimekaitsevahendi kasutajale glüfosaadi tooted kättesaadavad, kuid hobiaednikel on ligipääs piiratud (Hillep, 2015). Kui 2006. aastal oli Eestis lubatud kasutada 14 erinevat glüfosaatide baasil loodud herbitsiidi, millest kuus olid Roundup-i eri versioonid, siis põllumajandusameti registri järgi oli 2015. aastal saadaval juba 40 erinevat glüfosaatide baasil loodud herbitsiidi, millest 12 olid Roundup-i erivormid (Joonis 1.2) (Kasak, 2016). 2018. aastal otsustas Euroopa Liit glüfosaadipreparaatide kasutusluba 2022. aastani pikendada (Helm, et al., 2020).



Joonis 0.3 Glüfosaati sisaldav Monsanto toode *Roundup* (Reuters, 2017)

Küll aga viitab akumulatsioon info nende herbitsiidide negatiivse keskkonnamõju kohta ning glüfosaati sisaldavate preparaatide kasutust tuleks profülaktilises mõttes tugevalt piirata või võimalusel täielikult rutiinsest kasutusest välja jätta (Helm, et al., 2020). Info glüfosaadi baasil valmistatud preparaatide keskkonnamõju uurimistest on pigem napp

(Piola, et al., 2013). Sellegipooldest osutab üha enam hiljutisi uuringuid sellele, et glüfosaadi toksilisust nii inimesetele kui ka keskkonnale on seni oluliselt allahinnatud (Helm, et al., 2020).

1.4 Glüfosaadi keskkonnaohtlikus

Glüfosaadi peeti kiiresti lagunevaks ning seetõttu keskkonnale pigem ohutumaks herbitsiidiks (Helm, et al., 2020). Jaemüügis realiseeritava Roundupi pakendi etiketilt võib välja lugeda, et see on üldhävitava toimega herbitsiid lühi- ja pikaealiste umbrohtude tõrjeks. Keskkonnaohtlikkuse kohta ütleb tootja, et tuleks vältida preparaadi sattumist veekogudesse ja kanalisatsiooni. Glüfosaadi poolitusaeg varieerub erinevate analüüsides kohaselt 1-st päevast 200 päevani (Helm, et al., 2020). See sõltub paljudest teguritest: mulla struktuurist, happelisusest, temperatuurist, mulla mikroobioomi aktiivsusest ning niiskusest (Helm, et al., 2020). Jahedamates ning niiskema kliimaga paikades (sh. ka Eestis) püsivad glüfosaadi ühendid mullas kauem kui soojematel kõrgema lagunemisaktiivsusega aladel (Helm, et al., 2020). Kuna külmemates piirkondades laguneb glüfosaat märkimisväärselt kauem, siis on glüfosaadi ja selle laguproduktide looduskeskkonda sattumise oht ja tõenäosus oluliselt suurem (Helander, Saloniemi, & Saikkonen, 2012).

1.5 Glüfosaadi mõju muldkeskkonnale ja mullaelustikule

Muld on asustatud väga mitmekesise elustikuga. Muld on elupaigaks selgrootutele ja mikroorganismidele, lisaks leidub mullas seeni, seemneid ja taimede juurestike (Ivask, 2019). Lisaks mulla suurele elustiku mitmekesisusele on tal ka keeruline ja mitmekesine ruumiline struktuur (Ivask, 2019). Seda nii horisontaalselt kui ka vertikaalselt ja mikro- kui ka makroskoopilises skaalas ning see tingibki elustiku rikka mitmekesisuse (Ivask, 2019). Elupaigatingimuste ajaline ja ruumiline varieeruvus pakub elustikule peidupaika kiskjate eest, substraati järglastele, toitu, liikumisteid ja palju muid primaarseid teenuseid ning seeläbi suurendab ja toetab bioloogilist mitmekesisust (Ivask, 2019). Nii suuremad kui ka väiksemad organismid leiavad mullas endale sobivaid elupaiku. Mullapooride (läbimõõduga 0,2 µm kuni 2 mm) võrgustik loob selleks arvukalt elukohti ja just seal leiab enamus mullaorganisme endale elupaiga (Ivask, 2019). Mullas leidub veeorganismidele vajalikku vett ja ülejäänutele hingamiseks vajalikku õhku (Ivask, 2019).

Mullaorganismid on seotud omavahel taimejuurtega ning toiduahelate kaudu keskkonnaga (Ivask, 2017). Mullaelustiku poolt läbiviidavatest protsessidest on kõige olulisem lagunemisprotsess, mille käigus muudetakse toitained taimedele uuesti kättesaadavaks (Peda, 2009). Lagundatavate ainete hulk ja lagundamise kiirus sõltub mullatüübist, taimekooslusest, kliimast, maaviljelusviisist jm teguritest (Ivask, 2017). Lagundajad on enamasti organismid, kes kasutavad oma toiduks surnud organisme ja nende osi ning sellega viivad läbi lagunemisprotsessi (Peda, 2009).

Mulla mikroorganismidel on väga tähtis roll orgaanilise aine lagunemise protsessis, huumuseproduksioonis, elementide sidumises, mulla ainevahetuses, aineringetes ja mulla agregaatide moodustavate ühendite produtseerimises (Ivask, 2017). Mida rikkalikum ja aktiivsem mullaelustik on, seda intensiivsemalt ja kvaliteetsemalt moodustuvad orgaanilistest jääkidest huumusained ning seda efektiivsemalt liiguvad toitained taimejäänustest uuesti aineringlusesse (Peda, 2009). Mullaelustik aitab taimedel muuta toitained kättesaadavaks (Peda, 2009).

Mikroorganismid on väga tähtsad, sest nende kvantiteedist ja kvaliteedist oleneb suuresti mulla viljakus (Peda, 2009). Mikroorganismide tähtsaimaks ülesandeks on toitainete uuesti ringlusesse võtmine ning orgaanilise aine lagundamine (Peda, 2009). Mullas on mikroobikoosluse kõrval tähtsateks lagundajateks ka paljud selgrootud (vihmaussid, putukad) (Hiie, 2016). Kogu lagunemisest kuni 30% teevad ära selgrootud (peenestavad, lagundavad, tükeldavad), ülejäänud töö tehakse ära mikroorganismide poolt (Ivask, 2017). Lagundajate tegevust mõõdetakse nende biomassi või hingamise intensiivsuse järgi (Ivask, 2017). Hingamise intensiivsus on täpsem, kuna erinevate lagundajate ainevahetuse kiirus on varieeruv (Ivask, 2017).

Glüfosaatsed herbitsiidid vähendavad kasulike mullaorganismide ning lüljalgsete arvukust (Metspalu, 2010). See vähendab orgaanilise aine hulka mullas ning aeglustab lämmastiku siduvate bakterite arengut, kelle koostoimel muutub mullalämmastik taimedele omastatavaks (Metspalu, 2010). Samas võib ta olla teatud mulla mikroorganismidele toitaine ja energia allikaks, mistõttu nende arvukus suureneb (Maheklubi, 2013). Glüfosaati sisaldavad herbitsiidid võivad olla ka mürgised suurele hulgale selgrootutele organismidele, mille tõttu nende arvukus väheneb (Maheklubi, 2013). Lisaks on teada, et glüfosaat muudab mullas bakterite ja seente tasakaalu ebastabiilseks, mis omakorda mõjutab mulla ökosüsteemi toimimist ning taimetervist (Maheklubi, 2013).

Mulla mikroobikooslus koosneb peamiselt bakteritest ja seentest (Hiie, 2016). Bakterite ja seente toimimise aktiivsust võib pidada mulla kvaliteedi oluliseimaks näitajaks, kogu aineringlusest 90-95% läbib mulla mikroobikooslust (Collins & Qualset, 1999). Mikroorganismidel on suur roll ka pestitsiidide, fenoolide ja muude saasteainete lagundamisel (Truu, Truu, & Ivask, 2007). Mikroobikoosluse peamisteks funktsioonideks mullas on:

1. Mullahuumuse moodustamine läbi taimse materjali lagunemise
2. Taimejäänuste lagundamine ning nendest toitainete vabastamine
3. Taimedele toitainete omastavaks muutmine lahustamatutest anorgaanilistest vormidest
4. Õhu lämmastikdioksiidi (NO₂) muundamine taimedele kättesaadavasse vormi (NO₃-)
5. Mulla koostise, vee ja õhustatuse sidumisvõime parandamine
6. Taimedele toitainete kättesaadavuse parandamine läbi sümbioosi seente ja taimejuurte vahel (mükoriisa)
7. Taimehaiguste, kahjurputukate ja umbrohu levimist pidurdav toime (Collins & Qualset, 1999).

Glüfosaadi mõju mullaelustikule ning vihmaussidele on uuritud alates 1992 aastast (Pochron, et al., 2019). Kui vaadata erinevaid tehtud uuringuid, siis uuringutulemuste muster herbitsiidide mõju kohta mullaelustikule on olnud lai (Pochron, et al., 2019). Mullateadlasi teeb murelikuks vihmausside reaktsioon glüfosaadiga kokkupuutel, sest vihmaussid mängivad olulist rolli mullaökoloogias (Pochron, et al., 2019).

1.6 Mullaelustik (mikroobikooslus ja vihmaussid) taimekaitsevahendite mõju indikaatorina

Mullakvaliteedi hindamisel kasutatakse bioloogiliste indikaatoritena organismide arvukuse ja talituse näitjaid (Ivask, 2019). Need näitajad on seotud mullas toimivate protsessidega (Ivask, 2019). Mullakvaliteedi hindamisel on abiks ka organismide toodetud keemilised ühendid ja ainevahetussaadused nagu näiteks mitmesuguste ensüümide sisaldus mullas (Ivask, 2019).

Bioloogilised indikaatorid hõlmavad endas ka mitmesuguseid kooslust iseloomustavaid näitajaid (Ivask, 2019). Nendeks on mitmekesisus, arvukus, toiduahelate kompleksus, koosluste stabiilsus. Lisaks võivad indikaatoriteks olla ka mikroobikoosluse kui ka meso-, mikro- ja makrofauna organismid ja nende populatsioonid (Ivask, 2019). Sagedamini

on mulla kvaliteedi indikaatoritena kasutusel vihmaussid, lestad, hooghännalised, valgeliimuklased, nematoodid ja hulkjalgsed (levik, käitumine, arvukus, bioakumulatsioon) (Ivask, 2019). Mikroobikoosluse parimate indikatiivsete omadustega näitajateks peetakse seente ja bakterite biomassi ning arvukust ja nende aktiivsuse parameetreid (sh ensümaatilise aktiivsus, hingamisaktiivsus, potentsiaalse süsiniku ja lämmastiku mineralisatsiooni kiirus jm), mikroobikoosluse struktuuri parameetreid (sh liigiline ja funktsionaalne mitmekesisus) ning molekulaarsete meetodite abil analüüsitavad näitajad (DNA, fosfolipiidsed rasvhapped jt) (Ivask, 2019). Aga iga mullas elav organism ei sobi indikaatoriks, sest indikaatori valmisel tuleb arvestada, et liik oleks arvukas ja tähtsal kohal mulla talitlemises ja toitumisvõrgustikes (Ivask, 2019). Üldjuhul peavad indikaatori parameetrid hästi mõõdetavad olema, sest saasteaine mõju indikaatoriliigile (võrreldes kontrollrühma või taustaga) peab saama täpselt määratleda (Ivask, 2019). Indikaator peab olema piisavalt vastupidav häiringu mõjule, kuid samas ka parajalt tundlik (Ivask, 2019). Bioloogilise indikaatori kasutamine peab põhinema tänapäevastel ja usaldusväärsetel teadmistel (Ivask, 2019).

Mitmeid selgrootute liike on kasutatud indikaatoritena uurimaks paljude kemikaalide mõju mulla organismidele (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Oluliseks indikaatoriks on vihmaussid nende suure biomassi ning ökoloogilise tähtsuse tõttu. Vihmausside kokkupuude herbitsiididega ja ka teiste pärsivate teguritega võib tekitada ökoloogilist tasakaalutust (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Kokkupuude herbitsiididega võib ka tuua muutusi vihmausside ensümaatilistes aktiivsustes, mis omakorda peegeldub metabolismi häiretes ja raku kahjustustes erinevates kudedes (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018).

Vihmausse mõjutavad herbitsiidid nii läbi naha kui ka seedimise (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Mitmed uuringud on näidanud, et herbitsiidid tekitavad ebasoodsat mõju vihmaussidele, milleks võivad olla näiteks: surma põhjustamine, elutegevuse pärssimine ning reproduktsiooni negatiivne mõjutamine (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Võib öelda, et herbitsiidide mürgisuse kohta vihmaussidele on pigem vähe andmeid ning mõju arvatakse olema minimaalne (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Vihmaussid kannavad elulise tähtsusega rolli mullabioloogias ning seetõttu võib arvuka ja hästifunktsioneeriva vihmaussikoosluse olemasolu mullas parandada nii taimekasvu kui ka mulla viljakust ja selle toitainete ringlust (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018).

1.6.1 *Dendrobaena veneta* ning teised vihmaussi liigid

Vihmaussid moodustavad suure osa elusolevast mulla biomassist ning esindavad suurt rolli mulla bioloogilises mitmekesisuses (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2013). Vihmaussid moodustavad suurema osa selgrootute biomassist parasvöötme agroökosüsteemide mullas (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Eesti põllumuldades võib leida kuni 50 - 350 vihmaussi igal ruutmeetril (Ivask, et al., 2020). Nad toimivad ökosüsteemi inseneridena, peenestades taimejäänuseid, mineraliseerides seda soolestikus (koos mulla orgaanilise ainega) ja parandades mulla toitainete kättesaadavust, tootes aastas kuni 40 tonni heiteid hektari kohta, mis tõstab oluliselt taimede saagikust (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015). Vihmausside aktiivne tegevus mullas soodustab vee liikumist ja taimejuurte kasvu (Ivask, 2019). Vihmaussid osalevad agroökosüsteemi funktsioneerimises ja ökosüsteemi pakutavates teenustes ning kõik tegurid, mis võivad vihmausse kahjustada, mõjutavad ökosüsteemi funktsioone, sealhulgas taimede kasvu ja tootlikkust (Gaupp-Berghausen, Hofer, Rewald, & Zaller, 2015).

Mitmetes uuringutes on leitud, et glüsofaat mõjub ebasoodsalt vihmaussidele ning pärsib nende elutegevust (Bufin & Jewell, 2001). Uus-Meremaal läbiviidud uuringud tõestasid, et lisades kaks korda nädalas glüsofaati vihmausside elukeskkonda põhjustas see muutusi kasvus, suguküpseks saamises ning suremuses (Bufin & Jewell, 2001). *Dendrobaena veneta* pole muidugi ainuke liik mida kasutatakse herbitsiididega seotud uuringutes. *Eisenia fetida*, tuntud ka kui sõnnikuuss, on hea muldkeskkonna tingimuste indikaator herbitsiidide mõju uurimisel (Zhou C.F., 2012).



Joonis 0.4 Täiskasvanud *Dendrobaena veneta* isend (Ruinemans, 2021)

Vihmaussid on mulla orgaanilise aine (MOA) lagundajad – nad võivad seedetraktist läbi lasta umbes 25-40 tonni mulda hektari kohta aastas (Hiie, 2016). Erinevate pestitsiidide mõju vihmaussikooslustele on vastavalt kirjandusele valikuline, sest kõik põllumajanduses kasutusel olevad herbitsiidid ja insektitsiidid ei ole vihmaussidele otseselt kahjulikud ja toksilised (Edwards & Bohlen, 1996). Kõige rohkem on mõjutatud epigeilised liigid, kelle elupaik maapinnal ja kõdukihis on kemikaalide otseses mõjualas (Truu, Truu, & Ivask, 2007). Aneetsiliste vihmaussiliikide maapinnal asuv toit on otseselt kemikaalidele avatud, kuna nad elavad küll sügavates urgudes kuid käivad siiski maapinnal toitumas (Truu, Truu, & Ivask, 2007). Vihmausside elutegevuse häirimine mõjutab otseselt mullas toimuvaid lagunemisprotsesse ja tänu sellele ka lagunemisega seotud tehnoloogiaid nagu näiteks kompostimine (Truu, Truu, & Ivask, 2007).

Dendrobaena veneta on keskmisest suurem vihmaussiliik, mis sobib vermikultuurides kasvatamiseks ja mida kasutatakse vermikompostimisel (Joonis 1.3) (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Liik pärineb Ida-Vahemeremaadest ning on vihmaussifarmides tänaseks levinud üle terve maailma (Mars, 2009). Sellele liigile meeldib looduses elada lehekõdu all orgaanikarikkas mullas ehk tegu on epigeilise liigiga (Mars, 2009). Keskmise isendi pikkuse vahemik jääb 15...160mm vahele, keha läbimõõt 2...8mm ja see koosneb 50...225 lülist (Mars, 2009). Kaal jääb keskmiselt 0,9g ringi (Mars, 2009). Selgmine pool on punakas-violetne ning triibuline ja kõhtmine pool on heledam (Mars, 2009). Kookonid on tavaliselt 3,2...5,1mm pikad, läbimõõduga

3,0...3,6mm ning värvuselt kollakad-oranžid (Mars, 2009). Lisaks talub liik ka suuri niiskuse kõikumisi, kuid mitte temperatuuri kõikumisi (Dominguez, 2004). *Dendrobaena veneta* elutsükli pikkus on 100...150 päeva, sõltuvalt temperatuurist, mis võiks jääda 15-25 kraadi vahele (Mars, 2009). Umbes 65 päeva vanuselt saavutab liik suguküpsuse (Dominguez, 2004).

2. MATERJAL JA METOODIKA

Magistritöö jaoks vajalikud katsed viidi läbi kuue kuu vältel, ajavahemikus 16.06.2020-07.01.2021. Katseteks vajalikud tarvikud ning viljamaad finantseeris Tallinna Tehnikaülikool Tartu Kolledž. Katsed viidi läbi Tallinna Tehnikaülikooli Tartu Kolledži laboratooriumites. Katsete läbiviimist ja protsessi juhendas emeriitprofessor Mari Ivask, kuid teostas autor.

2.1 Katsetes kasutatud materjalide kirjeldus

Katsete koostamisel kasutati Bauhoff-st ostetud lillepotte, mis olid ülevalt ringja kujuga. Kuna igas katsevariandis oli kuus kordust, siis osteti potte kokku 24tk. Pottide ülemine übermõõt oli $48,67\text{cm}^2$ (raadius $7,75\text{cm}$) ning alumine übermõõt $31,4\text{cm}^2$ (raadius 5cm). Poti kõrgus oli 14cm ning ruumala $1541,35\text{cm}^3$. Poti põhja tehti 2 auku, et katsed oleksid aereeritud. Mulda lisati katsetesse umbes 1300cm^3 (Joonis 2.1).



Joonis 2.1 Salatitaimede manustamine katsetesse (autori foto)

Ussid osteti Salmo kalapoest. Autor valis vihmaussi liigiks *Dendrobaena veneta*. Ühes karbis oli 10 täiskasvanud isendit ning kokku osteti 24 karpi. Igasse katsevarianti lisati 10 täiskasvanud isendit. Vihmaussid osteti samal päeval kui need katsetesse lisati.

Kolme katsevariandi puhul kasutati erinevate kontsentratsioonidega *Monsanto* toodet *Roundup*. *Roundup* on glüfosaadil põhinev umbrohtõrjeks kasutatav taimekaitsevahend ehk herbitsiid, mida enamasti kasutatakse umbrohtude tärkamisjärgseks tõrjeks. Kontrollvariandi puhul glüfosaati ei kasutatud.

Katsetes olnud vihmausse söödeti kord kuus salatitaimedega. Kasutati poest ostetud Grüne Fee salatitaimi. Salatitaimed töödeldi vastavalt meetodite alapeatükis kirjeldatule. Katsete järk-järgulise ülevõtmise järel vähenes ka katsetesse pandavate salatitaimede kogus.

Potid täideti mullaga, mis osteti Bauhof-st. Kasutati toodet „Bio kasvuhoonemuld kompostiga“ (60l kott). Toote nimetus – pakitud mullasegu. Tegu on 2-*in*-1 kasvumullaga, mis on kasutusvalmis bioloogiliselt aktiivne üldmuld kasvuhooone taimedele. Muld sisaldab turvast, komposti sõnnikut, biohuumust e. vermikomposti, humiinpreparaati, *Trichoderma* spp ja orgaanilisi väetisi. Mulla PH_{KCl} oli vahemikus 5,5-6,5 ning orgaanilise aine sisaldus 30%. Elektrijuhtivus 3,0mS/cm ning mahukaal 400g/l. Toitainete sisaldus: lämmastik 100-200 mg/l, fosfor 50-150 mg/l ja kaalium 400-600 mg/l. Katsetes kasutatud mullala niiskus oli kuni 65% ning jämedusaste 0-30mm.

2.2 Meetodid

Katsed viidi läbi TTÜ Tartu Kolledži laboris C-113. Katsed pandi ülesse nii, et kaitsta neid otsese päiksevalguse eest. Ruumis kus katsed olid on ka toimiv ventilatsioon. Katsevariandid milles glüfosaati ei kasutatud asetsevad glüfosaadiga katsetest eemal. Kõiki katseid kasteti vastavalt vajadusele, kuid ei lisatud kunagi üle 50ml vee korraga. Sellega tagati vihmaussidele elutsemiseks vajalik mulla niiskuse sisaldus. Katsetesse lisati salatitaimi regulaarselt, 1 kord kuus. Taimed töödeldi vastavalt allpool kirjeldatud loogikale. Salatitaimede lisamisel ei pandud neid otse potile mulla peale, vaid kaevati ettevaatlikult mullakihi alla.

2.2.1 Katsevariandid

Esimene katsevariandi puhul manustati glüfosaati normi piires (30ml/1l vee kohta) potis kasvavatele taimedele. Kui taimed närbuvad, siis võeti nad koos juurtega potist välja ning lisati ülejäänud katsega kokku (muld+ussid). Selle katse metodika oli, et piserdati 20x (üks piserdus ca 1ml) potis olev taim glüfosaadi lahusega ning jäeti ootele 10ks

päevaks kuni glüfosaat mõjuma hakkab ning taime välja suretab. Peale seda lisati taimed potti mullapinnale (29.06.2020). Lisaks piserdati mulda ja glüfosaadiga töödeldud taimi veega. Koguseliselt 50ml.

Teise katsevariandi puhul võeti taimed enne Roundup-iga töötlemist potis välja ning jäeti aluse peale närbuma. Ka selle katsevariandi puhul kasutati glüfosaati normi piires (30ml/1l vee kohta) ning piserdati 20ml alusel olevatele taimedele. Esimese ja teise katsevariandi erinevus seisnes selles, et esimese puhul jäeti enne glüfosaadiga töötlemist salatitaimed juurtega mulda aga teise katsevariandi puhul võeti taimed potist eelnevalt välja. Seda tehti sellepärast, et glüfosaat liigub taime paremini läbi juurte.

Kolmanda katsevariandi puhul võeti taimed enne Roundup-iga töötlemist potist välja ning jäeti aluse peale seisma. Roundup-i kontsentratsioon selle katsevariandi puhul oli nagu ka I ja II katsevariandil (30ml/1l vee kohta). Seejärel piserdati 20ml alusel olevatele taimedele. Kolmas katsevariant oli kõige ekstreemsem, sest lisaks herbitsiidiga töödeldud taimede lisamisele katsesse, piserdati mullale kümne kordse kontsentratsiooniga (300ml/1l vee kohta). Piserdati 20 korda (20ml). Põhjenduseks võib tuua paralleelse põllumajandusega kus võib juhtuda sarnane olukord lokaalselt.

Neljas katse oli kontrollkatse. See tähendab, et katses kasutatud salatitaimed ei olnud glüfosaadiga töödeldud, vaid asetati teisele kandikule samuti kümneks päevaks närbuma. Hiljem lisati potti kuhu eelnevalt oli lisatud juba muld ning katses osalevad vihmaussid.

2.2.2 Katsete ülesvõtmise protsess

Katsed võeti ülesse ühe korra kuus. Selle protsessi käigus võeti igast katsevariandist üks kordus ehk kokku 4 kordust. Kuna kordusi oli 4 erinevas variandis kokku 24, siis katsete ülesvõtmine toimus kuuel korral. Katsetega seotud toimingud viidi üldjuhul läbi keemialaboris. Katsete ülesvõtmisel olid abiks: kandik (kuhu potis olev muld laiali laotati), pintsetid, topsid (vihmausside ja kookonite loendamiseks), kaal (täpsus – 4 kohta peale koma), kummikindad, mullaproovi anumad, marker ja valgustus (kurekael).

Esmalt valmistati ette pottide sisu laialivõtmiseks töönurk. Muld laotati laiali 25cmx35cm kõrgemate äärtega kandikule. Autor sorteeris terve katse väga hoolikalt pintsettidega läbi ilma vihmaussidele liiga tegemata. Paralleelselt oli autor ettevalmistanud veega täidetud anumad kuhu läksid katsest välja nopitud vihmaussid. Väiksemale plastikanumasse loendati kookonid ning hiljem ka nooremad ussid (neid veel esimesel ülesvõtmisel ei olnud). Täiskasvanud vihmaussid pesti anumasse ning kaaluti ja märgiti andmed ülesse. Andmed töödeldi Excel 2016 programmiga. Glüfosaadiga saastunud

vihmausside jaoks oli loodud eraldi elukeskkond kuhu nad peale katses osalemist viidi. Ka ilma glüfosaadi kokkupuuteta ehk kontrollkatse vihmausside jaoks oli eraldi keskkond elamiseks loodud.



Joonis 2.2 Katse ülevõtmine (autori foto)

2.2.3 Katsetega seotud kuupäevad

Autor koostas tabeli kuupäevade kohta. Tabelis 2.1 on üleskirjutatud katsetega seotud olulisemad kuupäevad. Esimeses lahtris on kuupäev ning teises lahtris on märgitud, et mis autor sellel päeval katse kordustega tegi.

Tabel 2.1 Katsetega seotud kuupäevad

16.06.2020	Osteti potid
19.06.2020	Töödeldi glüfosaadiga taimed, nummerdati katsevariandid
29.06.2020	Glüfosaadiga töödeldud salatitaimed võetakse koos juurtega potist välja. Sama tehakse ka puutumata salatitaimedega ning jäetakse üheskoos kuivama.
6.07.2020	Vihmausside ostmine ning katsetesse lisamine
07.08.2020	Esimese katsevariandi ülesvõtmine, töödeldi salatitaimed ja jäeti närbuma
07.09.2020-08.09.2020	Teise katsevariandi ülesvõtmine, töödeldi salatitaimed ja jäeti närbuma
15.09.2020	Kõigile järelejäänud 16-le katsele lisati juba varem kuivama jäetud närbunud taimed. Lisaks kasteti katseid veega.
9.10.2020	Kolmanda katsevariandi ülesvõtmine, töödeldi salatitaimed ja jäeti närbuma
20.10.2020	Jagati närbunud salatitaimed katsevariantide vahel ära ning lisaks kasteti katseid veega
06.11.2020	Neljanda katsevariandi ülesvõtmine, töödeldi salatitaimed ja jäeti närbuma
13.11.2020	Jagati närbunud salatitaimed katsevariantide vahel ära ning lisaks kasteti katseid veega
03.12.2020	Viienda katsevariandi ülesvõtmine, töödeldi salatitaimed ja jäeti närbuma
17.12.2020	Jagati närbunud salatitaimed katsevariantide vahel ära ning lisaks kasteti katseid veega
07.01.2021	Võeti üles kuues ehk viimane katsevariant

2.3 Analüüside metoodika

Analüüsiti katsetes saadud mullaparameetreid. Analüüsid teostati Tallinna Tehnikaülikooli Tartu kolledži laboris. Mulla parameetritest analüüsiti mikroobikoosluse hingmisaktiivsust (BA), kuivaine sisaldust ja mikroobset biomassi (SIR). Suureks abiks oli analüüside juures Laura Lokko. Kokku teostati analüüse kuuel korral ning nelja erineva katsevariandi mullaga. Vajadusel hoiti mulda külmkapis 4°C temperatuuri juures.

2.3.1 Kuivaine sisaldus

Mullaniiskus määrati laboris kaalukao meetodil. Proovid kaaluti enne kuivatamist, seejärel kuivatati 72 tunni jooksul temperatuuri juures 105°C ning kaaluti proovid uuesti kaalukao leidmiseks.

Arvutamiseks kasutas töö autor järgnevaid valemeid (F.Schinner, Franz, Öhlinger, Kandeler, & Margesin, 1996):

$$N = \frac{a-p}{p} \times 100 \quad (2.1)$$

kus,

N – proovi niiskusesisaldus, %;

KA – proovi kuivainesisaldus, %;

p – proovi mass enne kuivatamist, g;

a – proovi mass pärast kuivatamist, g.

2.3.2 Mikroobikoosluse basaalne aktiivsus

Basaalse ehk hingamisaktiivsuse määramiseks kasutati OxiTop® manomeetrilist mõõtmisüsteemi, mis vastab rahvusvahelistele standardmeetoditele (Reuschenbach, Pagga, & Strotmann, 2003).

Analüüsiks kaaluti igast proovist 100g mulda, mis asetati liitristesse mõõteanumatesse ning absorbendina kasutati natroonlupja. Seejärel suleti mõõteanumad klambritega,

monteeriti mõõtepead külge ning proovid pandi seisma 96 tunniks 25°C temperatuuri juurde. Mõõteanumates toimuvat fikseerivad spetsiaalsed mõõtepead, mis jälgivad hapniku tarbimisest tingitud rõhu langust. Tulemused kanti peale 96 tundi ACHAT OC tarkvara kasutades arvutisse.

Hapnikutarve arvutamiseks kasutati järgnevat valemit (Platen & Wirtz, 1999)

$$BA = \frac{M_R(O_2)}{R \times T} \times \frac{V_{\delta hk}}{m_{Bt}} \times \Delta p \quad (2.2)$$

BA - hapnikutarve, mg O₂/kg KA;

M_R(O₂) – hapniku molaarmass, 32 000 mg/mol;

R – universaalne gaasikonstant, 83,14 L×mbar/mol-1×K-1;

T – mõõtmistemperatuur kelvinites (K);

V_{δhk} – õhu ruumala mõõtmisanumas, liitrites (l);

m_{Bt} – kuivaine mass mõõtmisüsteemis, kg KA;

Δp – rõhu langus mõõtmisüsteemis, mbar (1 mbar = 1haPa).

Mõõtmisanumas oleva õhu ruumala arvutati, kasutades järgnevat valemit (O'Malley, 2006):

$$V_{\delta hk} = V_{\delta \text{uld}} - V_{\delta \text{pinnas}}, \quad (2.3)$$

kus,

V_{δhk} – õhu ruumala mõõtmisanumas, l;

V_{δuld} – mõõtmisanuma üldruumala, l;

V_{δpinnas} – pinnaseproovi ruumala, l.

2.3.3 Mikroobne biomass

Mikroobide biomassi hindamise aluseks kasutas autor substraadi poolt indutseeritud hingamise (SIR) meetodit. Antud metoodika põhineb eeldusel, et glükoosi lisamisel on maksimaalne hapniku tarbimine mikroorganismide poolt proportsionaalne nende biomassiga. (F.Schinner, Franz, Öhlinger, Kandeler, & Margesin, 1996)

Analüüsiks kaaluti igast mullaproovist 50 grammi mulda ning lisati sinna 0,25 grammi glükoosi. Peale seda segati proovid korralikult, mõõteanumad suleti klambritega, mõõtepead monteeriti külge ning proovid pandi 24 tunniks 22°C juurde.

Mikroobide biomassi süsiniksisalduse arvutamiseks kasutati järgnevat seost:

$$1mgO_2g^{-1}h^{-1} = 28 mg \text{ biomass } Cg^{-1}$$

2.3.4 Andmetöötlus

Katsetulemuste esitamisel kasutati Microsoft Exceli programmi (keskmised, keskmiste vead, illustreerivad joonised). Tulemused analüüsiti programmi Statistica 11.0 (StatSoft) abil, kasutati mitteparameetrilist Kruskal-Wallise dispersioonanalüüsi keskmiste võrdlemisel ning mitmest regressioonanalüüsi seose väljaselgitamiseks kahe parameetri vahel, mis muutusid katse vältel. Mõõdetud parameetrite vaheliste seoste suunda ja tugevust hinnati Spearman'I astakorrelatsioonanalüüsi meetodil. Analüüsitulemused loeti statistiliselt usaldusväärseks kui tõenäosus $p < 0.05$.

3. TULEMUSED

3.1 Glüfosaadi mõju katse mullatingimustele

3.1.1 Mulla niiskusesisaldus

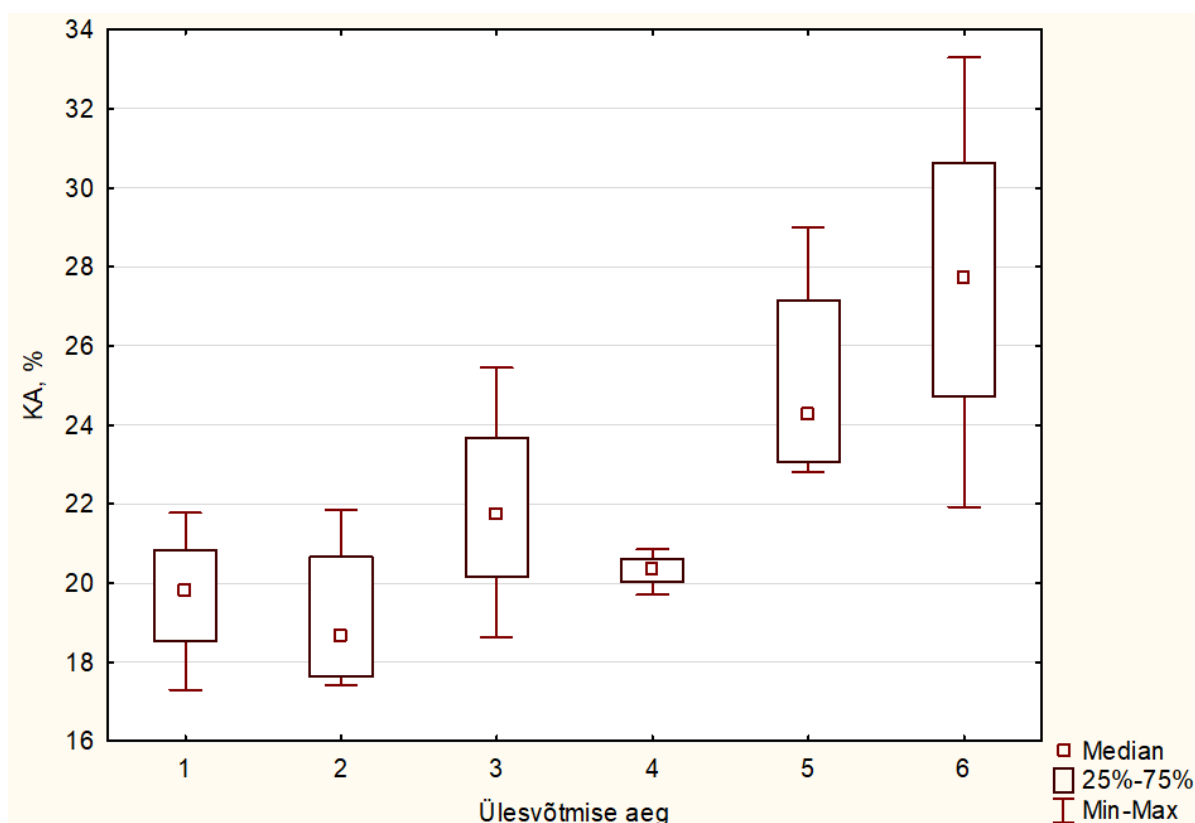
Tabel 3.1 Mulla kuivainesisaldus katsevariantide korduste ülesvõtmisel

Katsevariant	Katsevariandi ülesvõtmise kord	Kuivaine %
1	1.1	19.86
1	1.2	17.85
1	1.3	21.67
1	1.4	19.7
1	1.5	22.8
1	1.6	27.54
2	2.1	19.78
2	2.2	17.41
2	2.3	25.44
2	2.4	20.34
2	2.5	29
2	2.6	33.3
3	3.1	17.3
3	3.2	19.48
3	3.3	18.63
3	3.4	20.39
3	3.5	23.3
3	3.6	27.96
4	4.1	21.78
4	4.2	21.84
4	4.3	21.89
4	4.4	20.85
4	4.5	25.3
4	4.6	21.92

Katseid niisutati kogu katse vältel, kuid sellegipoolest suurenes kuivaine sisaldus kõikides katsevariantides. Teisisõnu, mida aega edasi seda rohkem vähenes niiskusesisaldus katses.

Joonisel 3.1 leiame katsevariantide mulla keskmise kuivainesisalduse % korduste ülesvõtmise kuupäevadel. Kuivainesisaldus on tõusvas joones ehk niiskusesisaldus vähenes järk-järgult. I ja II ülesvõtmisel oli kuivaine sisaldus $19,68 \pm 1,59\%$ ja $19,15 \pm 1,74\%$. III ülesvõtmisel oli see $21,91 \pm 2,41\%$ ning IV ülesvõtmisel $20,32 \pm 0,41\%$. V ülesvõtmisel tegi keskmine kuivainesisaldus suurima tõusu

($25,1 \pm 2,44\%$). Võime öelda, et kuivaine sisalduse keskmine % on positiivses korrelatsioonis ajaga. Kõige kõrgem kuivainesisaldus esines viimasel ehk VI ülesvõtmisel ($27,68 \pm 4,03\%$). Kõige madalam kuivaine sisaldus oli teisel ülesvõtmisel ($19,15 \pm 1,74\%$).



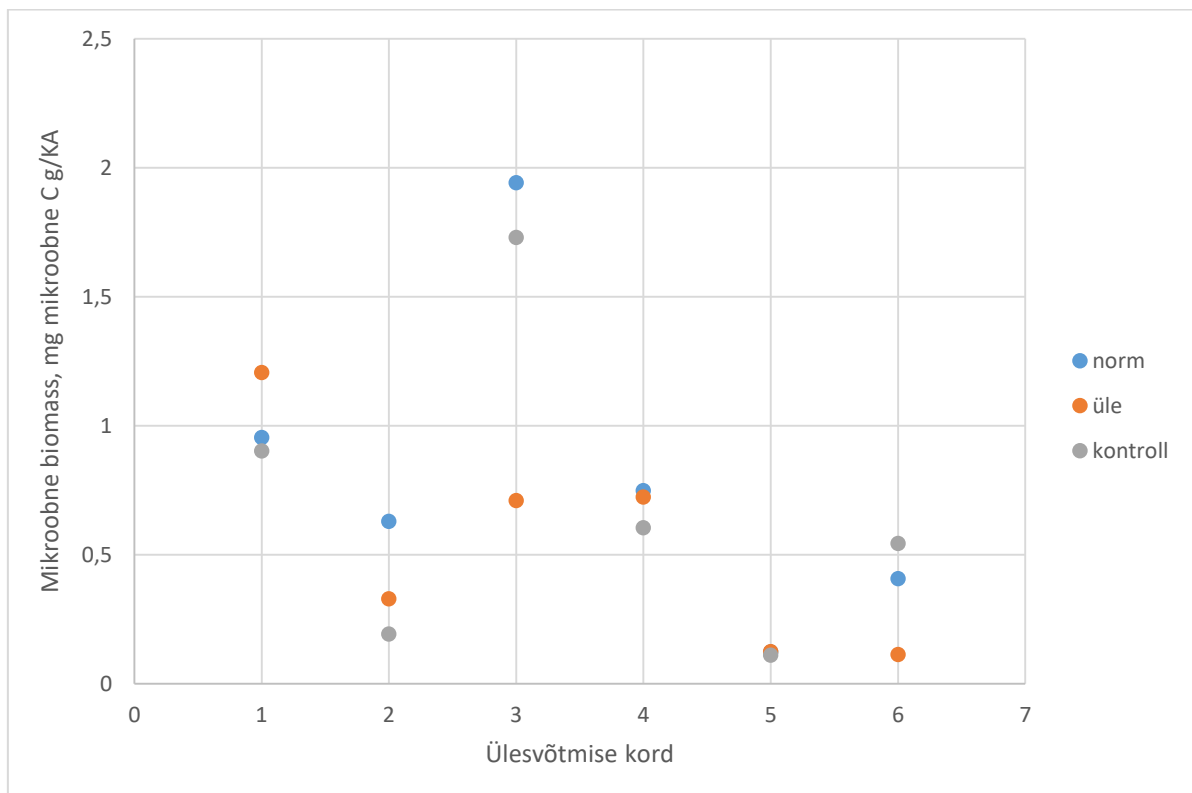
Joonis 3.1 Kuivaine sisalduse keskmine % katsete ülesvõtmisel

3.2 Glüfosaadi mõju mulla mikroobikooslusele

Tabel 3.2 Mulla mikroobikoosluse parameetrite väärtused (SIR, BA) katsevariantide korduste ülesvõtmisel

Variant	Kordus	SIR	BA
1	1.1	0.954	0.175
1	1.2	0.629	0.194
1	1.3	1.942	0.561
1	1.4	0.748	0.22
1	1.5	0.123	0.601
1	1.6	0.407	0.605
2	2.1	0.993	0.331

2	2.2	0.081	0.877
2	2.3	1.268	0.3
2	2.4	0.621	0.154
2	2.5	0.097	0.245
2	2.6	0.126	0.235
3	3.1	1.419	0.672
3	3.2	0.576	0.249
3	3.3	0.151	0.056
3	3.4	0.826	0.485
3	3.5	0.151	0.298
3	3.6	0.1	0.348
4	4.1	0.902	0.383
4	4.2	0.193	0.342
4	4.3	1.73	0.032
4	4.4	0.605	0.2
4	4.5	0.111	0.377
4	4.6	0.544	0.341

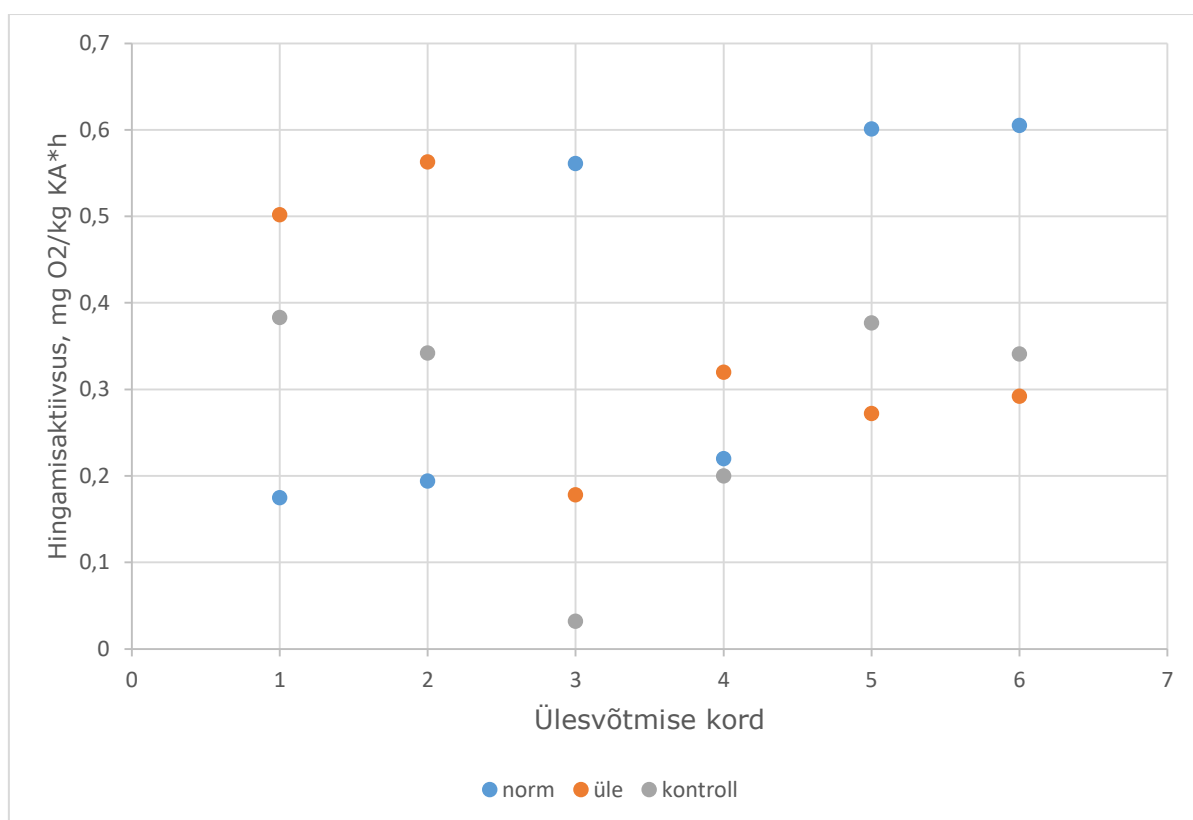


Joonis 3.2 Mulla mikroobikoosluse biomass, mg mikroobne C g/KA

Jooniste ja graafikute tegemisel on kahe katsevariandi (2 ja 3) tulemused kokku pandud, sest mõlema puhul kasutati ülenormatiivset kontsentratsiooni. Seda on tulemuste esitamisel tehtud läbivalt.

Mikroobne biomass (joonis 3.23.2) oli kõige kõrgem katsevariandis, kus kasutati glüfosaati normi piires (keskmine $0,801 \pm 0,573$ mg biomass C g/KA). Kõige madalam oli mikroobne biomass katsevariandis, kus glüfosaati manustati üle normi (keskmine $0,534 \pm 0,389$ mg biomass C g/KA). Kontrollvariandis keskmine mikroobne biomass oli $0,681 \pm 0,538$ mg biomass C g/KA. Kõige kõrgem mikroobne biomass esines kolmandal ülesvõtmisel, katses kus kasutati glüfosaati normi piires ($1,942$ mg biomass C g/KA). Kõige madalam oli mikroobne biomass kontrollvariandi viiendal ülesvõtmisel ($0,111$ mg biomass C g/KA).

3.3 Glüfosaadi mõju mikroobikoosluse basaalsele aktiivsusele



Joonis 3.3 Mikroobikoosluse basaalse aktiivsuse dünaamika katse jooksul

Mikroobikoosluse hingamisaktiivsus (joonis 3.33.3) jäi vahemikku 0,032 mg O₂/kg KA*h kuni 0,605 mg O₂/kg KA*h. Kui vaadata katsevariantide keskmiseid, siis kõige kõrgem mikroobikoosluse hingamisaktiivsus esines variandis, kus kasutati glüfosaati normi piires (0,393±0,197 mg O₂/kg KA*h). Kõige madalam oli see kontrollvariandis (0,279±0,126 mg O₂/kg KA*h). Katsevariantides, kus kasutati glüfosaati üle normi oli keskmine 0,355±0,134 mg O₂/kg KA*h.

Viimasel kahel ülesvõtmisel oli basaalne aktiivsus märgatavalt kõrgem katsel, kus glüfosaati kasutati normi piires (0,601 ja 0,605 mg O₂/kg KA*h). Samas oli hingamisaktiivsus kõige madalam katsevariandis kus kasutati üle normi glüfosaati (0,272 ja 0,292 mg O₂/kg KA*h). katsevariandis jäi vastav näitaja viimasel kahel ülesvõtmisel nende vahele (0,377 ja 0,341 mg O₂/kg KA*h).

3.4 Glüfosaadi mõju vihmaussidele

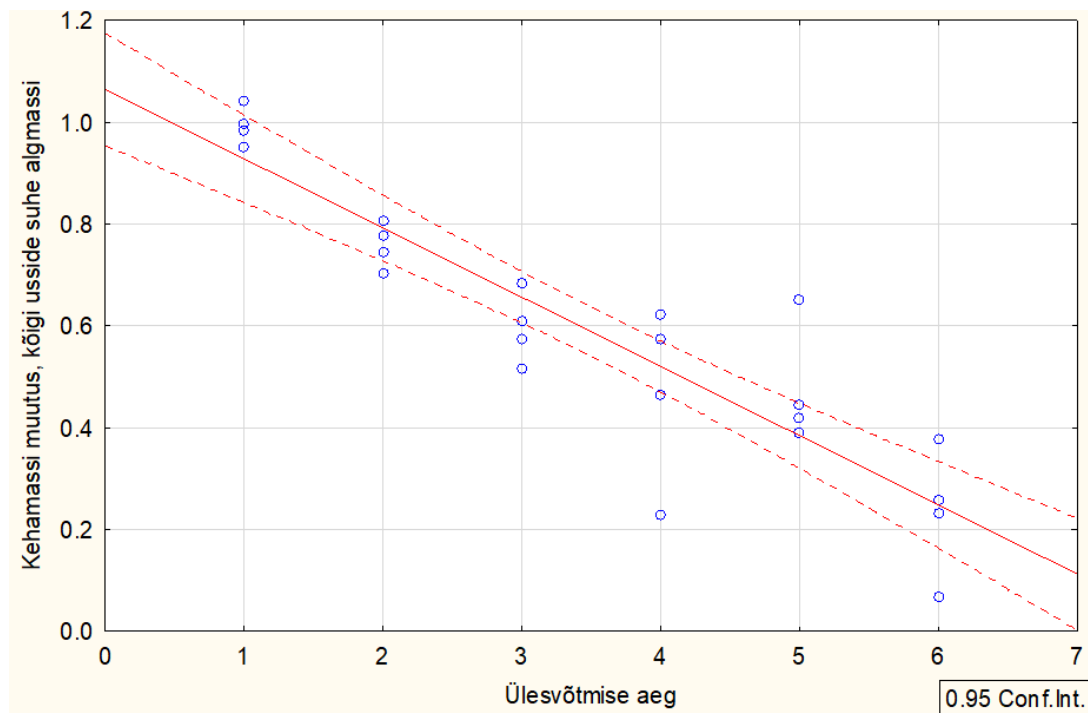
Tabel 3.3 Vihmaussikoosluse parameetrid katsevariantide korduste ülesvõtmisel

Variant	Kordused ülesvõtmisel	Usside kogu massi muutus, lõppmassi suhe algmassi	Ühe ussi M alguses, g	Ühe ussi M üles võtmisel, g	Ühe isendi massi muutus, lõppmassi suhe algmassi	Vihmausside arv korduste ülesvõtmisel
1	1.1	0.951	1.555	1.479	0.951125	10
1	1.2	0.778	1.618	1.258	0.777503	10
1	1.3	0.517	1.67	0.863	0.516766	10
1	1.4	0.576	1.574	0.906	0.575604	10
1	1.5	0.651	1.586	0.938	0.591425	10
1	1.6	0.068	1.455	0.331	0.227491	3
2	2.1	1.041	1.828	1.731	0.946937	10
2	2.2	0.744	1.735	1.29	0.743516	10
2	2.3	0.61	1.549	0.946	0.6107	10
2	2.4	0.465	1.7	0.79	0.464706	10
2	2.5	0.445	1.755	0.782	0.445584	10
2	2.6	0.259	1.699	0.551	0.324308	8
3	3.1	0.983	1.584	1.557	0.982955	10
3	3.2	0.703	1.587	1.116	0.703214	10
3	3.3	0.684	1.603	1.096	0.683718	10

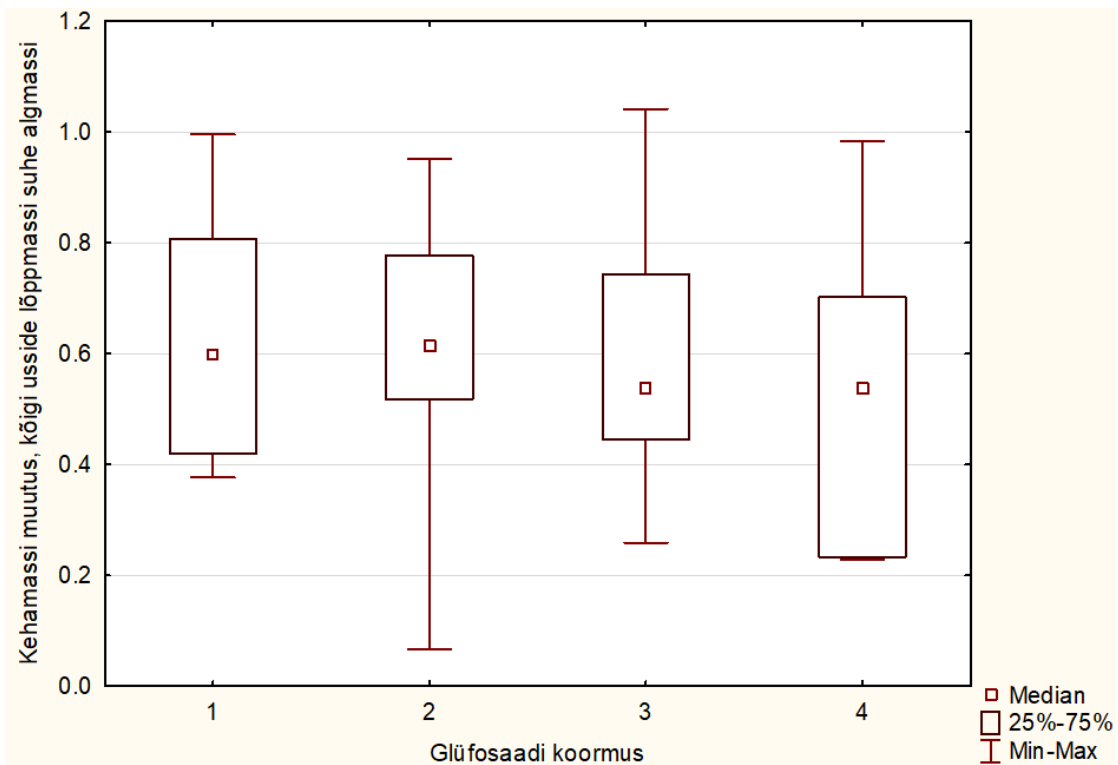
3	3.4	0.229	1.651	0.542	0.328286	7
3	3.5	0.39	1.513	0.843	0.557171	7
3	3.6	0.233	1.491	0.497	0.333333	7
4	4.1	0.996	1.496	1.491	0.996658	10
4	4.2	0.806	1.324	1.186	0.89577	10
4	4.3	0.573	1.58	1.005	0.636076	10
4	4.4	0.624	1.571	0.98	0.623806	10
4	4.5	0.421	1.582	0.666	0.420986	10
4	4.6	0.377	1.544	0.582	0.376943	10

3.4.1 Vihmausside kehamassi vähenemine

Massikao (lõppmassi suhe algmassi) kirjeldamiseks analüüsiti selle seost ülesvõtmise ajaga (Joonis 3.4). Suhte lõppM/algM väärtused: statistiliselt usaldusväärselt erinesid 6. korrast 1. kord ($p=0.0018$) ja 2. kord ($p=0.034$). Suhe korreleerus ülesvõtmise ajaga, $r = -0.9043$, $p < 0.05$.



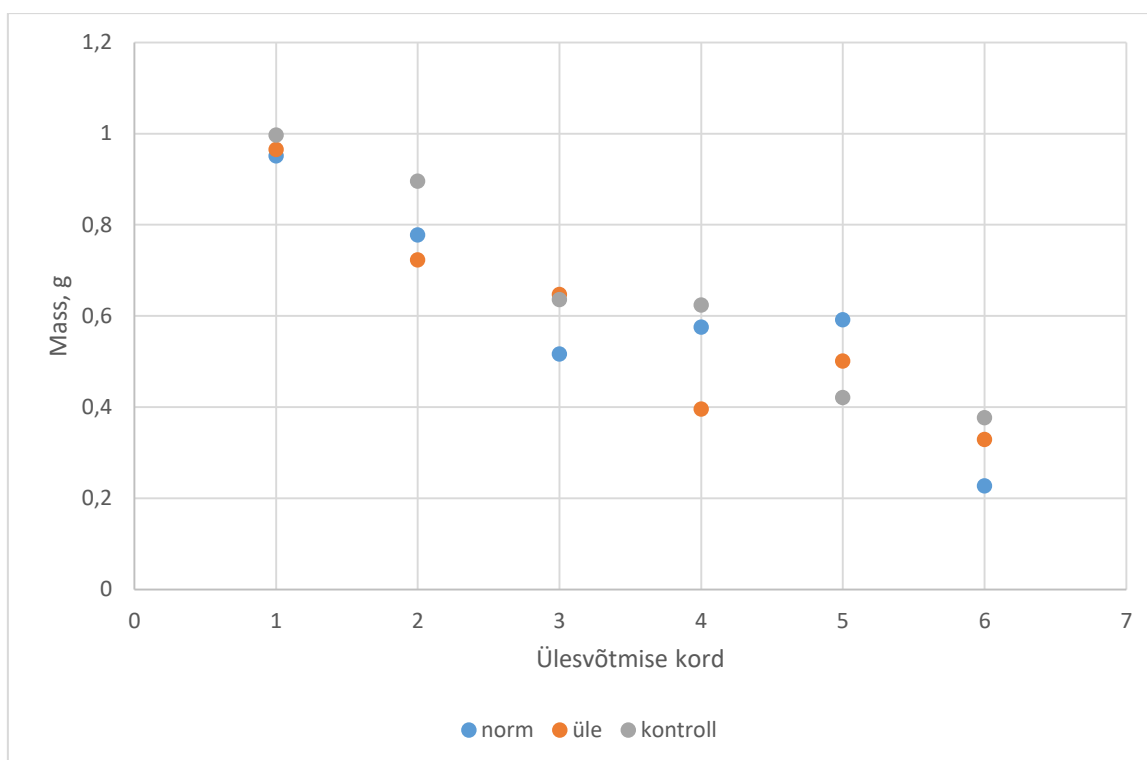
Joonis 3.4 Vihmausside kehamassi vähenemine (kõik katsevariandid) $\Delta M = 1.0643 - 0.1359 * \text{ülesvõtmise aeg}$, $r = 0.9043$



Joonis 3.5 Kehamassi vähenemine katsevariantide keskmisena

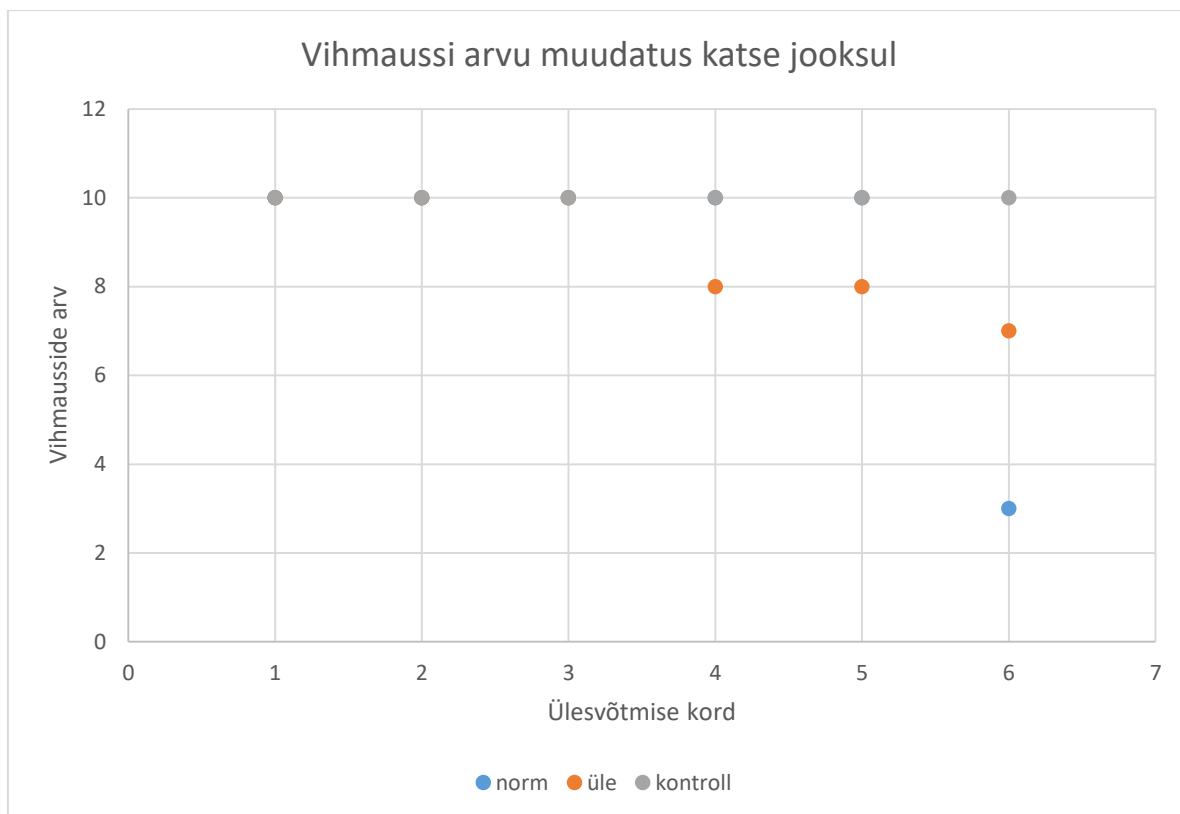
Analüüsis kasutati glüfosaadi koormuste puhul järjestustunnust: 1 – kontroll (katsevariant 4), 2 – normkoormus (katsevariant 1), 3 – ülekoormus (katsevariant 2), 4 – ülekoormus (katsevariant 3). Joonis 3.5 näitab, et erineva koormusega variantide vahel ei ole (lõppmassi suhe algmassi) väärtustes statistilist erinevust, kõrgema koormuse puhul on keskmine väärtus mõnevõrra madalam.

3.4.2 Vihmausside arvu ja ühe isendi massi muutus katse jooksul



Joonis 3.6 Ühe isendi massi dünaamika katse jooksul erineva glüfosaadi koormuse juures

Vaadates joonist 3.6 leiame, et ühe isendi mass oli terve katse jooksul languses kõikide katsevariantide puhul. Siiski, igal ülesvõtmise korral oli kontrollvariandi vihmausside mass veidi kõrgem glüfosaadiga katsevariantidest. Ainuke kord, kui kontrollvariandi ühe isendi mass ei ületanud teiste variantide ühe isendi massi, oli viiendal ülesvõtmisel. Tuleb tõdeda, et kontrollkatse keskmine ühe isendi mass oli suurem kui glüfosaadiga töödeldud katsete puhul. Kontroll katsel oli see $0,658 \pm 0,227\text{g}$, normkoormuse juures oli vastav näitaja $0,607 \pm 0,224\text{g}$ ja ülekoormuse juures $0,594 \pm 0,214\text{g}$.



Joonis 3.7 Vihmaussi arvu muudatus katsetes

Jooniselt 3.7 leiame, et kontrollvariandis jäi vihmausside arv igal ülesvõtmisel samaks nagu see oli katse alguses. Ülenormi katsevariandis oli neljandal ja viiendal ülesvõtmisel 8 ja viimasel ehk kuuendal ülesvõtmisel 7 täiskasvanud isendit. Normaalkoguse glüfosaadiga katsevariandi isendite arv oli esimesel viiel ülesvõtmisel 10, kuid viimasel ülesvõtmisel oli täiskasvanud isendeid järel ainult 3.

3.4.3 Vihmausside reproduktsioon katsetingimustes erineva glüfosaadi koormuse juures

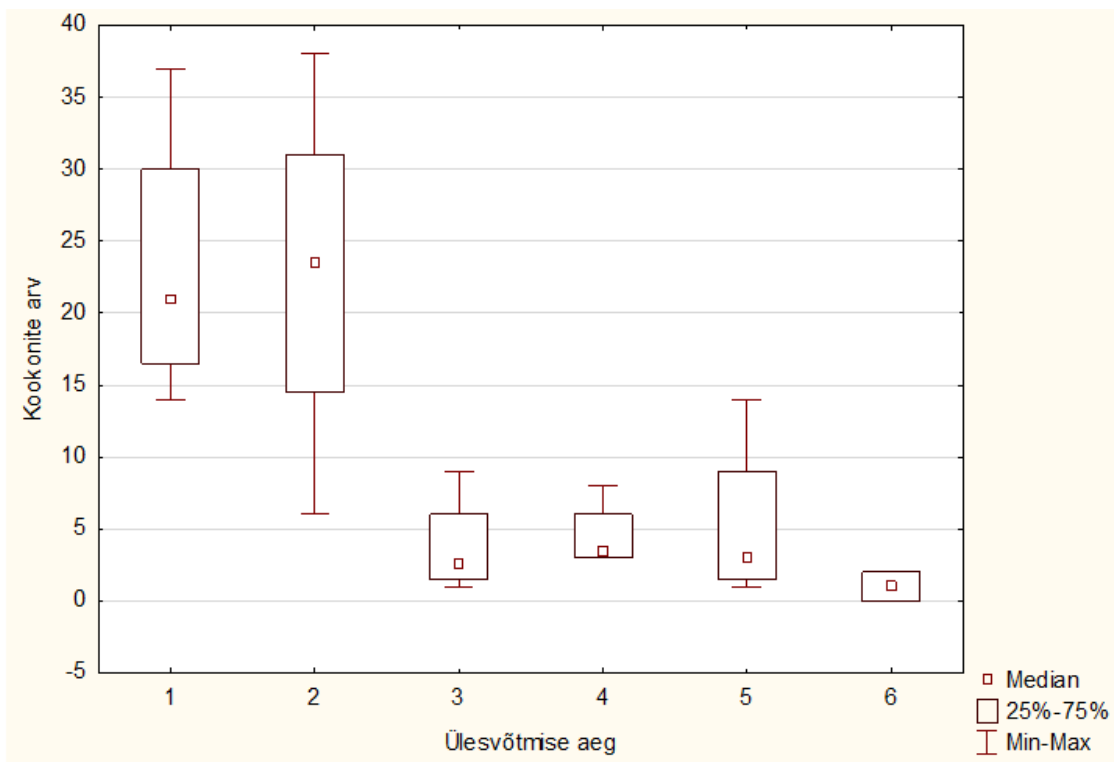
Tabel 3.4 Vihmaussikoosluse reproduktsiooni parameetrid kaasevariantides

Variant	Kordused	Kookonite arv	Noorte vihmausside arv	Noorte vihmausside kogumass	Ühe noore vihmaussi mass
1	1.1	14	0	0	0
1	1.2	38	13	0.741	0.057
1	1.3	2	35	1.986	0.057
1	1.4	4	36	0.892	0.025
1	1.5	1	4	0.083	0.021

1	1.6	0	0	0	0
2	2.1	19	0	0	0
2	2.2	24	6	0.276	0.046
2	2.3	1	55	2.517	0.046
2	2.4	8	35	0.978	0.028
2	2.5	14	15	0.314	0.021
2	2.6	0	12	0.142	0.012
3	3.1	23	0	0	0
3	3.2	23	15	0.63	0.042
3	3.3	3	24	1.003	0.042
3	3.4	3	11	0.385	0.035
3	3.5	2	15	0.33	0.022
3	3.6	2	1	0.022	0.022
4	4.1	37	0	0	0
4	4.2	6	22	0.99	0.045
4	4.3	9	44	1.996	0.045
4	4.4	3	45	1.046	0.023
4	4.5	4	30	0.671	0.022
4	4.6	2	13	0.337	0.026

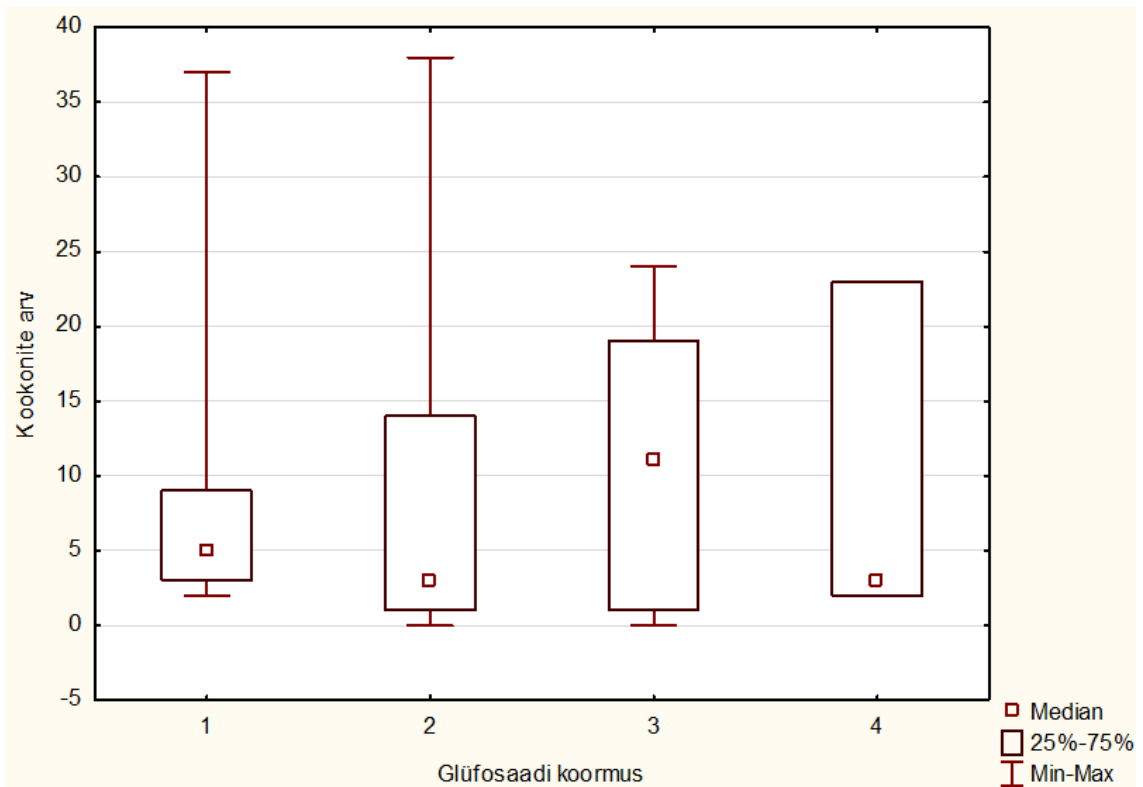
Joonisel 3.8 leiame, et esimesel ja teisel ülesvõtmisel oli kookonite arv kõige suurem. Esimesel ülesvõtmisel oli normkoormuse kookonite arv 14, ülenormkoormusega katsevariantide kookonite arv oli 21 ja kontrollkatses oli see märgatavalt kõrgem – 37 kookonit. Peale esimest kahte ülesvõtmist kookonite tootmine aeglustus ning jäi

stabiilselt madalaks. Nendest viimasel ülesvõtmisel leiti kõikidest katsetest kokku keskmiselt $1 \pm 0,817$ kookonit.



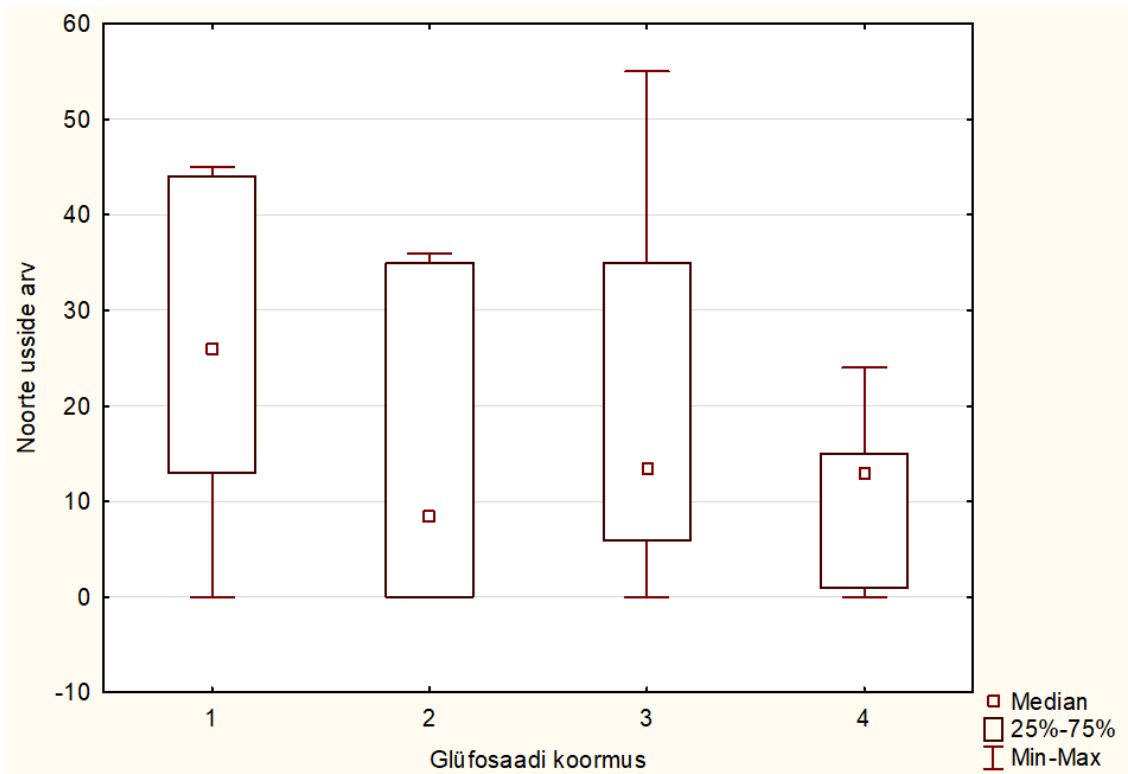
Joonis 3.8 Kookonite arv katsevariantide ülesvõtmiste ajal

Joonis 3.9 näitab produtseeritud kookonite arvu erineva glüfosaadi koormuse juures. Kontrollvariandi ja normkoormusega katsevariandi juures on üksiku ülesvõtmise väärtused kõige kõrgemad (37 ja 38 kookonit). Kolmanda katsevariandi ehk glüfosaadi ülekoormusega mullas on kookonite arv natukene kõrgem kui ülejäänud katsevariantide puhul, kuid erinevus ei ole statistiliselt usaldusväärne. Esimese, teise ja neljanda variandi puhul on kookonite arv ühetaoline.



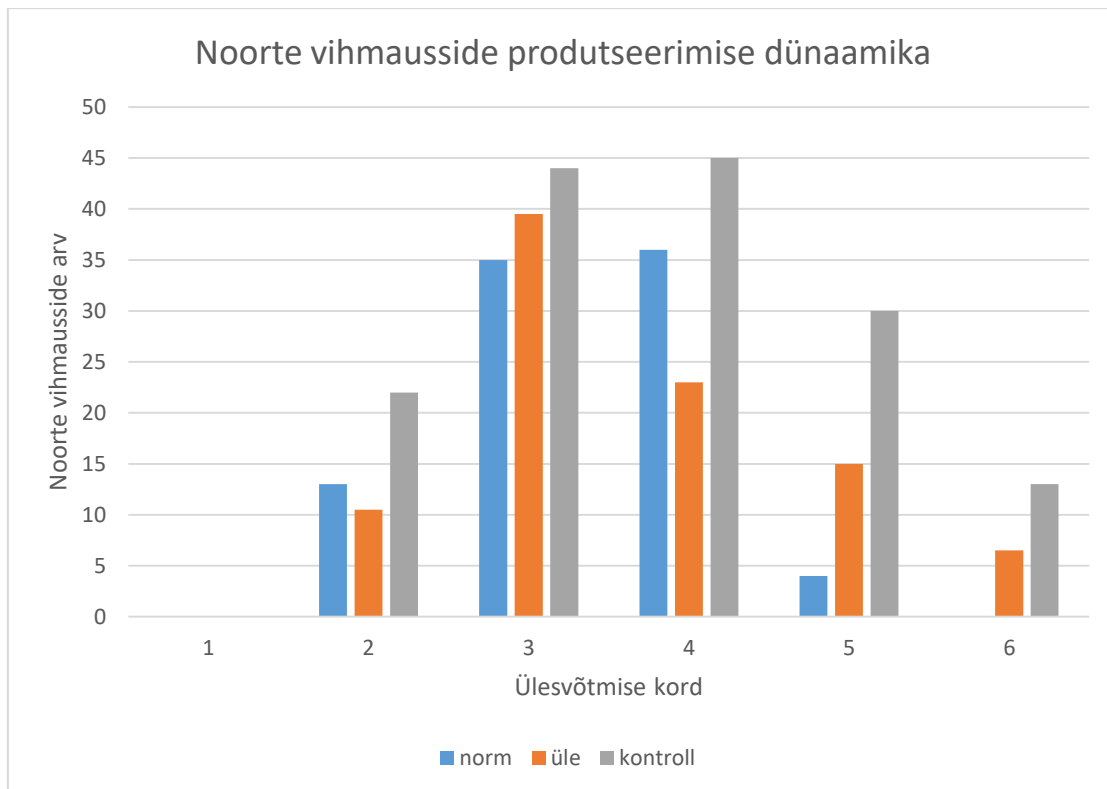
Joonis 3.9 Produtseeritud kookonite arvu dünaamika katse jooksul erineva glüfosaadikoormuse juures

Joonis 3.10 näitab selgelt, et esimeses katses ehk kontrollvariandis oli kookonitest koorunud noorte vihmausside arv keskmiselt kõrgem kui teiste variantide puhul. Glüfosaadiga töödeldud katsete puhul oli noorte vihmausside koorumine madalam kui kontrollkatses. Suure varieeruvuse tõttu ei ole see küll statistiliselt usaldusväärne, kuid siiski märkimisväärne tulemus.



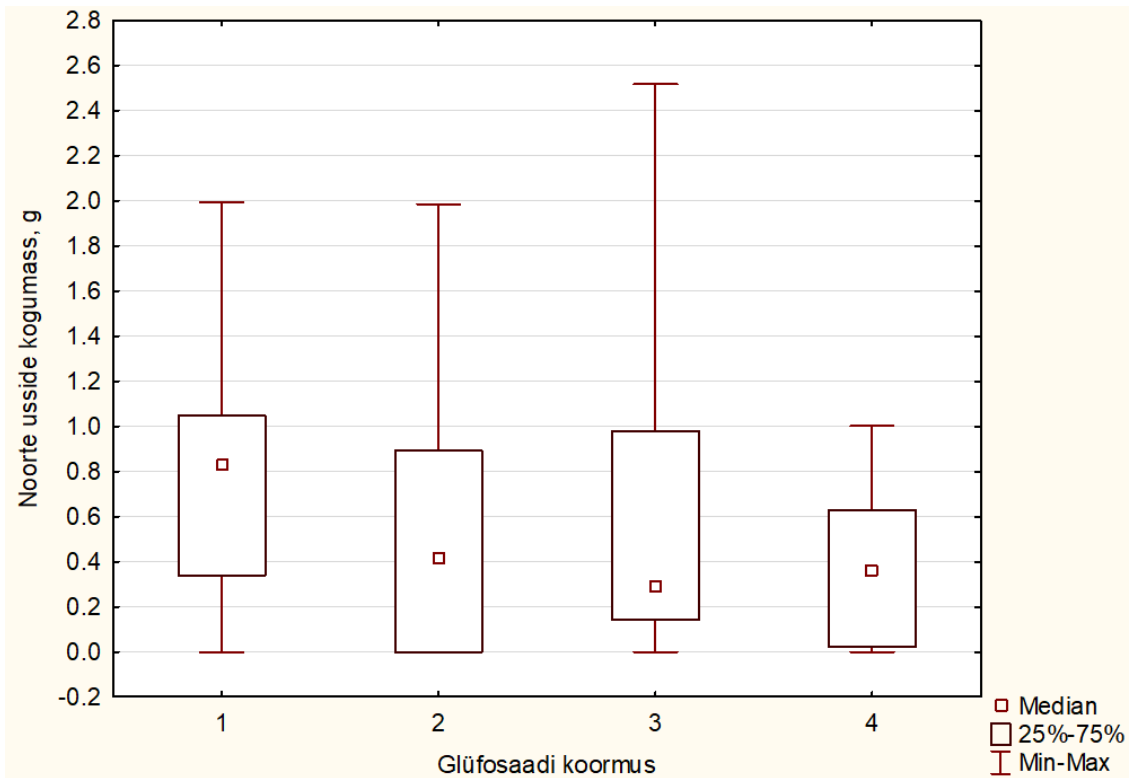
Joonis 3.10 Noorte usside arv erineva glüfosaadi koormuse lõikes

Joonis 3.11 ilmestab, et kontrollvariandi puhul on igal ülevõtmisel korral noorte vihmausside arv kõrgem glüfosaadiga töödeldud katsetest. Esimesel ülevõtmisel kookoneid üheski variandis veel polnud. Kõige rohkem oli noori vihmausse kontrollvariandis kolmandal ja neljandal ülevõtmisel (vastavalt 44 ja 45).

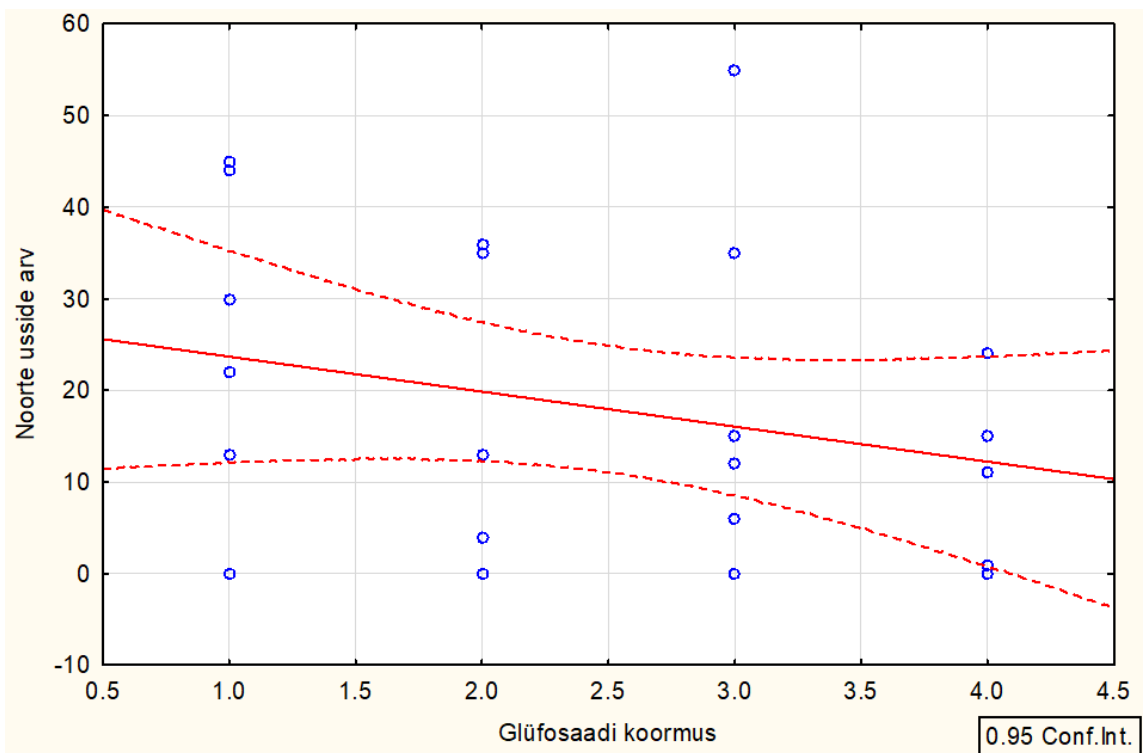


Joonis 3.11 Noorte vihmausside produtseerimise dünaamika ülesvõtmiste jooksul

Joonis 3.12 näitab, et kontrollvariandi noorte vihmausside mass oli kõrgem kui glüfosaadiga töödeldud variantide puhul, erinevus ei ole statistiliselt usaldusväärne. Kolmanda ehk ülenormi katsevariandi puhul on näha üksik kõrge tulemus, kuid kogumass jääb ikkagi madalaks.



Joonis 3.12 Noorte usside massi dünaamika erineva glüfosaadi koormusega katsevariantides



Joonis 3.13 Noorte usside arvui dünaamika erineva glüfosaadi koormusega katsevariantides

Vaadates joonist 3.13, siis leiame, et noorte usside arvu ja glüfosaadi koormuse vahel esines nõrk (statistiliselt mitteoluline) lineaarne negatiivne seos, mille korrelatsioonikordaja on $r=-0,2637$, $p<0,05$. Katkendlikud jooned on varieeruvuse piirid, mille tõenäosus on $p<0,05$ juures.

3.5 Katse käigus mõõdetud parameetrite vahelised seosed

Tabel 3.5 Katseparameetrite vaheliste seoste korrelatsioonikordajad (Spearman'i astakorrelatsioon, statistiliselt usaldusväärsed, $p<0,05$)

Muutuja	Ülesvõtmise aeg	Kehamassi muutus (kõik ussid)	Ühe isendi M ülesvõtmisel, g	Kookonite arv	Noorte usside arv	BA, mg O ₂ /kg KA*h	Noorte usside kogumass, g
Kehamassi muutus (kõik ussid)	-0,8459						
Ühe isendi M ülesvõtmisel, g	-0,9305	0,9504					
Kookonite arv	-0,7609	0,6868	0,7304				
Täiskasvanud usside arv		0,5798					
Kuivaine, %	0,7296	-0,6226	-0,6939	-0,6671			
SIR, mg mikroobne C g/KA	-0,557						
BA, mg O ₂ /kg KA*h					-0,4915		
Noorte usside kogumass, g					0,946	-0,4463	
Ühe noore isendi mass, g					0,6504		0,8139

Katse jooksul mõõdetud tunnuste vaheliste seoste tugevuse ja suuna hindamiseks arutati Spearman'i astakorrelatsioonikordajad (Tabel 3.5). Tabelis on esitatud vaid need tunnused, mille vahelised seosed olid omavahel seoses statistiliselt usaldusväärselt ($p<0,05$). Suurima mõjuga tunnus oli korduse ülesvõtmise aeg, millel oli tugev negatiivne seos usside kehamassi muutusega, ühe isendi massi muutusega ülesvõtmisel, produtseeritud kookonite arvuga ja mikroobse biomassiga, positiivne seos

aga katses kasutatud mulla kuivainesisaldusega. Kõigi usside kehamassi muutus katse algusest oli positiivses seoses ühe isendi kehamassi muutusega ülesvõtmisel, produtseeritud kookonite arvuga ja täiskasvanud elusate usside arvuga ülesvõtmisel. Negatiivne seos esines mulla kuivainesisaldusega. Omavahel olid positiivselt seotud vihmausside järelkasvu parameetrid: noorte usside arv, kogumass ja ühe noore isendi keskmine kehamass.

4 ARUTELU

Erinevad vihmaussiliigid on mõjutatavad pestitsiidide poolt erinevalt (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2013). Vihmausside vanus ning arengustadium mängib rolli nende pestitsiidide tundlikkusele (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2013). Enamus tehtud uuringud on olnud erineva kestvusega ning seetõttu on nende võrdlemine kohati keeruline (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2013).

Käesolevas uurimuses kasutatud pestitsiid glüfosaat kuulub herbitsiidide hulka. Enamik herbitsiide tõenäoliselt vihmausse otseselt ei kahjusta. Kui herbitsiide kasutatakse etteantud normide järgi, on nende toksilisus vihmausside suhtes enamasti vähene. Kuid nad võivad vähendada vihmausside populatsioone ka seetõttu, et nendega töötlemise tulemusena väheneb umbrohtude biomass ja seega mullapinnal asuva orgaanilise aine kättesaadavus (Pffner, 2014).

Põhjamaades on täheldatud glüfosaadi bioakumulatsiooni mullaorganismides ja selle tagajärjena bioloogilise mitmekesisuse muutusi mullakooslustes, eeskätt akumuleerub glüfosaat neis organismides, kes ei ole glüfosaadi toimimise peamiseks eesmärgiks, sealhulgas ka vihmaussides (Helander, Saloniemi, & Saikkonen, 2012).

Käesoleva uurimuse raames muutus vihmausside elukeskkond glüfosaadi mõjul vähe. Mulla kuivainesisaldus tõusis mõnevõrra katse vältel kõigis katsevariantides, sest mullaniiskus katsenõudes ei püsinud 6 kuu vältel päris stabiilsena. Niiskuse muutusest tekkinud võimalik stress vihmaussidel oli kõigis katsevariantides sarnane ja ei mõjutanud enamasti katse tulemusi glüfosaadi suhtes. Mulla mikroobikoosluse biomass ja aktiivsus on vihmaussidele olulised elupaigatingimused, mikroorganismid viivad läbi orgaanilise aine lagunemisprotsesse ja seeläbi parandavad vihmausside toitumistingimusi (Brown, Barois, & Lavelle, 2000). Vihmaussid ja mulla mikroobikooslus on vastastikusel seoses, mõjutades mõlema organismirühma elutingimusi (Bart, et al., 2019). Magistritöö katses olid katse lõpupoole mikroobikoosluse näitajad mõnevõrra kõrgemad kontrollvariandis ja glüfosaadi normikohase kasutamise puhul, võrreldes selle ülenormatiivse kasutamise variantidega. Erinevused ei olnud siiski statistiliselt usaldusväärsed. Võib järeldada, et glüfosaadi liigne lisamine mõnevõrra halvendas elupaigatingimusi vihmausside jaoks.

Katse alguses lisati igasse katseanumasse 10 vihmaussi. Katse lõpuks olid kontrollvariandis kõik ussid säilinud. Üle normi kasutatud glüfosaadiga variantides oli

vihmausse katse lõpus 7-8, kusjuures arv vähenes juba poole katseperioodi keskel. Ka kirjanduses (Santadino, Coviella, & Momo, 2014) leidub andmeid vihmaussipopulatsiooni arvukuse vähenemise kohta glüfosaadi regulaarsel kasutamisel. Katsevariandis, kus glüfosaati kasutati normikohaselt, säilisid 10 vihmaussi elusalt praktiliselt kogu katse vältel, kuid miskipärast oli viimasel ülesvõtmisel katses vaid 3 vihmaussi. Üks võimalus siin on vihmausside põgenemine katseanumast mingi teguri mõjul. Sellist olukorda on kirjeldanud ka mõned teised autorid (Piola, et al., 2013) (Pochron, et al., 2019).

Kuna vihmausside arv mõnevõrra muutus, arvatati massimuutuse uurimisel välja iga katsevariandi puhul ühe isendi kehamassi muutus. Väike kehamassi vähenemine glüfosaadi ülenormatiivse kasutamise puhul võrreldes kontroll- ja normikohase variandiga esines, kuid statistiliselt ei olnud erinevus oluline. Seega, vihmausside kehamassi vähenemine katse käigus võis olla tingitud pigem katsetingimuste poolt põhjustatud stressist. Katse pikk kestvus ning katseanumate muldkeskkond ei sobinud vihmaussidele. Tulemustest võib siiski järeldada, et glüfosaadiga töödeldud katsevariandid olid kaalum muutusele tundlikumad kui kontrollvariant, milles vihmaussi kehamassi vähenemine jäi nendega võrreldes õige veidi väiksemaks. Samas on kirjanduses andmeid, et glüfosaadi kasutamine ka normkontsentratsiooni juures tekitab vihmaussides liigist *Dendrobaena veneta* oksüdatiivset stressi ning muutusi metabolismis, mõjutades ka mitmeid mullaparametreid (Hackenberger, Stjepanovic, Loncaric, & Hackenberger, 2018). Mõningast negatiivset glüfosaadi mõju on varem täheldatud ka sõnniku-ussi (*Eisenia fetida*) liigi isendite juures, ehkki ka siin statistiliselt erinevused puudusid (Santos, Morgado, Ferreira, Soares, & Loureiro, 2011).

Glüfosaat ilmselt mõjutab mullas nii täiskasvanud vihmausse kui ka nende reproduktsioonivõimet ja järelkasvu. Katse alguses produtseeriti kookoneid rohkem kui järgnevalt katse jooksul, kusjuures kõige arvukamalt leidis neid esimesel ülesvõtmisel just kontrollvariandi mullas. Kookonite arv oli oluliselt väiksem nii glüfosaadiga katsevariantides kui ka hiljem kõigis katsevariantides. Kirjanduses on toodud välja, et glüfosaati sisaldava Roundup'i toimel võib kookonite produtseerimine isegi tõusta või jääda samaks kuid pikaajalise kasutamise juures langeb, vihmaussid võivad tulla toime mingi koguse glüfosaadiga ökosüsteemis, kuid pikaajaline kokkupuude võib nende ainevahetust mõjutada ning see omakorda vähendada võimalust stabiilisele järelkasvule (Pochron, et al., 2019).

Tulemusi mõjutas ülesvõtmise aeg ja mullaniiskuse vähenemine. Kookonite arv, mis produtseeriti, oli seotud täiskasvanud vihmausside kehmassiga. See näitab ka

vihmausside elujõulisust. Noored vihmaussid ehk järelkasv ja nende mass on seotud mulla mikroobikoosluse BA-ga, millest võib järeldada, et see on seoses noorte vihmausside toitumistingimustega.

Uuringus, kus kasutati põhilist glüfosaadi metaboliiti (AMPA), näitas järgnev vihmausside generatsioon langust nii arvukuses kui kasvu parameetrites (Alcantara, et al., 2016). Mitmed teisedki autorid on jõudnud järeldusele, et juveniilid on tundlikumad pestitsiididele kui täiskasvanud isendid (Pelosi, Barot, Capowiez, Hedde, & Vandenbulcke, 2013) (Stellin, et al., 2017). On välja toodud, et isegi kui kookonite tootmine ei olnud mõjutatud glüfosaadiga kokkupuute tulemusena, siis kookonitest kooruv vihmausside järelkasv oli glüfosaadi mõjul madalam (Santadino, Coviella, & Momo, 2014). Samas, on ka uuringuid kus lühiajaliste katsete tulemusena ei ole glüfosaat kuidagi mõjutanud vihmaussi reproduktsiooni edukust (Niemeyer, Benedet de Santo, Guerra, Filho, & Pech, 2018). Käesoleva töö tulemustest võib järeldada, et glüfosaadi kasutamine mõjutab noorte vihmausside koorumist kookonitest. Kontrollvariandi noorte vihmausside arv ja biomass olid kõrgemad, kui glüfosaadiga töödeldud variantides.

Seega võib käesoleva töö tulemuste põhjal järeldada, et glüfosaati sisaldavate herbitsiidide kasutamine mõjutab vähem mulla mikroobikoosluse parameetreid ning täiskasvanud vihmausse, kuid avaldab suuremat mõju vihmausside järelkasvule – noori vihmausse koorub kookonitest vähem ja nende biomass on väiksem. Katses kasutatud liigi *Dendrobaena veneta* elutsükli kestus (ajavahemik noore vihmaussi väljumisest kookonist kui tema poolt produtseeritud kookonite koorumiseni) on olenevalt mullatingimustest 100 – 150 päeva (Dominguez, 2004). Seega, iga 100-150 päeva järel vahetub mullas vihmausside põlvkond uue, väiksemaarvulisema ja väiksema biomassiga põlvkonna vastu. Samas on teada, et rikas vihmaussielustik on võtmeks, et säilitada ja kaitsta mulla tervist ning edendada mitmeid olulisi mulla pakutavaid ökosüsteemi funktsioone (Pfiffner, 2014).

Töö tulemuste põhjal saab välja tuua põhilised järeldused:

1. Glüfosaadi kasutamine mõjutab mullas olevaid vihmaussikooslusi
2. Täiskasvanud vihmausside arvukus katses oli mõjutatud glüfosaadi ülenormatiivse kasutamise poolt, usside keha mass muutus katse jooksul väiksemaks kõigis variantides ja olenes pigem katsetingimustest ja mitte niivõrd glüfosaadi lisamisest.
3. Kookonite produtseerimine oli suurem katse alguses, katse jooksul kookonite tootmine oluliselt vähenes.

4. Noorte vihmausside edukas koorumine kookonitest ja nende biomass sõltus katsevariandile lisatud glüfosaadist.

Töös püstitatud hüpotees leidis kinnitust osaliselt. Glüfosaadi kasutamine mõjutab täiskasvanud vihmausse vähe, kui seda tehakse normikohaselt nii koguselises kui tehnoloogilises mõttes – ei ületata normkoguseid, pritsitakse umbrohutaimedele. Ülenormatiivsete koguste kasutamine mõjutab täiskasvanud vihmausside reproduktsiooni, vähem kookonite produtseerimist, kuid rohkem noorte vihmausside arvukust ja biomassi.

KOKKUVÕTE

Taimakasvatuse tähtsaim osa on muld. Mulla viljakusest sõltub kasvatavate kultuuride saagikus ning kvaliteet. Mulla viljakuse kujundavad tema koostis ja mullas toimuvad protsessid. Väga tähtis on uurida herbitsiidide, eelkõige glüfosaadi mõju muldkeskkonnale tema järjest suureneva kasutuse tõttu. Muldkeskkonna aktiivseim komponent on elustik, kus tähtsal kohal on vihmaussid kui suurima biomassiga selgrootud ning mikroobikooslus kui muldkeskkonna olulisim lagundaja.

Käesolevas magistritöö eesmärgiks oli uurida kuidas mõjutab glüfosaadi kasutamine vihmausse ja nende reproduktsioonivõimet ning mulla mikroobikoosluse parameetreid. Püstitati hüpotees: glüfosaadi mõju vihmaussidele ja nende järelkasvule on negatiivne, seejuures selle normikohane kasutamine mõjutab ussikooslust vähem kui ülenormatiivne kasutamine.

Teema uurimiseks viis autor läbi Tartu kolledži laboris katse, mis kestis kokku kuus kuud (06.07.2020-01.07.2021). Kord kuus võeti igast katsevariandist üks kordus üles, et uurida glüfosaadi mõju vihmaussikoosluse arvukusele ja reproduktsioonile. Samal ajal analüüsiti mulla kuivaine sisaldust, mikroobset biomassi ning mikroobikoosluse basaalsel aktiivsust. Vihmausse loendati ja kaaluti nii, et ükski isend ei saanud vigastusi. Katses osalenud vihmaussid jätkasid elamist peale katses osalemist selleks ettenähtud kohas. Kõik analüüsid ja proovid teostati Tallina Tehnikaülikooli Tartu Kolledži laborites.

Uurimuse tulemusena selgus, et glüfosaat ilmselt mõjutab täiskasvanud vihmausse kui ka nende reproduktsioonivõimet ning järelkasvu. Glüfosaat mõjutas vihmausside elukeskkonda piisavalt vähe, et see oleks võinud katse tulemust mõjutada. Võime öelda, et glüfosaati sisaldavate herbitsiidide kasutamine mõjutab vähem mulla mikroobikoosluse parameetreid ning täiskasvanud vihmausse, kuid avaldab suuremat mõju vihmausside järelkasvule. Seda ilmestas hästi noorte vihmausside kokkupuude glüfosaadiga, mille tagajärel nende biomass ning arvukus vähenes.

Magistritöö hüpotees leidis kinnitust osaliselt. Tegu on komplekse teemaga mille ei ole ühest vastust. Kuna selliseid uuringuid pole Eestis varasemalt tehtud, siis peab glüfosaadi toimet muldkeskkonnale edasi uurima. Tulemusi ootavad pikisilmi eelkõige põllumehed, kes herbitsiide ja glüfosaati ka kõige rohkem kasutavad.

SUMMARY

Soil is the most important part of crop production. The yield and quality of the crops grown depend on the fertility of the soil. Soil fertility is shaped by its composition and the processes that take place in the soil. It is crucial to study the effects of herbicides especially glyphosate on the soil environment due to its increasing use. The most active component of the soil environment is biota where earthworms play an important role as invertebrates with the largest biomass. Microbial community in soil is important as the most important decomposers in the soil environment.

The aim of this master's thesis was to study how the use of glyphosate affects earthworms and their reproductive capacity as well as soil microbial community parameters. A hypothesis was compiled that glyphosate has a negative effect on earthworms and their offspring, with its normal use having less of an effect on the worm community than over-normal use.

To study the topic, the author conducted an experiment in the laboratory of Tartu College which lasted a total of six months (06.07.2020-01.07.2021). Once a month one replicate was taken from each experimental variant to investigate the effect of glyphosate on earthworm abundance and reproduction. We can say that the use of glyphosate-containing herbicides has less effect on soil microbial community parameters and adult earthworms but has a greater effect on earthworm offsprings. This was well illustrated by the exposure of young earthworms to glyphosate which resulted in a decrease in their biomass and numbers.

The work is divided into four chapters. The first chapter provides an overview of the use of herbicides, herbicide-related problems, glyphosate, research, topicality, soil environment and the earthworm species used in the experiments. The second chapter describes the material and methodology, which materials were used for the experiments and how the analyzes were performed. In the third chapter, the author describes the obtained results. In the fourth chapter, the author discusses the obtained results based on literature sources.

The master's thesis hypothesis was partially confirmed. This is a complex topic for which there is no single answer to give. As no such studies have been performed in Estonia before the effects of glyphosate on the soil environment must be further investigated. The results are eagerly awaited by farmers, who also use herbicides and glyphosate the most.

KASUTATUD KIRJANDUSE LOETELU

- Alcantara, R., Fernandez-Moreno, P., Ozuna, C., Rojano-Delgado, A., Cruz-Hipolito, H., Dominguez-Valenzuela, J., . . . Prado, R. (2016). Target and Non-target Site Mechanisms Developed by Glyphosate-Resistant Hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.) Populations from Mexico. *Front Plant Sci*.
- Astover, A., Kõlli, R., Leedu, E., Reintam, E., & Roostalu, H. (2012). *Mullateadus. Õpik kõrgkoolidele*. Tartu: Eesti Maaülikool.
- Bart, S., Pelosi, C., Barraud, A., Pery, A., Cheviron, N., Grondin, V., . . . Crouzet, O. (2019). Earthworms Mitigate Pesticide Effects on Soil Microbial Activities. *Frontiers*.
- Brown, G., Barois, I., & Lavelle, P. (2000). Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology*, 177-198.
- Bufin, D., & Jewell, T. (2001). *Health and environmental impacts of glyphosate*. Pesticide Action Network UK.
- Collins, W. W., & Qualset, C. O. (1999). *Biodiversity in Agroecosystems*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Dominguez, J. (2004). State of the art and new perspective on vermicomposting research. In C. A. Edwards, *Earthworm Ecology* (pp. 401-424). Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.: CRC Press.
- Edwards, C. A., & Bohlen, P. J. (1996). *Biology and Ecology of Earthworms*. London: Chapman & Hall.
- Euractiv. (20. May 2020. a.). *Euractiv*. Allikas: Euractiv.com: <https://www.euractiv.com/section/agriculture-food/news/farm-to-fork-strategy-aims-to-slash-pesticide-use-and-risk-by-half/>
- F. Schinner, R. E., Franz, S., Öhlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). Methods in soil biology. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*.
- Gaupp-Berghausen, M., Hofer, M., Rewald, B., & Zaller, J. (2015). Glyphosate-based herbicides reduce the activity and reproduction of earthworms and lead to increased soil nutrient concentrations. *Scientific Reports*.
- Hackenberger, D., Stjepanovic, N., Loncaric, Ž., & Hackenberger, B. (2018). Acute and subchronic effects of three herbicides on biomarkers and. *Chemosphere*, 722-730.
- Helander, M., Saloniemi, I., & Saikkonen, K. (2012). Glyphosate in northern ecosystems. *Elsevier*, 1-6.
- Helm, A., Takkis, K., Riibak, K., Prangel, E., Devalez, J., Keerberg, L., . . . Aavik, T. (2020). Looduselurikkuse säilitamine põllumajandusmaal. 17-19.
- Hiie, E. (2016). *Maaviljelusviisi mõju põllumuldade mullaelustikule mikroobikoosluse, hooghännaliste ja vihmausside näitel*. Tartu: TTÜ.
- Hillep, E. (12. oktoober 2015. a.). *Pollumajandus*. Allikas: Pollumajandus: <http://www.pollumajandus.ee/uudised/2015/10/12/lugeja-kusib-glufosaadipaania>
- Ivask, M. (2017). *Mulla bioloogiline mitmekesisus*.
- Ivask, M. (2. Jaanuar 2019. a.). *Loodusfoto*. Allikas: E-koolikott: <https://e-koolikott.ee/oppematerjal/25837-Mulla-ABC-4-osa-Mullaelustik>
- Ivask, M., Kiiker, R., Loit, K., Põldmets, M., Raamets, J., & Shanskiy, M. (2020). Vihmaussikoosluste struktuur ja mulla mikroobikoosluse aktiivsus suvinisu mahe- ja tavatootmispõldudel. *Agronoomia 2020*, 18-25.
- Kasak, K. (2016). *Veekaitsemeetmed põllumajanduses - käsiraamat tootjale*. Tartu: SA Eestimaa Looduse Fond.
- Maasik, L. (2013). *IVRKK*. Allikas: http://www.lvrkk.ee/kristiina/Liina_Maasik/taimekaitse/herbitsiidid.html
- Maheklubi. (2013). *Glüfosaatide keskkonnamõju - kas on põhjust muretsemiseks?* Friends of Earth Europe.

- Mars, M. (2009). *Vihmaussi Dendrobaena veneta võimalik naturaliseerumine ja levik Eestis*. Tartu: TTÜ Tartu Kolledž.
- Metspalu, L. (14. juuni 2010. a.). *Maakodu*. Allikas: Maakodu: <http://maakodu.delfi.ee/news/maakodu/aed/roundup-ja-tema-ohklikud-lahisugulased?id=32124909>
- Niemeyer, J. C., Benedet de Santo, F., Guerra, N., Filho, A. M., & Pech, T. M. (2018). Do recommended doses of glyphosate-based herbicides affect soil invertebrates? Field and laboratory screening tests to risk assessment. *Elsevier*, 1-7.
- O'Malley, L. (2006). Evaluation and modification of the oecd 301f respirometrybiodegradation test method with regard to test substance concentration and inoculum. *Water, Air, and Soil Pollution - 177*, 251–265. Allikas: <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9163-5>
- Peda, J. (2009). *Tselluloosi lagunemine eritüübilistel niitudel*. Tartu: TTÜ Tartu Kolledž.
- Pelosi, C., Barot, S., Capowiez, Y., Hedde, M., & Vandenbulcke, F. (16. May 2013. a.). *Pesticides and earthworms. A review*. Allikas: Springerlink.com: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13593-013-0151-z>
- Pfiffner, L. (2014). Earthworms: architects of fertile soils. *Technical guide*.
- Piola, L., Fuchs, J., Oneto, M. L., Basack, S., Kesten, E., & Casabe, N. (2013). Comparative toxicity of two glyphosate-based formulations to *Eisenia andrei* under laboratory conditions. *Chemosphere*, 545-551.
- Platen, H., & Wirtz, A. (1999). *Application of analysis no 1: Measurement of the respiration activity of soils using the OxiTop® Control measuring system. Basic principles and process characteristic quantities*. Berlin: Wissenschaftlich-Technische Werkstätten GmbH & Co.
- Pochron, S., Choudhury, M., Gomez, R., Sajjad, H., Illuzzi, K., Mann, M., . . . Tucker, C. (2019). Temperature and body mass drive earthworm (*Eisenia fetida*) sensitivity to a popular glyphosate-based herbicide. *Elsevier*, 1-8.
- Pochron, S., Simon, L., Mirza, A., Littelton, A., Sahebzada, F., & Yudell, M. (2019). Glyphosate but not Roundup® harms earthworms (*Eisenia fetida*). *Chemosphere*.
- Raudla, H. (3. aprill 2015. a.). *maaleht*. Allikas: maaleht: <http://maaleht.delfi.ee/news/maamajandus/uudised/ohklik-taimekaitse-kas-roundup-narvutab-ka-inimese?id=71166227>
- Reuschenbach, P., Pagga, U., & Strotmann, U. (2003). A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. *Water research*, 1571-1582.
- Reuters. (15. Mach 2017. a.). *Independent UK*. Allikas: Independent UK website: <https://www.independent.co.uk/climate-change/news/roundup-weedkiller-glyphosate-not-cancer-causing-european-expert-committee-echa-a7631796.html>
- Ruinemans. (2021). *Ruinemans Aquarium B.V.* Allikas: Ruinemans Aquarium B.V. website: <https://www.ruinemans.com/en/product/67390-dendrobaena-veneta-15-pcs>
- Santadino, M., Coviella, C., & Momo, F. (2014). Glyphosate Sublethal Effects on the Population Dynamics of the Earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826). *Water Air Soil Pollut*, 1-8.
- Santos, M., Morgado, R., Ferreira, N. G., Soares, A., & Loureiro, S. (2011). Evaluation of the joint effect of glyphosate and dimethoate using a small-scale terrestrial ecosystem. *Exotoxicology and environmental safety*, 1994-2001.
- Soil association. (2016). *The impact of glyphosate on soil health*.
- Stellin, F., Gavinelli, F., Stevanato, P., Concheri, G., Squartini, A., & Paoletti, M. G. (2017). Effects of different concentrations of glyphosate (Roundup 360®) on earthworms (*Octodrilus complanatus*, *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa*) in vineyards in the North-East of Italy. *Elsevier*, 1-7.

- Summerscales, J. (12. Märts 2018. a.). *ECM-Academics*. Allikas: ECM-Academics veebisait: <https://ecm-academics.plymouth.ac.uk/jsummerscales/mats347/glyphosate.htm>
- Zhou C.F., W. Y. (2012). Does glyphosate impact on Cu uptake by, and toxicity to,. *Ecotoxicology*, 2297-2305.
- Truu, M., Truu, J., & Ivask, M. (2007). *Soil microbiological and biochemical properties for assessing the effect of agricultural management practices in Estonian cultivated soils*.

LISAD

Lisa 1 katsete märkmed

16.06 osteti potid

19.06 – Glüfosaadiga töödeldi taimed ning jäeti ootama selle mõjumist. Nummerdati potid ning arutati loogika ning metoodika läbi .

29.06 – Glüfosaadiga töödeldud salatitaimed võetakse koos juurtega potist välja. Sama tehakse ka puutumata salatitaimedega ning jäetakse üheskoos kuivama.

6.07.2020 – usside ostmine ja lisamine katsesse. Igasse katsesse pandi 10 täiskasvanud vihmaussi (dendrobaena veneta). Ussid loputati vees ja kaaluti iga katsevariandi usside algne mass.

07.08.2020 – esimeste katsevariantide ülevõtmine. Loeti usside arv katses, kaaluti mass ning loeti kokku kookonid. See kõik pandi kirja Exceli tabelisse. Iga kuu võetakse 1 katsevariant ülesse (6kuud). Lisaks pandi ussidele juurde salatit. Iga 5 allesjäänud katsevariandi (6 erinevat variatsiooni ehk 30 katsevarianti) vahel jaotati ära 3 salati taime. Salatitaimed töödeldi glüfosaadiga samamoodi nagu seda tehti esimesel lisamisel. Kõigepealt piserdatakse taimed üle glüfosaadi lahusega (nagu tehti alguses), siis jäetakse need närbuma (kontrollkatses piserdamist ei toimu) ja hiljem lisatakse söögina ussidele juurde.

07.09.2020-08.09.2020

Võeti ülesse teine katsevariandid. Toimiti samamoodi nagu esimesel ülevõtmisel. Lisaks pandi närbuma 4 poest ostetud salatitaimed. 3 taime puhul võeti potist salat välja ning jäeti kandikule kuivama. Ühe taime puhul pritsiti glüfosaadi lahusega (15ml/0,5l). 17.08 – Katsete kastmine (lisati ca 40ml vett igasse katsesse) ning salatitaimede näol toidu lisamine ussidele. II katsevariandi puhul lisati 10 päeva glüfosaadi käes (15ml/0,5l) närbunud taimed (1 taime jaotati viie allesjäänud katsevariandi vahel). Ülejäänud variantide puhul (sh. ka kontrollkatse) lisati 10 päeva lihtsalt närbunud taimed. Kuna praeguseks on katsevariante järgi 5, siis jaotati 1 (poest ostetud) salatitaimed viieks. Kokku 4 salatitaimed.

:

15.09.2020 – Kõigile järelejäänud 16-le katsele lisati juba varem kuivama jäetud närbunud taimed. Nagu ikka, siis II katsevariandile lisati glüfosaadiga töödeldud

närbunud taimed ning ülejäänutele ilma glüfosaadita närbunud taimed. Glüfosaadiga pritsitud taimed närbusid olles juurtega potis. Ilma glüfosaadita taimed tõsteti eelmisel nädalal potist välja kandikule kuivama. Lisaks kasteti kõiki katseid veega (ca 45ml iga katse kohta).

9.10.2020 – Võeti ülesse X3 katsevariant ning kaaluti ussid (sh. ka noored ussid). Loeti kokku kookonid ja jäeti mulla katsed külmkappi. I katsevariandi puhul oli 2 täiskasvanud vihmaussi surnud. II ja IV katsevariandi puhul oli tähendada suurt noorte usside arvu ning lisaks IV katsevariandi puhul ka suurt kookonite arvu võrreldes teiste katsevariantidega. Katsed üleüldse olid kookonivaesed seekord.

Lisaks pandi kuivama taimed. II katsevariandi puhul piserdati taimed glüfosaadiga üle ning jäeti kuivama (ei võetud juurtega potist välja). Ülejäänud katsevariantide taimed võeti juurtega potist välja ning jäeti kuivama. 20.10.2020. jagati järelejäänud katsevariantide puhul need ära.

06.11.2020 – Võeti ülesse IV-s katsevariant. Loeti kokku juveniilid, kookonid ja väiksed ussid ning suured ussid, mis siis vastavalt kaaluti. III katses, kus glüfosaadi kasutus oli kõige suurem, oli esialgsest 10st ussist alles ainult 2 ning seetõttu ka väikeste usside osakaal oli madal (10). Kõige stabiilsem on olnud kontroll katse, kus parameetrid on kõige positiivsemad (praegusel hetkel ei te autor mulla mikroobikoosluse ning orgaanilise hapnikutarbe tulemusi). Lisaks IV-katsevariandi ülesvõtmisele pandi ka 3 salatitaimet kuivama, millest ühe puhul kasutati glüfosaadi lahust (15ml/0,5l kohta, võeti koos juurtega potist välja ning piserdati 20 korda, üks piserdus ca 1ml).

13.11.2020 – pandi närbuma jäetud salatitaimed katsetesse ussidele söögiks.

03.12.2020 – Viienda katsevariandi ülesvõtmine - Loeti kokku juveniilid, kookonid, väiksed ning suured ussid.

07.01.2021 – võeti ülesse VI ehk viimane katsevariant. Loeti kokku juveniilid, kookonid, väiksed ning suured ussid. Esimese katsevariandi puhul oli tähendada vähe elusaid usse ning selletõttu oli ka salatitaimed suure osas söömata. I Katsevariandis oli ainult 3 täiskasvanud ussi elus (kelle elutegevus oli aeglustunud). Kontroll katse ja II katsevariant on olnud kõige stabiilsemad.

Lisa 2 Roundup´i kasutusjuhend

ROUNDUP GARDEN. Taimekaitsevahend. Herbitsiid. Toimeaine: glüfosaat 120 g/l

Preparaadi vorm: vesilahus. Pakend: 280ml. Kontsentraat. Partii nr ja valm. Kp.: vt. pakendilt.

Kasutusala: üldhävitava toimega herbitsiid lühi- ja pikaealiste umbrohtude tõrjeks väikeaegades puude ja põõsaste võraalustel pindadel, umbrohtunud peenramaal pärast saagikoristust, mitteharitavaal maal ning pinnatud ja sillutatud teedel. Vältimaks ohtu inimesele ja keskkonnale tuleb järgida kasutusjuhendi nõudeid ! Hoida lastele kättesaamatus kohas! Hoida eemal toiduainest, joogist ja loomasöödast! Käitlemise ajal söömine, joomine ja suitsetamine keelatud! Mitte valada kanalisatsiooni! Hoida ainult originaalpakendis! Ettevaatusabinõud: Pritsimise ajal kanda kummikindaid. Vältida kontakti naha ja silmadega. Pärast töö lõpetamist pesta käed ja nägu. Keskkonnaohtlikkus: Vältida preparaadi jääkide ning taara- ja pritsi pesuvee sattumist veekogudesse ja kanalisatsiooni. Hoiustamine: Hoida ainult originaalpakendis, etiketiga varustatuna, suletuna, ohutus, jahedas ja kuivas kohas. Vältida preparaadi külmumist. Õigel hoiustamisel on toote säilivusaeg 5 aastat alates valmistamise kuupäevast. Pakendi purunemisel välja voolanud preparaat katta liivaga või saepuruga kuni preparaat on läbi imunud. Seejärel koguda segu spetsiaalse markeeringuga anumasse ja anda üle ohtlike jäätmete käitlejale. Taara kahjutustamine: Taara korduvkasutamine on keelatud. Kohe pärast tühjendamist loputada taara vähemalt kolm korda puhta veega ja loputusvesi pritsida töödeldud alale. Loputatud taara muuta kasutuskõlbmatuks ja viia ohtlike jäätmete kogumiskohta. Esmaabi: Sissehingamise korral toimetada kannatanu värske õhu kätte. Nahale ja silma sattudes loputada kohe rohke veega. Ärritusnähtude või allaneelamise korral pöörduda arsti poole.

Roundup Garden toimeviis: preparaat imendub taime läbi roheliste lehtede ja varte ning kandub taime kõikidesse osadesse, kaasaarvatud juured hävitades kogu taime. Hävitatav taim peab olema heas kasvujõus (10-30cm pikkune, orasheinal vähemalt 3-4 lehte). Mitmeaastastele umbrohtudele on mõju tugevam enne õitsemist. Kuna preparaat toimib taimede roheliste lehtede ja varte kaudu, tuleb vältida preparaadi sattumist taimedele, mida ei soovita hävitada. Mulla kaudu ei oma toimet. Põud ja liigniiskus pritsimise ajal ning vihmasadu enne 4-6 tunni möödumist vähendavad preparaadi mõju. 10 päeva pärast pritsimist võib hakata maad harima ning sinna külvata ja istutada. Hävinenud taimed võib mulda kaevata või komposteerida.

Roundup Garden kasutusjuhend: Enne herbitsiidi kasutamist: Loe tähelepanelikult kasutamiseõpetust. Ära kiirusta ja ole hoolikas Roundup Garden kasutamisel. Ära kasuta Roundup Garden´it tuulise ilmaga ja kui on oodata vihma.

Kasutamine: sobib kasutamiseks väikeaedades dekoratiivpuude ja -põõsaste, viljapuude ja marjapõõsaste võraalustel pindadel enne puude, põõsaste, püsililled ja muru istutamist/külvamist või peenramaal pärast saagikoristust; mitteharitavaal maal; umbrohukollete hävitamiseks ehitiste ja rajatiste juures (vundamendid, äärekivid, aiaservad jne.), pinnatud ja sillutatud teedelt, platsidelt. Vältida preparaadi sattumist veel puitumata puude ja põõsaste tüvedele ning okstele ja kandumist määrduvad jalanõude ning riietega murule ja teistele taimedele.

Kulunorm: lühiealised umbrohud 10 L/ha (20ml/20m²); pikaealised umbrohud 20 L/ha (40ml/20m²); Lubatud pritsimiskordi: 1.

Pritsimislahuse valmistamine: pritsimiseks kasutatakse maksimaalselt 4%-st töölahust. 20-40ml Roundup Garden + 1 L vett (saadakse lahus 20m² pritsimiseks). 280 ml + 7-14 L vett (saadakse lahus 140-280m² pritsimiseks). Preparaati ei tohi segada ega hoida galvaniseeritud metallist anumades, sest kokkupuutel metalliga võib tekkida kergesti süttiv gaas.

Tähelepanu ! Firma tagab kinnises tehasepakendis oleva preparaadi kvaliteedi ning toimeainete õige sisalduse. Kasutamisejuhend ning soovitusel on välja töötatud ametlike katsetuste põhjal, samuti praktiliste kogemuste najal. Firma ei vastuta erinevate tõrjetulemuste ja tekkinud kahjustuste eest, mille on põhjustanud muudatused kasutusmeetodites, taimede resistentsuse kasv jms., mida preparaadi registreerimisel ja kaubastamisel polnud võimalik ette näha.

Tootja: Monsanto Europe S.A., 1150 Brussels, Belgium Registreerimise haldaja: Monsanto Crop Sciences Denmark A/S P.O. Box 659 DK-2200 Copenhagen, Denmark Maaletooja ja turustaja: Innotrade Group OÜ Kanali tee 12, 10112 Tallinn www.substral.ee