Eksperthinnang: mahetatras fosetüül-alumiiniumi ja fosfoonhappe esinemise põhjused

Aruanne

Eesti Maaülikool
2023

Uuring viidi läbi Regionaal- ja Põllumajandusministeeriumi tellimusel. Kirjanduse põhjal koostatud aruanne valmis perioodil 1.09.2023 – 14.12.2023.

Aruande autor: Astrid Kännaste

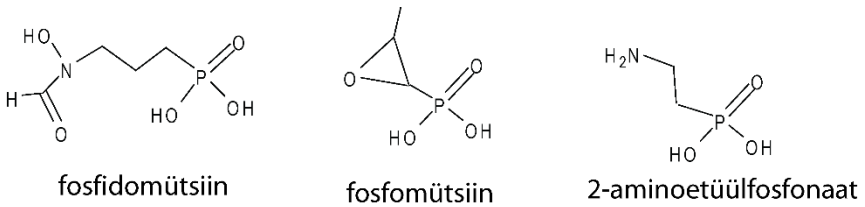
Eesti Maaülikool
Põllumajandus- ja keskkonnainstituut

Sisukord

1.Sissejuhatus 4
2. Kliimamuutuse mõju fosfori kättesaadavusele 6
3. Mullas peituvad fosforiallikad ja nende kättesaadavus taimedele 7
4. Fosfoonhappe looduslikud foonialad 8
5. Looduses eksisteerivad fosforanioonid 9
6. Fosforühendite metabolism taimedes 10
6.1. Fosfori roll taimedes 10
6.2. Fosfoonhappe ja fosforhappe omastamine ja sisaldus taimedes 10
6.2.1. Fosforühendite akumuleerumine seemnetes 11
6.3. Fosforhappe sisaldus tatras seoses taimede alumiiniumi resistentsusega 14
6.4. Fosetüüli ja fosfoonhappe sisaldus taimes tulenevalt taime pritsimisest ja mulla töötlemisest fosforipõhiste pestitsiididega 16
6.4.1. Fosetüül-Al lagunemine taimes 16
6.4.2. Fosetüüli ja fosfoonhappe akumuleerumine järelkultuurides 17
6.4.3. Taimede fosfoonhappe omastamine mullast 19
6.4.4. Taime fosfoonhappe omastamine juurte ja lehtede kaudu 20
7. Fosetüül-Al, fosetüüli ja fosfoonhappe püsivus keskkonnas 23
7.1. Fosetüül-Al püsivus vesikeskkonnas 24
7.2. Fosfoonhappe oksüdeerumine nii laboratoorsetes kui looduslikes tingimustes 25
7.3. Fosetüül-Al degradeerumine aeroobses keskkonnas 28
7.4. Fosfoonhappe oksüdeerumine aeroobses pinnases 29
7.5. Fosfoonhappe adsorptsioon mullas 32
7.5.1. Pestitsiidide adsorptsioonimudelid 33
7.5.2. Kaasuvate ioonide ja pH mõju fosforühendite sorptsioonile 35
7.5.3. Fosforühendite sorptsioon mullas aastatepikkuse väetamise tulemusena 36
7.6. Fosfaat- ja fosfonaatanioonide konkurents adsorbendile/sorbendile 37
8. Mahetoodangus fosfoonhappe akumuleerumist soodustavad anorgaanilised ja orgaanilised väetised ja mullaparandajad 39
9. Fosetüül-Al ja fosfoonhappe analüüsimetoodikate kitsaskohad 40
10. Fosfororgaaniliste pestitsiidide kasutamine ja nende mõju organismidele 42
11. Kokkuvõte ja soovitused edaspidiseks tatra kasvatamiseks 43
Kasutatud kirjandus 46

1.Sissejuhatus

Viimastel aastatel on tõusnud tarbija nõudlus mahetoodete järgi, millega on kaasnenud seda liiki toodangu suurenemine. Tänu järjest täpsemate analüüsimetoodikate ja uute laboriseadmete kasutusele on ilmnenud mahetootmisel lubatust suurem keelatud fosetüüli sisaldus tatra seemnetes. Tegemist on mütseelilaadsete organismide (seenetaoliste mikroorganismide) tõrjeks kasutatavate süsteemsete fungitsiidide fosetüül-Al, naatrium-, kaalium- või ammooniumfosfiti soolade laguproduktide sisaldusega taimedes (Dann and McLeod 2021). Erinevalt tavapõllundusest tuleb mahepõllunduses kinni pidada lubatud väetiste ja pestitsiidide kasutamisega kaasnevatest reeglitest. Tegelikkuses ei pruugi fosfoonhappe leid mahetatra seemnetes tuleneda reeglite tahtlikust rikkumisest, sest põhjuseid, mis soodustavad fosfoonhappe sisaldust mullas ja sealt edasi taimedesse akumuleerumist, on palju alates kliimast, fosfoonhappe looduslikust päritolust või põldude aastate tagusest majandamisest (Joonis 1). Fosfoonhappe päritolu puhul on oluline rõhutada, et mitmed mikroorganismid biosünteesivad fosfonaate, mis biodegradatsiooni käigus lagunevad fosfaatideks (Bown et al. 2023; Eliot et al. 2008; Kim et al. 2012). Lisavõimalusena on teadlased avastanud fosfonaatide redutseerumise fosfoonhappeks vee mikrotilgas toimuvate redoksprotsesside kaudu (Qiu and Cooks 2022).



Joonis 1. Looduslikku päritolu fosfonaadid, mille biosünteesi vahendavad *Bacteroides frangilis, Pseudomonas syringae, Streptomyces* perekonda kuuluvad aktinobakterid ja *Tetrahymena pyriformi* (Metcalf and van der Donk 2009; Roberts et al. 1968; Simon et al. 2021; Xin et al. 2018).

Fosfaatide redutseerumine fosfoonhappeks toimub teatud mikroorganismide kaasabil, kuid need protsessid sõltuvad ilmastikuoludest. Kuivaperiood alandab mulla pH-d, poorsust, struktuuri, vähendab fosfaatide liikuvust ja mikroorganismide aktiivsust mullas (Qu et al. 2023). Sademete tulemusena suureneb anoksiliste mikrobioloogiliste protsesside osakaal mullas, mil vaba molekulaarse hapniku puudumisel toimub hapnikurikaste ühendite (sulfaadid, nitraadid ja fosfaadid) mikrobioloogiline redutseerumine (Baldwin and Mitchell 2000).

Seoses põldude majandamisega eksisteerib võimalus, et põllud, kus täna viljeletakse mahepõllundust, olid aastaid tagasi tavapõllundusalad, mil väetiste ja pestitsiidide kogused ja/või koostised soosisid fosfoonhappe mulda sattumist või mullas püsimist. Fosfoonhape on lihtsa struktuuriga molekul. Sellele vaatamata säilub ta mullas sõltuvalt mulla omadustest ja mulla abiootiliste faktorite koosmõjust. Metallikompleksidesse sidumisel väheneb fosforühendite biolagunevus (Morillo et al. 2000; Munira et al. 2018; Zhou et al. 2004).

Fosfoonhappe sisalduse tuvastamine tatra seemnetes võib sarnaselt keerulisemate ühenditega olla vaid jäämäe tipp sellest, missugust mõju ta tegelikult taimedele avaldab. Viimased glüfosaadi uuringud näitavad, et pika kasvuajaga taimede kudedes säilib glüfosaat vähemalt 12 aastat (Botten et al. 2021). Mulda sattumisel konkureerib fosfoonhape fosforhappe fosfaadirühmaga adsorptsiooni kohtade pärast. Lupjamise ja/või väetamise tulemusena mulda viidud kaltsiumi-, vase ja kaadmiumi katioonid on katioonsildadeks glüfosaadi adsorbeerumisel mullaosakestele (Morillo et al. 2000; Munira et al. 2018; Zhou et al. 2004). Taimede ja mikroobide vahelise koostöö uurimisel on selgunud, et glüfosaat pärsib risosfääris ja taimede kudedes endofüütide aktiivsust. Pikas perspektiivis toob glüfosaadi kasutamine kaasa languse taimede loomulikus kahjurite vastases kaitsevõimes (Fuchs et al. 2023; van Bruggen et al. 2021).

Töö tellija poolt määratletud eesmärgid olid järgmised:

- Selgitada fosetüül-Al ja fosfoonhappe keemilist püsivust ajas, mulda akumuleerumist ja mullas püsimise aega sõltuvalt erinevatest mullatüüpidest ning uurida, missugused võiks olla fosetüül-Al ja fosfoonhappe looduslikud foonialad Eestis ja missuguseks võiks kujuneda fosetüül-Al ja fosfoonhappe sisaldus mullas 10 aasta jooksul;
- selgitada taimede fosetüül-Al ja fosfoonhappe omastamise võimet ning ainete sisalduse vähenemist taimede maapealses ja maa-aluses biomassis; uurida, mil määral sõltub kirjeldatud toimeainete kontsentratsioon taimes sõltuvalt põllukultuurist või sordist;
- uurida, kas Euroopa Komisjoni määruse nr 2021/1165 I ja II lisa sisaldab tooteid, mis võiks tõsta fosetüül-Al ja fosfoonhappe sisaldust mullas ja taimes;
- selgutada, millised on fosetüül-Al ja fosfoonhappe leidumise peamised allikad ja põhjused mullas ja taimedes;
- tuua välja parimad analüüsimetoodikad erinevate maatriksite jaoks ning metoodikate peamised kitsaskohad;
- nimetada võimalikud ennetus-ja ettevaatusmeetmed, mida mahetootja saaks kasutada, et nimetatud toimeainete jääke toodangus ei esineks.

2. Kliimamuutuse mõju fosfori kättesaadavusele

Kliimamuutuse tõttu on Eestimaa suved muutumas järjest palavamaks ja põuasemaks, sagenenud on suvised tormid. Palju on räägitud kliimamuutuse mõjust taimedele (Kim et al. 2018; Nguyen et al. 2018). Ometi algab taimede kasv toitainete kättesaadavusest ja liikuvusest mullas, mis sõltub temperatuurist, sademetest või siis vastupidi kuivusest. Kokkuvõttes on kliimal äärmiselt oluline roll mulla niiskusrežiimile, kuna sellest sõltub mullas leiduvate ensüümide toime ja mikroorganismide elutegevus (Hou et al. 2018).

Tugevate sademete ajal täituvad mulla poorid veega. Fosfaatide liikuvus mullas sel juhul suureneb, kuid pinnasesse tunginud vesi vähendab mulla hapnikusisaldust ja redokspotentsiaali (E_h). Sõltuvalt mullaorganismide liigist ja põua või sademeterohke perioodi pikkusest varieerub mullaorganismide aktiivsus ja arvukus (Tokarz and Urban 2015). Väidetavalt võib mikroorganismide kaasabil toimuv fosfoonhappe oksüdeerumine fosforhappeks toimuda sõltuvalt mulla keskkonnast kahe nädala kuni 4 kuu jooksul (Kehler et al. 2021). Oksiliste ja anoksiliste tingimuste vaheldumine tõstab fakultatiivsete anaeroobsete mikroorganismide arvukust, kes on võimelised elama nii aeroobses kui ka anaeroobses keskkonnas (Baldwin and Mitchell 2000). *Bacillus* perekonda kuuluvad bakterid, kes oksüdeerivad fosfiteid ja hüpofosfiteid fosforhappeks, taluvad hästi abiootilisi muutusi, sest nende rakuseinad sisaldavad peptidoglükaani, mis on suhkrutest ja aminohapetest koosnev polümeer (Bogati and Walczak 2022; Foster et al. 1978). Pikaajaline kuivus inhibeerib happelise ja aluselise fosfataasi aktiivsust ja kivimitest fosfaate lahustavate aktinobakterite arvukust (Siebielec et al. 2020).

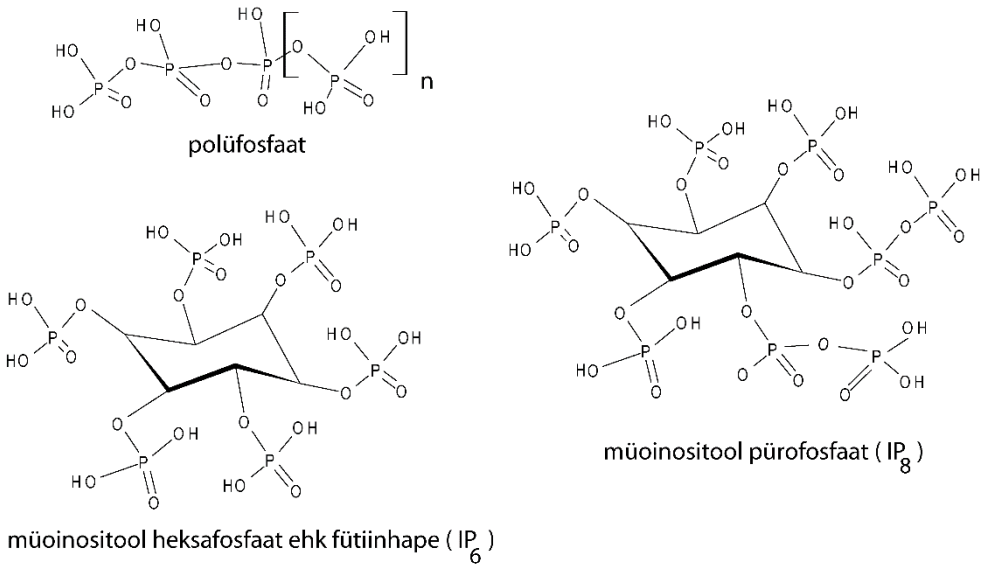
Kliima soojenemisega kaasnev temperatuuri tõus vähendab kemikaalide adsorptsiooni mullas muutes nad seeläbi liikuvaks ning taimedele ja mikroobidele kättesaadavaks. Fosfonaate oküdeeriv *Escherichia coli* jaoks on optimaalne kasvutemperatuur 35-40 ^{o}C (Kumar and Libchaber 2013). Fosfaatide lahustamist plii või kaadmiumi kompleksidest vahendava *Klebsiella aerogenes´*i maksimaalne kasvukiirus on 40 ^{o}C juures (Nedwell 1999; Yang et al. 2023). Taimedele kättesaadavat fosforit vahendava mikroorganismi *Pseudomonas fluorestsens* temperatuuritaluvuseks on mõõdetud +4 kuni 42 ^{o}C. See bakter on potentsiaalne bioväetise kandidaat, kuid temperatuuri tõusuga kaasnevad muutused mikroobi rakuseintes (Kahli et al. 2022; Park et al. 2009).

Kokkuvõttes on mulla mikrofloora mitmekülgne, kuna ta sisaldab varieeruva aklimatiseerumisvõimega mikroobe (Santana and Gonzalez 2015). Arvestades kliimatingimusi ja mulla mikroobide varieeruvust on fosfoonhappe sisalduse muutust järgneva 10 aasta jooksul keeruline prognoosida. Vaja oleks teada fosforiühendeid muundavate mikroorganismide liigilist koostist Eesti mullastikus. Tõenäolisemalt on pikemas perspektiivis kuivaperioodide sagenemise- või pikenemisega ning temperatuuri tõusuga oodata fosfonaatide sisalduse püsimist mullas (Kehler et al., 2021). Seetõttu soovitavad teadlased täiendavaid uuringuid, et kvantifitseerida fosfoonhappe oksüdatsioonikineetikat mullas. Taoliste katsetega loodetakse leida võimalusi fosfoonhappe kasutamiseks fosfori allikana.

3. Mullas peituvad fosforiallikad ja nende kättesaadavus taimedele

Fosfor sisaldub mullas anorgaanilisel - ja orgaanilisel kuju. Anorgaanilisteks allikateks on looduslikud mineraalid - apatiidid (fluoriidapatiit ($Ca_5(PO_4)_3F$), hüdroksüapatiit ($Ca_5(PO_4)_3OH$) ja fosforiit ($Ca_3(PO_4)_2$ (Pereira and Papini 2015; Syvyi et al. 2019). Mineraalidest fosfori lahustumine on aeganõudev protsess, mis on üheks taimedele kättesaadava fosfori defitsiidi põhjuseks.

Ehkki pinnase proovidest on leitud süsinikku sisaldavaid fosfaate, fosfonaate, polüfosfaate ja erinevaid fosforhappeestreid, sisaldub suurim osa orgaanilisest fosforist taimede jaoks kättesaamatu fütiinhappena (IP_6). Tegemist on molekuliga, kus 6 fosfaat-aniooni on seotud *myo*-inositooliga (Joonis 2) (Liu et al. 2022). Fütiinhappe kogus võib moodustada kuni 50% mulla üldfosforist (Cade-Menun 2005; Liu et al. 2022). Fosforhappe anioonide sisalduse ja oma struktuuri tõttu on fütiinhape väga reageerimisvõimeline ja seda mitte ainult seoses tema sorptsiooniga mullaosakestele vaid ka inkorporeerituna koos raua- või alumiiniumiaatomitega orgaanilistesse ühenditesse. Taolistes kompleksides taimed fosforit ei omasta (Hayes et al. 2000).



Joonis 2. Fosfaatanioone sisaldavad looduslikud polüfosfaat, fütiinhape ja müoinositool pürofosfaat. Number fütiinhappe tähises (IP) näitab fosfaatanioonide arvu molekulis.

Taimede poolt omastatava fosfori sisaldus sõltub risosfääris elutsevatest mullaorganismidest (Richardson and Simpson 2011). Näiteks kasvuhormooni auksiini, mis koordineerib taimede kasvu, on leitud risosfääri bakterite tüvedest (Petrasek and Friml 2009; Srivastava et al. 2022). Mullaorganismid suurendavad auksiini kaasabil taimede juurte kasvu, hargnemist ja ka juurekarvade teket, mis soodustab toitainete kättesaadavust (Richardson and Simpson 2011). Lisaks toodavad *Actinomycetes*, *Pseudomonas* ja *Bacillus* perekonda kuuluvad bakterid orgaanilisi happeid (sidrunhapet ehk tsitraati, glükoonhapet, oblikhapet), mis lahustavad fosfaat- või fosfonaatanioonide ja katioonide liitumisel tekkinud komplekse, või siis konkureerivad fosforanioonidega komplekside moodustamisel (Nahas 1996; Omar 1998).

Mikroorganismides toimub fosforühendite akumuleerumine fosfonaatidena või polüfosfaatidena. Fosfori akumuleerimist polüfosfaatideks ja hilisemat fosfaatanioonide vabastamist vahendavad *Pseudomonas* perekonda kuuluvad bakterid (Srivastava et al. 2022). Lisaks on mükoriisat moodustavad seened võimelised akumuleerima kuni 60% fosforist polüfosfaatidena, mistõttu on arvamus, et mükoriisa varustab taimi fosfaatidega (Chiu and Paszkowski 2019; Hijikata et al. 2010).

Põllukultuuride risosfäärist kogutud proovides on tuvastatud nii kõrge- (> 150 µg/g biomassi kohta), keskmise - (100 – 150 µg/g biomassi kohta) kui ka madala fosfori akumuleerimisvõimega (< 100 µg/g biomassi kohta) bakterite tüvesid (Srivastava et al. 2022). Kuigi taimed ja mikroorganismid konkureerivad fosforile, ei ole mikroorganismides fosfori akumuleerimine pöördumatu protsess. Lähtuvalt nende rollist fosforiringluses on nad võimelised keemiliste protsesside abil akumuleeritud fosforit vabastama muutes selle taas taimedele kättesaadavaks.

4. Fosfoonhappe looduslikud foonialad

Eestis võib sõltuvalt kliimast kõrgem redutseerunud fosforühendite sisaldus esineda orgaanilise aine poolest rikastes gleimuldades, mis moodustavad kõige suurema osa haritavast põllumaast (17%). Gleimullad asuvad kesk- ja lääne-Eesti madalatel pinnavormidel ja selles tulenevalt on sealne mikrobioloogiline aktiivsus mõjutatud pH ja E_h-väärtuste kõikumisest. Ka kevadine ja sügisene liigniiskus on peamine mulla viljakuse mõjutaja neis piirkondades (Penu 2005).

Leostunud ja rähksed mullad on tekkinud karbonaatsest lähtekivimist. Leostunud mulla pH (pH 6.5 – 7) soodustab kaltsiumist ja fosforist koosnevate komplekside teke (vt peatükk 7.5.). Mõlemat tüüpi muldades on madal orgaanilise aine sisaldus, mis tähendab, et vähese mikroorganismide liigilisuse ja madala arvukuse tõttu võib fosfoonhappe foon jääda neis muldades madalaks. Koresuse tõttu on leostunud ja rähksed mullad põuakartlikud, mis vähendab mikroobide aktiivsust veelgi.

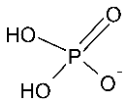
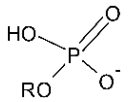
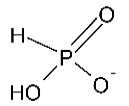
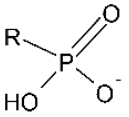
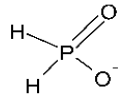
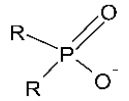
Fosfonaatide kõrge sisaldus on tuvastatud niisketes, huumuserikastes happelistes muldades (Stutter et al. 2015; Wang et al. 2019). Eesti näivleetunud ja leetunud mullad, mis hõlmavad oma levialalt kogu kagu-piirkonna, on looduslikult happelise pH-ga, madala huumuse ja kaltsiumisisaldusega (Penu 2005). Leetunud muldades on madal struktuursus ja mikrobioloogiline aktiivsus. Näivleetunud muldadele on omane gleistumine, millega kaasneb raud(III)-ühendite ja hapnikurikaste fosfaatide redutseerumine (Baldwin and Mitchell 2000).

Fosfoonhappe loodulik foon sõltub mulla mikrofloorast, mille liigilist koostist mõjutab ka teistest regioonidest pärit tuulega levivad spoorid. Piirkondades, kus esineb vee-erosioon, on pH ja E_h kõikumistest tulenevalt suurem tõenäosus fosfoonhappe tekkeks (Penu 2005). Vee-erosioon tagab toitainete ebaühtlase jaotuse põllu eripiirkondades ja selle all kannatavad enim Tartu-, Viljandi, Põlva-, Võru- ja Valgamaa põllud.

5. Looduses eksisteerivad fosforanioonid

Fosfor on varieeruvate oksüdatsiooniastmetega element (+5 kuni -3), mistõttu ta on võimeline moodustama nii fosforhappe ehk ortofosforhappe soolasid, fosforishappe ehk fosfoonhappe soolasid, hüpofosforishappe soolasid ning isegi eksisteerima fosfiinina (H_3P, oksüdatsiooniaste -3) (Tabel 1) (Havlin and Schlegel 2021). Viimane emiteerub atmosfääri setete, sõnniku või prügilatesse ladustatud komposti anaeroobse lagunemise tulemusena (Yu and Song 2003).

Tabel 1. Fosforit sisaldavad happed ja soolad ning nende dissotsiatsiooni konstandid.

Happe nimetus, valem	Fosfori oksüdatsi-ooniaste	Happe dissotsiatsioon, anioonide vaheline tasakaal	Happe dissotsiatsiooni-konstandid	Happele vastav soolad	Esimese astmes dissotsieerunud soola struktuurvalem
fosforhape [a] H_3PO_4	+5	$H_3PO_4 \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} H_2PO_4^-$	$pK_{a1} = 2.15$	fosfaadid	
		$H_2PO_4^- \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} HPO_4^{2-}$	$pK_{a2} = 7.2$		
		$HPO_4^{2-} \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} PO_4^{3-}$	$pK_{a3} = 12.35$	fosfaatestrid	
fosforis hape ehk fosfoonhape H_3PO_3	+3	$H_3PO_3 \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} H_2PO_3^-$	$pK_{a1} = 1.5$	fosfitid	
		$H_2PO_3^- \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} HPO_3^{2-}$	$pK_{a2} = 6.79$		
				fosfonaadid	
hüpofosforis-hape ehk fosfiinhape H_3PO_2	+1	$H_3PO_2 \underset{H^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} H_2PO_2^-$	$pK_{a1} = 1.1$	hüpofosfiidid	
				fosfinaadid	

[a] refereeritud artiklist (Havlin and Schlegel 2021), R - süsinikku sisaldav orgaaniline asendusrühm.

Fosfoonhappe sooladeks on nii fosfitid kui fosfonaadid. Üldjuhul nimetatakse fosfonaatideks süsiniku ja fosfori (C-P) vahelise keemilise sidemega ühendeid. Fosfonaatanioon ja etüülrühma sisaldavad fosetüül ja fosetüül-Al on siinkohal eranditeks, kuna kumbki ühend ei sisalda C-P sidet. Sellele vaatamata on nende puhul tegemist fosfonaatidega, ehkki fosetüüli (monoetüülfosfonaat) kohtab ka etüülfosfiti nime all.

6. Fosforühendite metabolism taimedes

6.1. Fosfori roll taimedes

Fosfor on taimede üks põhitoiteelementidest moodustades kuni 0.2% taime kuivmassist. Fosfaatanioonina omastatuna seotakse fosfor orgaanilistesse energiat salvestavatesse molekulidesse nagu adenosiintrifosfaat (ATP) ja adenosiindifosfaat (ADP), mistõttu on fosforil võtmeroll ainevahetusprotsessides. Lisaks osaleb fosfor nukleiinhapete RNA ja DNA moodustumisel. Seotuna fosfolipiididesse kuulub ta rakumembraanide koostisse tagades nii juurte kui ka maapealsete osade arengu ja kasvu (Kim and Li 2016). Fosfor parandab ka lämmastiku omastamist liblik- ja ristõielistel taimedel (Papakaloudis and Dordas 2023; Yan et al. 2018).

Taimed reageerivad fosfori kättesaadavusele läbi juurte struktuuri ja juurtes toimuva metabolismi (Lambers et al. 2006). Fosfori kättesaadavusega on seotud taimede stressitaluvus ja seda eeskätt just seoses abiootiliste ja inimtegevuse tagajärjel tekkinud mõjudega nagu kuumus, maapinna soolsus, kuivus, üleujutused ning mulla saastatus raskemetallidega (Khan et al. 2023).

DNA, RNA ja energeetiliste molekulide kõrval salvestub teatud osa fosforist seemnete kestades ehk aleuroonkihis fütiinhappena (Joonis 2). Fütiinhappe interakteerumisel metalliioonidega nagu kaalium (K), magneesium (Mg), tsink (Zn), raud (Fe) ja kaltsium (Ca) moodustuvad kelaadid (fütaadid) (Gupta et al. 2015; Steadman et al. 2001). Taimedes leidub vähesel määral ka pürofosfaate. Fütiinhape, tema derivaadid ja pürofosfaadid täidavad taimes mitmeid ülesandeid. Fütiinhape ja tema derivaadid säilitavad fosforit ja on fosfolipaasile substraadiks, mille muundumisel tekib diatsüülglütserool (Gillaspy 2011). Diatsüülglütseroolist omakorda tekib fosfatiidhape, mis on taime signaalmolekul külma, kuivuse või patogeenide poolt tekitatud stressiga kohanemisel (Testerink and Munnik 2011). Pürofosfaadid edastavad signaale, mis on seotud taime toitainete vajadusega (fosfori assimileerimine), taimehormoonide biosünteesiga ja immuunsusega (Gaugler et al. 2022; Gulabani et al. 2022; Laha et al. 2015; Laha et al. 2022; Lorenzo-Orts et al. 2020). Hariliku müürloogaga *Arabidopsis thaliana* teostatud katsed selgitasid, et pürofosfaatide häiritud biosünteesi tõttu tekkisid kõrvalekalded fütohormoonide (jasmonaat, salitsüülhape ning auksiin) biosünteesi radades (Gulabani et al. 2022; Laha et al. 2015; Laha et al. 2022). Kuigi polüfosfaate lagundavaid ensüüme presenteeriti juba 1999. (Kuroda et al. 1999), on pürofosfaatide (IP_7, IP_8 jne) teema taimeteadlaste jaoks siiski uudne. Tegemist on molekulidega, mis taimeekstraktides kiiresti hüdrolüüsivad ja on seetõttu keerulised määrata.

6.2. Fosfoonhappe ja fosforhappe omastamine ja sisaldus taimedes

Fosfoonhape on mullas looduslikult olemas ja tatar omastab selle koos fosforhappega. Fosforhappe omastamine ja taimesisene jaotus toimub *Pht1, Pht2, Pht3, Pht4* geenide poolt kodeeritud fosfaatioone transportivate proteiinide abil (Nussaume et al. 2011). Keemilise sarnasuse tõttu ei tee eelnevalt nimetatud proteiinid vahet fosfoonhappe- ja fosforhappe

anioonidel, mida taim omastab juurte või lehtede kaudu (Tabel 1) (Gómez-Merino and Trejo-Téllez 2015). Kuid ensüümid, mis vahendavad edasist fosfori metabolismi (ülekandereaktsioone), eristavad kahte eelpool mainitud hapet H- ja OH-rühma sisalduse järgi ja seetõttu ei saa fosfoonhape osaleda ainevahetusprotsessides. On olnud arvamus, et taime kudedes fosfoonhappe oksüdeerumist fosforhappeks ei toimu. Hiljutistes tulemustes, kus ei kasutatud transgeenseid taimi, väidavad teadlased vastupidist (Trinchera et al. 2020). 2012. tutvustati transgeensetel taimedel põhinevaid tulemusi, kus taimed olid võimelised kasutama fosfiteid oma fosfori vajaduse katmiseks. Tegemist oli bakterite kaasabil toimuva protsessiga, mille tulemusena ekspresseerus taimes fosfitite dehüdrogenaasi geen (Lopez-Arredondo et al. 2014; López-Arredondo and Herrera-Estrella 2012). Katsete põhjendusena toodi välja, et taolisi taimi sobiks kasvatada madala fosfori kättesaadavusega põldudel. Fosfiti kasutamisel väetisena ei konkureeriks geenmutatsiooni läbinud taimed umbrohuga ega fosfaate kasutatavate mikroorganismidega.

Võrreldes fosfaatanioonidega on fosfoonhape anioonid taimede jaoks eelistatum valik ja seda fosfaatanioonide tugevama sorptsiooni tõttu mullaosakestele (vt peatükk 7.6) ning suuremale fosforisisaldusele fosfoonhappe molekulis (39% fosforit fosfoonhappes, 32% fosforit fosforhappes) (Gómez-Merino and Trejo-Téllez 2015).

Omastatud fosforanioonid jaotuvad lehtedesse, õitesse ja viljadesse. Fosfoonhappe akumuleerumine toimub fosfaadinäljas olevate rakkude tsütosoolis, mis omakorda tekitab fosforhappe defitsiidi seeläbi, et geenid, mille ülesandeks on fosforhappe defitsiidi tuvastamine, ei aktiveeru. Defitsiidi tulemusena on fosforhappe väljavool vakuoolist takistatud, millele halvimal juhul järgneb rakkude hukkumine. Kui taimede kasvukeskkonnast tulenevalt on rakkudes piisav fosforhappe tagavara, algab fosfoonhappe taime sisenemisel fosforhappe väljavool nii tsütosoolist kui juurtest (Danova-Alt et al. 2008). Vakuoolis taim detoksifitseerib fosfoonhappe (Danova-Alt et al. 2008).

6.2.1. Fosforühendite akumuleerumine seemnetes

Fosforhappe roll seemnetes on tagada seemnete idanemine ja noorte taimede juurdumine. Taimede kasvuaja lakkamisega lõppeb fosforhappe akumuleerumine seemnetes ja sama kehtib fosfoonhappe kohta. Seemnetest võib fosfoonhape sisalduda võrdselt fosforhappega nii kaua, kuni säilib seemne idanemisvõime.

Fosfori omastamine taimedes varieerub liigiti ja taime sortide vahel. Seda kinnitab nii seemnetes analüüsitud fütiinhappe sisalduste võrdlemine kui ka erinevate köögiviljade seemnetes määratud fosfonaatide sisaldused (Tabel 2 ja 3). Teadaolevalt kulgeb fütiinhappe biosüntees taimerakkude tsütosoolis kahte rada mööda, sõltuvalt lipiididest ja sõltumata lipiididest. Viimane toimub peamiselt seemnetes, kus ensüümide kaasabil lisandub glükoos-6-fosfaadile järjest fosfaatrühmi, kuni algsest molekulist on saanud 6 fosfaatrühma sisaldav fütiinhape. See liigub edasi vakuooli, kus toimub fütiinhappe edasine säilitamine (Sharma et al. 2022). Fütiinhape nagu iga teise fütokemikaali biosüntees sõltub taime kasvukeskkonnast ja kliimast (Sharma et al. 2022). Võrdluses teiste põllukultuuridega on fütiinhappe sisaldus tatraseemnetes kõrge. Tatraga samasse suurusjärku jääb vaid linaseemnetes, maapähklites,

nisuidudes ja kliides ning seesamiseemnetes leitud fütiinhappe sisaldus (Tabel 2). Tatra puhul varieerub fütiinhappe sisaldus jahu jahvatusastmega. Seemnetes võib fütiinhappe sisaldus varieeruda 0.17 kuni 2.29% ja idulehtedes võib tema sisaldus ületada 3.7% (Brouns 2022; Sharma et al. 2022).

Tabel 2. Fütiinhappe sisaldus kaun- ja teraviljades ning seemnetes

Põllukultuur	Fütiinhappe sisaldus (g / 100 g $_{\text{kuivmassi kohta}}$)	Publitseeritud tulemused
hernes	0.22 - 1.22	(Gupta et al. 2015)
hirss	0.18 - 1.67	(Gupta et al. 2015)
kaer	0.42 - 1.16	(Gupta et al. 2015)
kikerhernes	0.28 - 1.60	(Gupta et al. 2015; Mahgoub and Elhag 1998)
lehmahernes	0.37 - 2.29	(Cichy and Raboy 2009)
linaseemned	2.15 - 3.69	(Gupta et al. 2015)
läätsed	0.27 - 1.05	(Coulibaly et al. 2011)
maapähklid	0.17 - 4.47	(Sharma et al. 2011)
nisuidud	1.14 - 3.91	(Gupta et al. 2015)
nisukliid	2.1 - 7.3	(Gupta et al. 2015)
oder	0.38 - 1.19	(Coulibaly et al. 2011; Gupta et al. 2015)
pruun riis	0.84 - 0.94	(Coulibaly et al. 2011)
rukis	0.54 - 1.46	(Coulibaly et al. 2011; Gupta et al. 2015)
seesamiseemned	1.44 - 5.36	(Gupta et al. 2015)
sojauba	1.00 - 2.22	(Coulibaly et al. 2011)
tatrajahu (kliid või kruubid)	1.2 - 3.5	(Steadman et al. 2001)

Poolas kasutati fosfonaatide sisalduse hindamisel kohalikest taimekasvatuse firmadest saadud köögiviljade seemneid. Uuring sisaldas sarikaliste, korvõieliste, ristõieliste, maavitsaliste, liblikõieliste ja kõrvitsaliste sugukonda kuuluvaid köögivilju (Wieczorek et al. 2021). Fosforühendite analüüs toimus kahe seadme abil. Ühte ja sama lahust analüüsiti nii spektrofotomeetri kui tuumamagnetresonantsi (^{31}P-NMR) abil. Tulemustena esitleti summaarset fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide sisaldust (mg/g), mis määrati spektrofotomeetriliselt, ning ^{31}P-NMR spektritelt määratud fosforit sisaldavate ühendite suhtelisi sisaldusi. NMR spektrite analüüsimisel grupeeriti ained viide erinevasse rühma – (1) fütaadid ja anorgaanilisi fosfaate sisaldavad ühendid, (2) fosfonaadid, (3) monoestrid, (4) fosfodiestrid ja (5) difosfaadid ning polüfosfaaadid. Nimetatud ainetest suhtelistest sisaldustest on Tabelis 3 näidatud vaid fosfonaatide sisaldus ja summaarne fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide sisaldused. Enamikes seemnetes olid peamisteks fosforit sisaldavateks aineteks fütaadid ja anorgaanilised fosfaadid (kuni 92%). Vaid petersell 'Alba' ja lutserni seemnetes jäi nende sisaldus madalaks (~11%). Suurim fosfonaatide sisaldus (4.9 – 9.7%) oli sarikaliste sugukonda kuuluvate taimede (porgand, seller, till ja petersell) seemnetes. Neile järgnesid ristõieliste sugukonda kuuluvad taimed (0.7 – 4.6%), kelle hulgas leiti enim fosfonaate naeri-, lehtkapsa- ja brokoli seemnetest. Liblikõieliste ja maavitsaliste taimede seemnetes oli kõige madalam fosfonaatide sisaldus (0 – 0.6%). Vastupidiselt fosfonaatidele oli kõrgeim fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide sisaldus (mg/g) liblikõieliste ja maavitsaliste taimede seemnetes, neile järgesid kõrvitsaliste ja ristõieliste seemned. Väikseim fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide sialdus oli sarikaliste sugukonda kuuluvate taimede seemnetes (Tabel 3).

Tabel 3. Fosforhappe anioone sisaldavate ühendite (P) ja fosfonaatide (P_n) sisaldus köögivilja seemnetes.

Köögivilja nimetus		Sort	P [a] (mg/g)	P [b] (%)	P_n [b] (%)
REBASHEINALISED					
peet	*Beta vulgaris* var. Conditiva	Opolski	2.4 ± 0.1	83.3	0.1
SARIKALISED					
porgand	*Daucus carota*	Dolanka	0.9 ± 0.0	19.6	9.7
seller	*Apium graveolens*	Talar	1.1 ± 0.0	14	7.9
till	*Anethum graveolens*	Szmaragd	0.6 ± 0.0	23.1	5.7
lehtseller	*A. graveolens* var. *dulce*	Verde Pascal	0.9 ± 0.1	18	7.6
petersell	*Petroselinum crispum* convar. *Radicosum*	Alba	0.6± 0.0	11.4	4.9
pastinaak	*Pastinaca sativa*	Halflong White	1.4 ± 0.0	39.9	6.2
KORVÕIELISED					
sigur	*Cichorium intybus* var. *foliosum*	Palla Rossa 3	1.8 ± 0.1	20.9	1.3
päevalill	*Helianthus annuus*	-	1.2 ± 0.1	16.7	1.8
RISTÕIELISED					
brokol	*Brassica oleracea*		0.8 ± 0.0	51.8	5.1
rooskapsas	*B. oleracea* L. var. *gemmifera*	Long Island	1.5 ± 0.0	55.1	1.2
lillkapsas	*B. oleracea* convar. *Botrytis*	Beta	1.5 ± 0.0	48.8	0.8
hiina kapsas	*B. pekinensis*	Bristol	1.6 ± 0.0	57.3	0.7
salatkress	*Lepidium sativum*	-	0.6 ± 0.1	52.1	4.5
lehtkapsas	*B. oleracea* L.		1.2 ± 0.0	33.3	2.3
redis	*Raphanus sativus* var. *sativus*	-	1.0 ± 0.1	50.6	1.3
punane peakapsas	*B. oleracea* var. *capitata rubra*	-	1.2 ± 0.1	44.7	1.5
kähar peakapsas	*B. oleracea* L. var. *sabauda*	Langedijska	1.4 ± 0.0	42.1	1.9
kaalikas	*B. napus*	Nadmorska	0.7 ± 0.1	46.5	4.6
naeris	*B. rapa*	Di milano a collettoviola	1.1 ± 0.0	22	2.9
nuikapsas			0.9 ± 0.0	48.3	2
valge peakapsas	*B. oleracea* var. *capitata alba*	Amager Polana	1.3 ± 0.0	45.6	1.5
valge sinep	*Sinapis* L.	-	0.9 ± 0.1	21.1	7.4
KÕRVITSALISED					
kurk	*Cucumis sativus*	Aladyn F1	0.8 ± 0.1	76.3	2
tsukiini	*Cucurbita pepo*	Astra Polka	1.6 ± 0.2	86.5	0.1
kõrvits	*C. maxima*	Bambino	2.2 ± 0.1	92.3	0.2
kabatšokk	*C. pepo*	Kabaczek Złoty Cepelin	0.9 ± 0.0	90.7	0.3
suvikõrvits	*C. pepo*	Patison Polo F1	1.9 ± 0.0	93	0.3
LIBLIKÕIELISED					
lutsern	*Medicago sativa* L.	-	1.7 ± 0.1	11.3	0
põõsasuba	*Phaseolus vulgaris*	Borlotto lingua di fuoco nano	2.6 ± 0.0	12.5	0
põlduba	*Vicia faba* L.	-	2.1 ± 0.1	85.5	0
harilik aeduba	*P. vulgaris*	Esterka	1.4 ± 0.1	54.8	0
roheline lääts	*Lens culinaris*	-	2.0 ± 0.1	79.4	0.3
munguba	*Vigna radiata*	-	2.6 ± 0.1	41.1	0.5
hernes	*Pisum sativum* L.	-	2.2 ± 0.1	73.6	0.6
KÕRRELISED					
mais	*Zea mays* var. *saccharata*		1.2 ± 0.0	84	1.5
MAAVITSALISED					
baklažaan	*Solanum melongena*	Black Beauty	1.6 ± 0.0	82.8	0
pipar	*Capsicum annuum*	Kasia	3.4 ± 0.0	88.9	1
	C. annuum	Oz˙arowska	1.7 ± 0.1	72.2	0
tomat	*S. lycopersicum* L.	Betalux	1.4 ± 0.2	85.2	0.4
	S. lycopersicum L	Krakus.	1.6 ± 0.0	72.7	0
	S. lycopersicum L.	Malinowy Olbrzym	1.9 ± 0.1	81.3	0.3

[a] - summaarne fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide (P) sisaldus (keskmine ± SD) määratud spektrofotomeetriliselt; [b] - summaarne fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide (P) ning fosfonaatide (P_n) suhteline sisaldus ^{31}P-NMR analüüside põhjal. Spektrofotomeetriliselt määratud fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide ühendite sisaldusele (mg/kg) vastab NMR spektritelt määratud fütaatide ja anorgaaniliste fosfaatide suhteline sisaldus (%).

Fosfonaatide detailset koostist analüüsidest ei selgunud, kuid erinevate taimede kaasamine uuringusse annab aimu fosfonaatide sisalduste varieerumisest sugukondade tasemel. Samuti jäi selgusetuks, kas seemned pärinesid mahe- või tavapõldudelt. Tulemuste arutelus toetuvad autorid looduslikule fosfonaatide sisaldusele tsüanobakterite rakkudes ja järeldavad, et ka taimed võivad biosünteesida fosfonaate. Mõningate tsüanobakteri liikide sümbioos taimedega on teada (Colla and Rouphael 2020; Nowruzi et al. 2021).

Tsüanobakterid biosünteesivad taimekasvu mõjutavaid hormoone ja on seetõttu biostimulaatoreid arendavate teadlaste huviorbiidis (Nowruzi et al. 2021). Kahjuks ei sisalda Tabelis 3 toodud tatra kohta informatsiooni. Tabelis toodud PO_4^{3-}-anioonide sisaldus on võrreldes Eesti tatraseemnetes määratud fosfoonhappe sisaldusega (0.38 – 0.74 μg/g) erinev. See aga ei vähenda fosforühendite sisalduste varieeruvuse presenteerimist taimedes sugukondade lõikes.

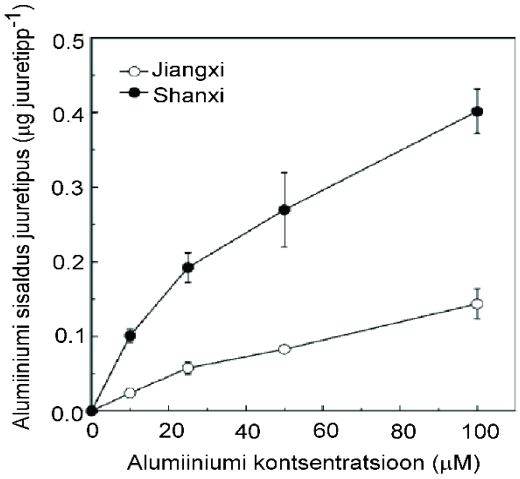
Fosfoonhapet säilitavad ka ligniirikaad koed. Taolise tulemuseni jõuti viljapuude katses. Pirnipuu 1- ja 3-aastased võrsed sisaldasid rohkem fosfoonhapet kui lehed ja viljad. Puud säilitavad fosfoonhapet ligniinirikastes kudedes, kust see järgeval kasvuaastal teistesse taimekudedesse taas ümber jaotub. Fosfoonhappe sisalduse vähendamiseks jääkkogusteni kulus nendes katsetes 5 aastat (Trinchera et al., 2020). Lahustatud ligniini abil on püütud kaitsta pestitsiide leostumise ning päikesevalguse eest (Shasha et al., 1998). Toetudes eelnevale on alust arvata, et ka tatraterade seemnekestades sisalduv tärklis ja ligniin aitavad säilitada pestitsiidide laguprodukte (Song et al., 2019; Zhu, 2016).

6.3. Fosforhappe sisaldus tatras seoses taimede alumiiniumi resistentsusega

Alumiinium on hapniku ja räni järel kolmas kõige levinum element maapõues. Alumiiniumit esineb väetiste koostises, kuid ta satub mulda ka fosetüül-Al lagunemise tagajärjel. Sõltuvalt taime genotüübist, alumiiniumi kontsentratsioonist mullas, mulla pH-st, taime vanusest, kasvutingimustest ning taime ja metalli ajalisest kokkupuutest on alumiiniumi mõju taimedele toksiline või kasulik (Barcelo and Poschenrieder 2002; Zheng et al. 2005). Toksilise toime puhul pärsib alumiinium juurte kasvu, mis omakorda takistab vee ja toitainete omastamist mullast. Alumiiniumi negatiivne toime seisneb ka lipiidide perroksüdeerimises, mille tulemusena rakuseinad rebenevad (Barcelo and Poschenrieder 2002). Alumiiniumi kasulik toime on omane happelistel muldadel kasvavatele taimedele. Kasulik toime on seotud juurte kasvu suurendamisega ning seda on täheldatud alumiiniumi suhtes resistentsete riisisortide, naeri ja sojaoa puhul (Moreno-Alvarado et al. 2017; Wang et al. 2015; Yu et al. 2011). Eestis kasvatatavatest põllukultuuridest esineb alumiiniumi resistentsus tatral, nisul, maisil ja kaeral.

Alumiiniumi resistentsuse avaldumise mehhanismid varieeruvad samamoodi nagu tema kasulik toime - taimeliigiti ja -sorditi (Zheng et al. 2005). Kirjeldatakse taimejuurte omadust eritada mulda fosfaatianioone või siis alumiiniumit siduvaid proteiine (Basu et al. 1999; Pellet et al. 1996). Katseliselt on tõestatud alumiiniumi ´kapseldamine´ mullas tatra juurtest pärit orgaaniliste hapete abil (Ma 2000). Oblikhappe eritumine tatra juurte tippudest algab juba 30

min möödumisel alates juurte kokkupuutest alumiiniumiga, kusjuures oblikhappe kogus ei sõltu tatrasortide resistentsuse varieerumisest (Zheng et al. 2005). Alumiinium seevastu koguneb sõltuvalt tema sisaldusest mullas ja tatra sordist juurte tippudesse. Lühiajalise kokkupuute korral koguneb rohkem metallikatioone madalama resistentsusega taimedesse (Joonis 3). Pikaajalisel kokkupuutel koguneb rohkem metallikatioone kõrgema alumiiniumi resistentsusega taimedesse (Zheng et al. 2005). Muuhulgas on tatra puhul täheldatud plasmamembraanide selektiivset läbilaskevõimet alumiiniumiioonide suhtes vältimaks alumiiniumi sattumist rakuvedelikku ehk tsütosooli (Archambault et al. 1997). Tatra puhul piirab alumiiniumi sisenemist tsütosooli see, et juurerakkude seintes seotakse alumiinium fosfaatanioonigа. 100%-lt see taimesisest alumiiniumi liikumist ei takista, sest taimelehtedes toimub alumiiniumi detoksifitseerimine alumiiniumoksalaadi kujul (Zheng et al. 2005).



Joonis 3. Alumiiniumi sisaldus hariliku tatra juuretippudes sõltuvalt alumiiniumi sisaldusest mullas 6 tunni möödudes. Jiangxi - kõrgema resistentsusega sort, Shanxi - madalama resistentsusega sort (Zheng et al. 2005).

Tatraseemnete analüüsil tuvastatud fosfoonhappe sisaldus võib olla seotud tatra kõrge fosfori omastamisega, mis tuleneb taimede alumiiniumi resistentsust. Küsimus võib olla selles, kas koos fosforhappe omastamisega varieerub ka fosfoonhappe akumuleerumine ja kas see varieerub tatras sorditi ja/või sõltub taime kasvutingimustest? Teaduskirjanduses leidub tulemusi, mis annavad alust tatrataimede ja sortide fosfor- ja fosfoonhappe akumuleerumise uurimiseks. Fosfaatanioonide limiteeritud sisaldus mullas tekitab taimedel kloroosi, mistõttu gaasivahetus (CO_2 sidumisvõime, transpiratsioon, õhulõhede juhtivus) väheneb ning taimede kasv pidurdub (Singh et al. 2003). Hariliku müürlooga (*A. thaliana)* puhul täheldati, et madala fosfaatide sisalduse tulemusena kasvatas taim küll rohkem külgjuuri, kuid fosfonaatide sisalduse tõttu kasvukeskkonnas vähenes juurekarvade pikkus ja tihedus (Ticconi et al. 2001).

6.4. Fosetüüli ja fosfoonhappe sisaldus taimes tulenevalt taime pritsimisest ja mulla töötlemisest fosforipõhiste pestitsiididega

Mahetoodangus fosfoonhappe akumuleerumise põhjuste väljaselgitamisega on tegelenud erinevad teadusrühmad eri maailmapaigust, mis näitab, et tegemist ei ole lokaalse Eestisisese probleemiga (Dann and McLeod 2021; Havlin and Schlegel 2021; Nader et al. 2023). Euroopa Liidus on alates 2014. fosfoonhappe määramine mahepõllumajanduslikes puu- ja köögiviljades kõrgendatud tähelepanu all. Tatar ei ole ainus kultuur, kust fosfoonhapet on leitud. Teda on leitud ka sparglist, viinamarjadest, arbuusidest, apelsinidest, klementiinidest, kartulist, pirnidest, piprast ja melonist (Trinchera et al. 2020). Põhjuste väljaselgitamiseks on tehtud rohkelt põldkatseid. On uuritud fosetüül-Al degradeerumise kiirust taimelehtedes ja fosfoonhappe omastamist mullast. Keerulisemates eksperimentides on taimede poolt omastatava fosfoonhappe koguse hindamiseks kasutatud metoodikat, kus fosfoonhappe sisaldusega orgaanilise väetise kasutamine kombineeriti taimelehtede pritsimisega fosetüüliga.

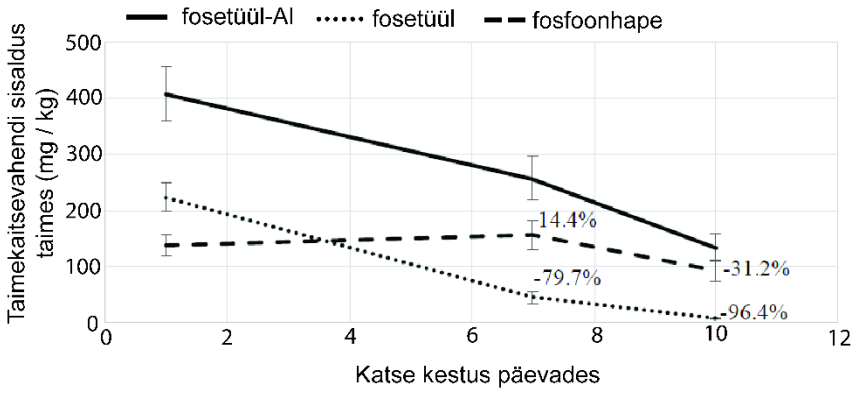
6.4.1. Fosetüül-Al lagunemine taimes

Katse (**katse 1**) viidi läbi põllul kasvatud salatitaimedega 2017. (Trinchera et al. 2020). Fosetüül-Al koguse vähenemist lehtedes hinnati 10-päeva jooksul (Joonis 4), kuid koos põllu ettevalmistamisega ja taimede ettekasvatamisega kestis katse 60 päeva. Taimed (*Eruca sativa Mill*., *Diplotaxis tenuifolia* (L.)) kasvatati pottides suurusega 2 x 2 x 4 cm, mis sisaldas perliiti (60%) ja komposti (40%). Kui taimed oli saavutanud kõrguse 6 cm (3 täiskasvanud lehte), istutati nad põllule. Katse viidi läbi randomiseeritult 3 korduses (kokku 36 m^2). Ühele katselapile, mis oli suurusega 2 x 6 m, istutati 20 taime. Taimede reavahed olid 50 cm. Nädal enne taimede istutamist toimus põllu väetamine lämmastikuga (80 kg N/ha loomsete saaduste baasil saadud orgaanilise väetisega. Taimed kasteti 1, 3, 8 ja 16 päeval peale istutamist (50 ml vett taime kohta). Taimi pritsiti üks kord fosetüül-Al-ga (arvestusega 2 kg/ha, ~1000 L/ha). 1, 7 ja 10 päeva möödumisel peale pritsimist koguti igalt katselapilt 3 salatilehte keemilisteks analüüsideks.

Fosetüül-Al, fosfoonhappe ja fosetüüli sisalduse määramiseks taimedes, mullas ja väetises kasutati glüfosaatide sisalduste määramise metoodikat (glüfosaatide sisalduste määramise metoodika - QuPPE, meetod 1.3 väljastatud Euroopa Liidu referentlabori poolt - https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/EurlSrm_meth_QuPPe_PO_V12_1.pdf). Keemilised analüüsid tehti vedelikkromatograafia ja tandem-massispektromeetria (LC-MS/MS) abil. Fosetüüli ja fosfoonhappe LOQ väärtused olid (aine sisalduse kvantifitseerimise alampiir) vastavalt 0.01 mg/kg ja 0.1 mg/kg ning väetises vastavalt LOQ 0.1 mg/kg ja LOQ 1.0 mg/kg. Mullas ja taimeproovides oli fosetüüli ja fosfoonhappe LOQ väärtused 0.01 mg/kg ja 0.1 mg/kg.

Fosetüül-Al degradeerumine fosfoonhappeks algas mõne tunni jooksul peale taimede pritsimist (Joonis 4). Fosetüüli sisaldus salatilehtedes tuvastati taimede pritsimisele järgnenud päeval, mis oli katse 7. päevaks langenud 80% võrra ja katse 10. päevaks 96% võrra. Alates 1.

päevast kuni 7. päevani näitas fosfoonhappe sisaldus tõusvat trendi salatilehtedes (14% võrra), kuid 10. päevaks alanes fosfoonhappe sisaldus 31% võrra. Fosfoonhappe langustrendi põhjuseks pidasid teadlased taimesisest fosfoonhappe oksüdeerumist, kuigi fosfoonhappe edasist võimalalikku lagunemist etanooliks ja CO_2 –ks katses ei hinnatud (Joonis 5). 1.-7. päeval toimunud fosfoonhappe sisalduse tõusu võib seletada fosetüüli imendumisega lehtede pinnalt.



Joonis 4. Fosetüül-Al, fosetüüli ja fosfoonhappe sisalduste muutus salatilehtedes peale taimede pritsimist fosetüül-Al-ga (Trinchera et al. 2020).

6.4.2. Fosetüüli ja fosfoonhappe akumuleerumine järelkultuurides

Fosetüüli ja fosfoonhappe akumuleerumist taimedesse mullast, tulenevalt pestitsiidiga töödeldud eelkultuuri kasvatamisest samal põllul uuriti aastatel 2009 ja 2010. a. Eksperiment (**katse 2**) teostati neljal erineval põllul, kus eelkultuurina kasvatati salatit (FAO). Salatipõlde pritsiti kolmel korral fosetüüliga 7-13 päevaste intervallide tagant. Kolmekordse pritsimise tulemusena kanti taimelehtedele arvestuslikult 2.26 - 2.33 kg fosetüüli/ha. Nädal aega peale viimast töötlust salatitaimed koristati ning 26-46 päeva hiljem külvati samale põllule uuesti salat, porgand ja teravili (talinisu või –oder). Katse eesmärgiks oli uurida, kas järelkultuurid omastavad fosetüüli ja fosfoonhapet mullast, kus on kasvatatud pestitsiidiga töödeldud taimi?

Fosetüüli ja fosfoonhappe jääksisaldused (Tabel 4) taimedes määrati LC-MS/MS abil. Metoodika väljatöötamisel saadi fosetüüli sisalduse 0.01 – 0.5 mg/kg puhul fosetüüli saagiseks 75 – 104%. Fosfoonhappe saagiseks taimedes, välja arvatud porgandilehtedes, oli sisalduse 0.1 – 5 mg/kg juures 70 – 104%. Porgandilehtedes osutus fosfoonhappe saagis väga varieeruvaks (57 – 157 %). Fosetüüli kvantifitseerimise alampiiriks (LOQ) kujunes 0.0093 mg/kg (välja arvatud söödana varutud teraviljade lehemassis ja õlgedes, kus fosetüüli LOQ oli 0.047 mg/kg). Fosfoonhappe LOQ oli 0.1 mg/kg (välja arvatud jällegi teravilja lehemassis ja õlgedes, kus LOQ oli 0.5 mg/kg).

Teadmata põhjusel tuvastati LOQ-st kõrgem fosfoonhappe sisaldus vaid ühel katsepõllul kasvatatud teravilja terades, mis tähendab, et fosfoonhappe akumuleerumiseks

mullast taime on võimalus olemas. Oluline on aeg, millal fosfoonhape mulda sattus, ja kogus (vt peatükk 6.4.3.). Katse autorid tunnistavad, et ka teistelt põldudelt kogutud viljaterades võis fosetüüli sisaldus olla tegelikust kõrgem.

Tabel 4. Fosetüüli ja fosfoonhappe akumuleerumine järelkultuuridesse mullast peale fosetüüliga töödeldud salatitaimede kasvatamist.

Põllukultuur	Päevade arv [a]	Päevade arv [b]	Uuritav kemikaal	4 katse tulemused (mg/kg)	Keskmine sisaldus (mg/kg)
salatilehed	26 - 46	54 - 141	fosetüül	< 0.0093, < 0.0093, < 0.0093, < 0.0093	< 0.0093
			fosfoonhape	< 0.10, < 0.10, < 0.10, < 0.10	< 0.10
			SUM	< 0.11, < 0.11, < 0.11, < 0.11	< 0.11
porgand, juur	27-38	103-212	fosetüül	< 0.0093, < 0.0093, < 0.0093, < 0.0093	< 0.0093
			fosfoonhape	< 0.10, < 0.10, < 0.10, < 0.10	< 0.10
			SUM	< 0.11, < 0.11, < 0.11, < 0.11	< 0.11
porgand, lehed	27 - 38	103-212	fosetüül	< 0.0093, < 0.0093, < 0.0093, < 0.0093	< 0.0093
			fosfoonhape	< 0.10, < 0.10, < 0.10, < 0.10	< 0.10
			SUM	< 0.11, < 0.11, < 0.11, < 0.11	< 0.11
nisu/oder (viljaterad)	30 - 38	106 - 309	fosetüül	< 0.0093, < 0.0093, < 0.0093, < 0.0093	< 0.0093
			fosfoonhape	< 0.10, < 0.10, 0.21, < 0.10	0.1
			SUM	< 0.11, < 0.11, 0.22, < 0.11	0.11
nisu/oder (loomasööt)	30 - 38	106 - 309	fosetüül	< 0.047, < 0.047, < 0.047, < 0.047	< 0.047
			fosfoonhape	< 0.50, < 0.50, < 0.50, < 0.50	< 0.50
			SUM	< 0.54, < 0.54, < 0.54, < 0.54	< 0.54
nisu/oder (õled)	30 - 38	106 - 309	fosetüül	< 0.047, < 0.047, < 0.047, < 0.047	< 0.047
			fosfoonhape	< 0.50, < 0.50, < 0.50, < 0.50	< 0.50
			SUM	< 0.54, < 0.54, < 0.54, < 0.54	< 0.54

[a] – päevade arv alates salatitaimede viimasest fosetüüliga töötlusest kuni uue kultuuri külvamiseni; [b] – päevade arv peale viimast salatitaimede töötlemist fosetüüliga

Põhjuseks võis olla taimsete proovide säilitamine enne keemilisi analüüse sügavkülmas 444 päeva jooksul (FAO). Väidetavalt püsib fosetüüli sisaldus kõrge veesisaldusega taimedes kuni 12 kuud ning tärkliserikastes toodetes kuni 5 kuud (FAO, Sekiyama et al. 2021). Samas kui fosetüül-Al ja tema laguproduktide summaarne sisaldus, mis hõlmab fosetüüli, fosfoonhappe ja fosfoonhappe soolasid, püsib köögiviljade säilitamisel kuni kaks aastat (Tabel 5) (EFSA 2018; FAO). Seetõttu ei ole põhjust tulemuste õigsuses kahelda.

Tabel 5. Fosetüüli, fosfoonhappe ja nende soolade stabiilsus köögiviljade säilitamisel.

Köögivili		Temp. (°C)	Ainete sisaldus kuudes
kõrge veesisaldus	kurk	-20	25
	kapsas	-18	24
	salat	-18	24
	tomat	-18	24
kõrge proteiinisisaldus	uba	-18	24
kõrge tärklisesisaldus	kartul	-20	25
kõrge happesisaldus	viinamari	-20	25

6.4.3. Taimede fosfoonhappe omastamine mullast

Fosfoonhappe akumuleerumist fosfoonhappega töödeldud mullast redisesse, lehtsalatisse ning odra taimedesse uuriti täiendavalt teiseski katses (**katse 3**). Mullaks oli sidus liivapinnas (mulla algne pH 6.5 ja orgaanilise aine sisaldus 1.9%) (EFSA 2018; FAO). Fosfoonhappe sisaldus mullas (4.9 mg/kg) saavutati fosfoonhappe ja kaaliumhüdroksiidi lahuse pihustamisel mullale. Seejärel muld segati ning jaotati 20 cm läbimõõduga pottidesse, mis tõsteti varju alla välistemperatuurile eesmärgiga lasta mullal vananeda. 32 Päeva pärast toimus odra ja redise seemnete külv ning salatitaimede istutamine. Redise seemnete külv toimus ka 182 päeva peale mulla vananemist. Taimestatud potte hoiti kiletunneli all kuniks taimed olid täiskasvanud ja sobilikud keemilisteks analüüsideks. Salatitaimede analüüs toimus 37. päeval peale taimede istutamist ning redise analüüs 40. päeval peale külvi. Odraterade ja kõrte analüüs toimus 150. päeval peale külvi (Tabel 6). Iga põllukultuuri uurimine sisaldas 2 – 4 taime analüüsi, lisaks olid katsesse kaasatud taimestatud kuid ilma fosfoonhappe sisalduseta mullapotid (kontrollanalüüs).

Tabel 6. Fosfoonhappe akumuleerumine taimedesse fosfoonhappega töödeldud mullast.

Põllukultuur	Päevade arv [a]	Päevade arv [b]	Päevade arv [c]	Fosfoonhappe sisaldus (mg/kg)	Keskmine sisaldus (± SD) (mg/kg)
redis (mugul)	32	40	72	0.58, 1.1, 0.69, 0.8 k [d] - 0.1	0.79 ± 0.22 k – 0.1
	182	40	222	< 0.10 (0.04), < 0.10 (0.02) k - n.a.[f]	< 0.10 (0.03) [e] k – n.a.
redis (lehed)	32	40	72	0.45, 0.3, 0.34, 0.31 k - < 0.10 (0.04)	0.350 ± 0.069 k < 0.10 (0.03)
	182	40	222	0.13, < 0.10 (0.05) k - n.a.	< 0.10 (0.09) [a] k – n.a.
salatilehed	32	37	69	0.67, 0.92, 1.0, 0.45 k - < 0.10 (0.04)	0.76 ± 0.25 k - < 0.10 (0.04)
oder (viljaterad)	32	150	182	0.11, 0.24, 0.1, 0.12 k - 0.10	0.143 ± 0.066 k – 0.10
oder (kõrred)	32	150	182	0.80, 0.48, <0.25 (0.18), <0.25 (0.23) k – 0.19	0.42 ± 0.28 k - < 0.25 (0.19)
muld, vahetult peale töötlemist [g]			0	3.4, 3.7	3.5 [e]
muld, vahetult enne taimede istutamist [g]			32	3.7, 4.1	3.93 [e]
muld (vahetult peale redise ja salati koristust)			72	1.89, 0.62	1.25
muld (vahetult peale odra koristust)			182	0.13, < 0.01	< 0.01

[a] – päevade arv alates mulla töötlemisest fosfoonhappega kuni taimede istutamiseni; [b] - saagi koristamise aeg peale taimede istutamist (päevades); [c] - summaarne päevade arv peale mulla töötlemist fosfoonhappega; [d] – kontrollmõõtmine; [e] – kaks kordusmõõtmist; [f] – fosfoonhappe sisaldust ei olnud võimalik määrata; [g] – ilma taimedeta mullapott.

Fosfoonhappe sisaldused määrati (Tabel 6) gaaskromatograafi ja leekfotomeetrilise detektori abil (GC-FDP). Fosfoonhappe LOQ taimedes oli 0.5 mg/kg. Metoodika sobivust testiti läbi saagise protsendi olles taimedele lisanud 0.1 - 2.0 mg/kg fosfoonhapet. Fosfoonhappe saagiseks redise lehtede analüüsimisel saadi 64%, redise mugulate analüüsimisel 93%, salatilehtede puhul 91%, viljaterade puhul 93% ja odra varte puhul 71%. Lisaks taimedele analüüsiti ka mulda GC-FDP abil. Seda tehti peale fosfoonhappe lisamist ning enne

põllukultuuride külvi/istutamist. Mullaproovides oli fosfoonhappe LOQ 0.1 – 0.2 mg/kg ning fosfoonhappe saagiseks oli 0.1-4.0 mg/kg sisalduse korral 102%.

Katses 3 püsis fosfoonhappe sisaldus mullas vähemalt 32 päeva, 182. päevaks oli tema sisaldus vähenenud määramispiirist madalamale tasemele (Tabel 6). Fosfoonhappe sisaldus taimedes võis järgida fosfoonhappe sisaldust mullas. Fosfoonhappe sisaldus oli kõrge 40. katsepäeval kogutud redistes ja salatitaimedes, kuid jäi alla määramispiiri 182. päeval kogutud redises (Tabel 6). Katse 40. päeval koristatud rediste analüüs näitas, et mugulad sisaldasid rohkem fosfoonhapet kui lehed. Viljaterades võis fosfoonhappe sisaldus jääda määramispiirist (0.5 mg/kg) madalamaks fosfoonhappe sisalduse tõttu mullas, mis võis terade moodustumise ajaks olla langenud liialt madalale (FAO; Trinchera et al. 2020).

6.4.4. Taime fosfoonhappe omastamine juurte ja lehtede kaudu

Katse 4 ja **5** viidi läbi kartuliga ning tomatiga. Eesmärk oli uurida, kas ja mil määral omastab taim fosfoonhapet mullast lisaks taimelehtede pritsimisele fosetüüliga, ning kas fosfoonhappe sisaldus väetises mõjutab fosfoonhappe sisaldust taimes (Trinchera et al. 2020)? Orgaanilise väetistena kasutati hüdrolüüsitud proteiine (HYD), hüdrolüüsitud proteiinide segu koos jahvatatud kivifosfaadiga (HYP+P), granuleeritud kodulinnusõnnikut (PM) ja loomseid saadusi (MM). Pestitsiidideks olid vaskoksiid (Cu_2O), fosetüüli-Al ja kaalimfosfit. **Katses 4** oli mullaks mõõdukalt lubjarikas saviliivmuld (pH 8.1, orgaanilise aine sisaldus 1.51%). Katsepõllul tehti umbrohutõrje käsitsi. Põld koosnes randomiseeritud plokkidest, kus üks katselapp suurusega 28.2 m^2 moodustus 5 reast (25 taime rea kohta). Igat katset korrati kolmes korduses. Taimede kastmine toimus sprinklersüsteemi abil. Fosetüül-Al ja kaaliumfosfit pihustati lehtedele 8 korda ja vaskoksiidi 4 korda. Kogused olid hektarile ümberarvutatult järgmised: fosetüül-Al 8 x 400 g/ha, kaalimfosfit 8 x 1.2 g/ha ning vaskoksiid 4 x 562 g/ha. Mineraalväetisena kasutati kaaliummagneesiumsulfaati. Kartulikatses kasutatud makroelementide, fosfoonhappe ja fosetüüli sisaldused orgaanilistes väetistes ja pestitsiidides on toodud Tabelis 7 (metoodika on kirjeldatud peatükis 6.4.1.).

Tabel 7. Kartulikatses kasutatud makroelementide, fosfoonhappe ning fosetüüli sisaldused orgaanilistes väetistes ja anorgaanilistes taimekaitsevahendites.

Orgaaniline väetis / anorgaaniline taimekaitsevahend	Makroelemendid (kg/ha)			Fosfoonhappe sisaldus (mg/kg)	Fosetüüli sisaldus (mg/kg)
	N	P_2O_5	K_2O		
HYD [a]	120	0	300	< 0.1	< 0.1
HYP+PK	120	180	300	< 0.1	< 0.1
PM	120	90	300	1.8	< 0.1
MM	120	72	300	< 0.1	< 0.1
fosetüül-Al				1800	441
kaaliumfosfit				555	< 0.01
Cu_2O				< 0.1	< 0.01

[a] - hüdrolüüsitud proteiinid (HYD), hüdrolüüsitud proteiinide segu koos jahvatatud kivifosfaadiga (HYP+PK), loomsed saadused (MM), granuleeritud kodulinnusõnnik (PM).

Fosetüüli ja fosfoonhappe sisaldust mullas analüüsiti katse alguses (veebruar 2016), 50. päeval peale mugulate mulda panekut ning 150. päeval, kui toimus kartulite ülesvõtmine. Mullaproov võeti igast katseplokist 0-30 cm sügavuselt. Fosetüüli ja fosfoonhappe sisaldused taimelehtedes ja mugulates analüüsiti katse 105. päeval (Tabel 8) ja 150. päeval.

Tabel 8. Fosfoonhappe ja fosetüüli sisaldus (keskmine ± SD) kartuli lehtedes ja mugulates 105. päeval peale mugulate mulda panemist sõltuvalt taimede töötlemisest väetiste ja anorgaaniliste taimekaitsevahenditega.

Orgaaniline väetis	Anorgaaniline taimekaitsevahend	Lehed		Mugulad	
		fosfoonhape (mg/kg)	fosetüüli (mg kg)	fosfoonhape (mg/kg)	fosetüüli (mg/kg)
		katse 105. päev			
HYD [a]	fosetüül-Al	3.9 ± 1.2 c [b]	0.06 ± 0.02 a	5.5 ± 0.3 c	< 0.01
	kaaliumfosfit	12.8 ± 2.2 **b**	< 0.01 b	10.2 ± 2.2 **b**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 d	< 0.01 b	< 0.1 d	< 0.01
HYD+PK	fosetüül-Al	3.6 ± 1.4 c	0.05 ± 0.02 a	5.6 ± 0.4 c	0.01 ± 0.01
	kaaliumfosfit	11.2 ± 1.3 **b**	< 0.01 b	11.1 ± 1.0 **b**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 d	< 0.01 b	< 0.1 d	< 0.01
MM	fosetüül-Al	4.6 ± 0.6 c	0.06 ± 0.02 a	5.8 ± 0.1 c	0.01 ± 0.01
	kaaliumfosfit	11.3 ± 1.3 **b**	< 0.01 b	9.8 ± 2.1 **b**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 d	< 0.01 b	< 0.1 d	< 0.01
PM	fosetüül-Al	4.7 ± 0.2 c	0.04 ± 0.01 a	7.2 ± 1.2 c	0.01 ± 0.01
	kaaliumfosfit	15.4 ± 0.4 **a**	< 0.01 b	12.7 ± 0.7 **a**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 d	< 0.01 b	< 0.1 d	< 0.01
org. väetise mõju		$P < 0.05$	ns	$P < 0.05$	ns
anorg. taimekaitsevahendi mõju		$P < 0.001$	$P < 0.05$	$P < 0.001$	ns
org. väetise ja anorg. taimekaitsevahendi koosmõju		$P < 0.05$	ns	$P < 0.05$	ns
		katse 150. päev			
HYD [a]	fosetüül-Al	5.3 ± 1.7 b	0.02 ± 0.02	5.9 ± 0.5 b	< 0.01
	kaaliumfosfit	10.2 ± 1.4 **a**	0.01 ± 0.01	9.8 ± 1.9 **a**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 c	< 0.01	< 0.1 c	< 0.01
HYD+PK	fosetüül-Al	4.8 ± 0.3 b	0.01 ± 0.01	5.7 ± 1.2 b	< 0.01
	kaaliumfosfit	12.8 ± 1.7 **a**	< 0.01	9.7 ± 0.7 **a**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 c	< 0.01	< 0.1 c	< 0.01
MM	fosetüül-Al	5.7 ± 0.9 b	< 0.01	5.5 ± 0.4 b	< 0.01
	kaaliumfosfit	8.2 ± 2.1 **a**	< 0.01	10.5 ± 1.6 **a**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 c	< 0.01	< 0.1 c	< 0.01
PM	fosetüül-Al	6.2 ± 3.0 b	0.01 ± 0.01	7.2 ± 1.2 b	< 0.01
	kaaliumfosfit	11.5 ± 3.6 **a**	< 0.01	6.7 ± 0.6 **a**	< 0.01
	Cu_2O	< 0.1 c	< 0.01	< 0.1 c	< 0.01
org. väetise mõju		ns	ns	ns	ns
anorg. taimekaitsevahendi mõju		$P < 0.001$	ns	$P < 0.001$	ns
org. väetise ja anorg. taimekaitsevahendi koosmõju		*ns*	ns	*ns*	ns

[a] - hüdrolüüsitud proteiinid (HYD), hüdrolüüsitud proteiinide segu koos jahvatatud kivifosfaadiga (HYP+PK), loomsed saadused (MM), granuleeritud kodulinnusõnnik (PM); [b] – statistiline erinevus tulba ulatuses, $P < 0.05$.

Katses 5 hinnati fosfoonhappe omastamist sõltuvalt fosfoonhappe sisaldusest suhkruroomelassis. Katse viidi läbi kahes kasvuhoones kasvavate tomatitaimedega 2016. (Trinchera et al. 2020). Kasvuhoonealane pind (60 x 170 m) jaotati 37-ks vaoks, igale vaole

vastas 276 m^2 suurune maa-ala. Enne taimede istutamist töödeldi esimeses kasvuhoones muld granuleeritud kodulinnusõnnikuga (PM, 2000 kg/ha) ja jahvatatud kivifosfaadiga (PK, 450 kg/ha). Teises kasvuhoones väetamist ei toimunud. 7cm kõrgused tomatitaimed ("Datterino" Seminis®, var. Cikito) istutati 0.8 m vahedega kasvuhoonetesse (1200 taime vao kohta, 4800 taime kasvuhoone kohta). Kasvuhoones, kus oli väetatud muld, töödeldi taimi viljade moodustamise ajal vedelväetisega (2% Cu-Zn, 1 x 200 kg /ha) ja suhkruroomelassiga (SM, 5 x 150 kg/ha).

Kartulikatses (**katse 4**, Tabel 8) leiti fosetüül-Al töötlemise tulemusena taimede noortest lehtedest fosetüüli, mis katse 45. päevaks oli degradeerunud fosfoonhappeks. Katse 105. päevaks oli fosetüül-Al degradeerumisest lehtedesse jäänud 3.6 – 4.7 mg/kg fosfoonhapet ja 0.04 – 0.06 mg/kg fosetüüli. Sama katsepäeva mugulad sisaldasid 5.5 – 7.2 mg/kg fosfoonhapet ja 0.01 mg/kg fosetüüli. Madal fosetüüli sisaldus mugulates näitab, et lehtedest mugulatesse fosetüüli transporti ei toimunud. Katse 150.päevaks oli fosfoonhappe sisaldus lehtedes tõusnud 4.8 - 6.2 mg/kg, mugulates muutust ei toimunud (5.5 – 6.7 mg/kg). 105. ja 150. Katsepäeval kogutud mullaproovidest fosfoonhapet ei tuvastatud, mis autorite arvates võis tuleneda fosfoonhappe oksüdeerumisest mikroorganismide poolt. Fosfoonhape sisaldused varieerusid lehtedes ja mugulates sõltuvalt pestitsiidi doosist. Orgaanilistest väetistest sisaldas kodulinnusõnnik fosfoonhapet koguses, mis ületas kahekordselt tema kvantifitseerimispiiri väetistes (vastavalt 1.8 mg/kg ja 1.0 mg/kg) (Tabel 7).

Katse 105. päeval sisaldasid kartulilehed ja mugulad kodulinnusõnniku ja kaaliumfosfiti kombineeritult kasutamise tulemusena märkimisväärselt rohkem fosfoonhapet kui seda oli hüdrolüüsitud proteiinide või loomsete saadusete ja kaaliumfosfiti kasutamisel. See näitab fosfoonhappe omastamist lisaks lehtede töötlemisele ka juurte kaudu. Kartuli koristamise päevaks (150. katsepäev) kodulinnusõnniku ja kaaliumfosfiti kasutamisel fosfoonhappega seotud erinevust enam ei olnud.

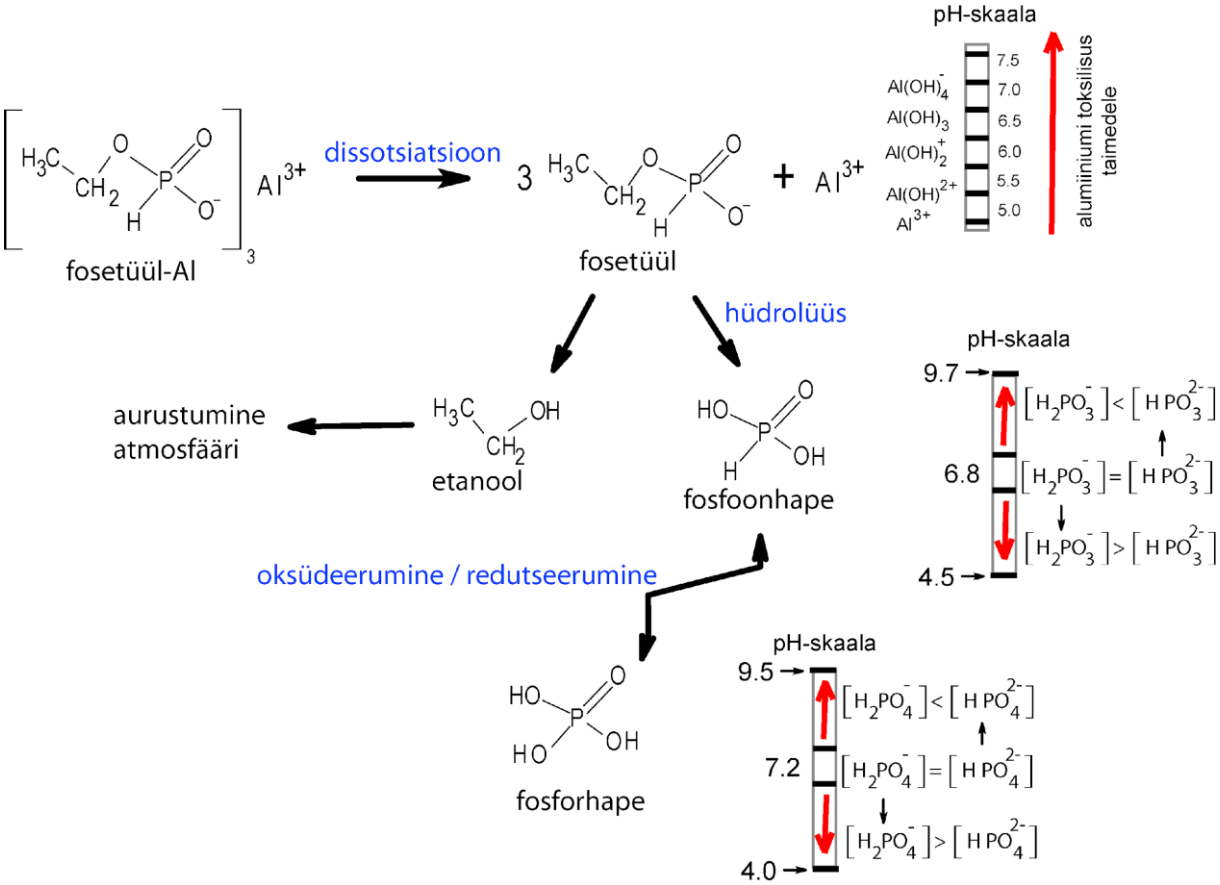
Katses 5 ei tuvastatud fosetüül-Al või fosfoonhapet kummagi kasvuhoone mullas, taimede lehtedes ega viljades (fosetüül-Al sisaldus < 0.01 mg/kg, fosfoonhappe sisaldus mullas < 0.1 mg/kg). Vaatamata sellele, et ühes kasvuhoones töödeldi taimi viiel korral fosfoonhapet sisaldava suhkruroomelassiga, ei leitud fosfoonhapet taimedest. Põhjuseks oli madal fosfoonhappe sisaldus melassis. Kasvuhoones oli 4800 taime ning melassi summaarne kogus, mis taimedele anti, oli arvestuslikult 750 kg/ha. Iga taim sai 0.15 g melassi. Fosfoonhappe sisaldus melassis oli 1.1 mg/kg, mis teeb 0.17 mg fosfoonhapet iga taime kohta nende kasvuperioodil. Fosfoonhappe piirnormiks, millest alla poole ei ole tegemist fosfoonhapet sisaldava orgaanilise väetisega, on 2 mg/kg (Trinchera et al. 2020).

Järeldus. 5 erineva katse tulemustest võib järeldada, et taim omastab fosfoonhappe mullast, kuid akumuleerunud kogus sõltub mulda viidud fosfoonhappe kogusest ning ajast, millal väetamine toimus. See, kui kaua aine mullas püsib sõltub mulla omadusest (vt peatük 7.4.). Taimede pritsimisel toimub märkimisväärne langus nii fosetüül-Al kui fosetüüli kogustes esimese nädala jooksul, kuid selle laguprodukt fosfoonhape püsib taimes. Fosfoonhappe kogus varieerub erinevates taimeosades ja erinevates taimeliikides. Muuhulgas koguneb fosfoonhape viljateradesse ja mugulatesse. Tatrateradest leitud fosfoonhappe sisalduste võrdlemine varasemate tulemustega (**katse 1-5**) viitab, et juhul kui taimed ei olnud pestitsiididega pritsitud, pidi fosfoonhape sisaldus mullas seemnete moodustamise ajal olema piisavalt kõrge.

7. Fosetüül-Al, fosetüüli ja fosfoonhappe püsivus keskkonnas

Mulda sattudes laguneb fosetüül-Al fosetüüliks, mis omakorda hüdrolüüsub fosfoonhappeks ja etanooliks (Joonis 5). Mikroorganismide kaasabil või keemiliste protsesside tulemusena oksüdeerub fosfoonhape fosforhappeks. Kuid võimalik on ka vastupidine protsess, kus fosforhape redutseerub fosfoonhappeks. Hapete anioonide ja alumiiniumi ioonide kontsentratsioon mullas sõltub mulla pH-st. Fosforhappe anioonide ($H_2PO_4^{2-}$- ja HPO_4^-) sisalduste vahel valitseb tasakaal pH 7.2 juures. pH tõusmisel HPO_4^- -anioonі sisaldus mullalahuses suureneb ja $H_2PO_4^{2-}$ sisaldus väheneb. pH vähenemisel vastupidiselt $H_2PO_4^{2-}$ -sisaldus suureneb ja HPO_4^- -anioonide sisaldus väheneb. Fosfoonhappe anioonide sisalduste vahel valitseb tasakaal pH 6.8 juures. Sellest madalama pH puhul on mullalahuses $H_2PO_3^{2-}$ -anioonide ülekaal ning 6.8-st kõrgema pH suunas vastavalt HPO_3^- -anioonide ülekaal (Havlin and Schlegel 2021).

Seoses fosfoonhappe tuvastamisega mahetoodetes on küsimus tema anioonide ja fosetüüli-Al püsivusega aeroobsetes/anaeroobsetes tingimustes seoses mulla lõimise, pH, temperatuuri ja sorptsiooni/adsorptsiooni soodustavate faktorite varieerumisega.



Joonis 5. Mullas toimuv fosetüül-Al lagunemine fosfoonhappeks, mis sõltuvalt mikroorganismidest oksüdeerub fosforhappeks. Hapete anioonide ja fosetüüli lagumisel tekkivate alumiiniumiioonide kontsentratsioonid varieeruvad koos mulla pH-ga.

7.1. Fosetüül-Al püsivus vesikeskkonnas

Fosetüül-Al hüdrolüüsumise uurimisel on piirdutud laboratoorsete katsetega. pH Varieerumine vesilahustes, kus fosetüül-Al kontsentratsioon oli 10 mg/L või 200 mg/L, saavutati tsitraatpuvhriga (pH 3; 5 ja 6) ning boraatpuhvriga (pH 8 ja 9) (Tabel 9) (FAO). Lahuseid inkubeeriti (soojendati) pimedas 70 ºC või 22 ºC juures 33 päeva jooksul mõõtes etteantud katsepäevadel fosetüül-Al protsentuaalset saagist gaaskromatograafiliselt leekfotomeetrilise detektori (GC-FPD) abil.

Lahuses, kus pH varieerus 8 – 9, püsis fosetüül-Al sisaldus sõltumata temperatuurist stabiilne. 20 ºC ja pH 5 - 6 juures aine hüdrolüüsumise kiirus mõnevõrra tõusis. Euroopa Toiduohutusamet kinnitab fosetüül-Al hüdrolüütilist stabiilsust pH 5, 7 ja 9 juures, kuigi dr. Schilder Michigani ülikooli taimepatoloogia osakonnast märgib aine püsivust juba pH 4 juures (EFSA 2005; Schilder 2008). Vaatamata temperatuuri varieerumisele hüdrolüüsus fosetüül-Al täielikult vaid madalama kontsrentratsiooniga ja kõige madalama pH-ga lahuses vähem kui 35 päevaga (FAO). Põhjus, miks sama madala pH-ga kuid kõrgema fosetüül-Al kontsrentratsiooniga lahuses aine sisaldus püsis, jääb selgusetuks. Teada on vaid see, et päikesevalguse toimel fosetüül-Al lagunemist ei toimu (EFSA 2005; Micó et al. 2014).

Tabel 9. Fosetüül-Al saagis (%) lahuste inkubeerimise tulemusena pH 3, 5, 6, 8 ja 9 ning 22 ºC või 70 ºC juures pimedas.

pH	Inkubeerimise aeg (päevades)						Inkubeerimise aeg (päevades)				
	0	2	4	7-8	14-16	28-33	0	5	8	20	33
	10 mg fosetüül-Al/L , 70 ºC juures						*200 mg fosetüül-Al/L , 70 ºC juures*				
3	100	59	46	12.5	< 2	< 2	91.5	59	38.5	5.5	< 2
5	-	-	-	-	-	-	98	96	91	95.5	81.5
6	113	104	103	100	103	100	100.5	101	94	106	101.5
8	-	-	-	-	-	-	108	106	102	116	107
9	100	94.5	107	103	107	103	108	103.5	100.5	111.5	102
	10 mg fosetüül-Al/L, 20 ºC juures						*200 mg fosetüül-Al/L, 20 ºC juures*				
3	100	-	-	42.5	12	< 2	103.5	-	97.5	104	101
5	-	-	-	-	-	-	96.5	-	87.5	89	84.5
6	113	-	-	112	101	92	98.5	-	93	99.5	94
8	-	-	-	-	-	-	103.5	-	99	108	106
9	100	-	-	85	110	125	105	-	98.5	106.5	104.5

Erinevalt steriilsest vesilahusest toimub pinnavees fosetüül-Al biolagunemine (75% ulatuses 28 päeva jooksul) fosetüüliks, mis mineraliseerub 73% ulatuses 100 päevaga. Sarnaselt steriilsele vesilahusele sõltub pinnavees fosetüül-Al lagunemiskiirus tema kontsentratsioonist (Tabel 10) (EFSA 2018). Fosetüül-Al kogunemine vesilahusest setetesse ei ole leidnud kinnitust (EFSA 2005). Fosetüüli poolestusajad, so aine kogus, mis kulub aine koguse vähenemiseks 50 või 90% võrra (DT_{50} ja DT_{90}), pinnavees on vastavalt 3.75 - 4.3 päeva ja 12.5 – 14.2 päeva ning kokkuarvutatult pinnavee ja sete puhul vastavalt 3.9 – 4.5 päeva ja 12.9 – 14.8 päeva. Peamine produkt, mis tekib fosetüül-Al hüdrolüüsumisel on etanool ning sellele lisaks tekib fosfoonhape (Joonis 5).

Tabel 10. Fosetüül-Al hüdrolüüs pinnavees.

Vesilahus	Katse tingimused	DT_{50} / DT_{90} [a]	Poolestusaja arvutamise meetod [b]
madal fosetüül-Al kontsentratsioon	20 °C, pH 8	6.9 / 23	SFO
kõrge fosetüül-Al kontsentratsioon	20 °C, pH 8	7.6 / 25	SFO

[a] – aeg, mis on vajalik aine koguse vähenemiseks 50 või 90% võrra; [b] - *Single First-Order Rate Model* – poolestusaja arvutamine esimest järku reaktsiooni põhjal

7.2. Fosfoonhappe oksüdeerumine nii laboratoorsetes kui looduslikes tingimustes

Valguse puudumisel varieeruva pH-ga steriilses vesilahuses püsib fosfoonhappe kontsentratsioon stabiilsena (Tabel 11) (EFSA 2018; FAO). Vastav eksperiment viidi läbi lahusega (200 mg/L), kus pH varieeruvus saavutati tsitraat- (pH 4), atsetaat- (pH 5), TRIS- (pH 7) või boraatpuhvri (pH 9) lisamisel vesilahusele. Saadud lõpplahuseid inkubeeriti pimedas 25 °C juures 31 päeva jooksul. Fosfoon- ja fosforhappe sisaldused (Tabel 11) määrati anioonvahetusega kõrgsurve-vedelikkromatograafi (HPLC) abil. Fosfoonhappe struktuur identifitseeriti tuumamagnetresonantsi (NMR) abil.

Tabel 11. Fosfoonhappe saagis (%) lahuses peale lahuse inkubeerimist 25 °C juures pimedas.

pH	Keemiline komponent	Lahuste (200 mg/L) inkubeerimise aeg (päev)					
		0	3	7	12	20	31
4	fosfoonhape	94.9	92.4	94.2	91.8	98.6	99.2
	fosforhape	2.1	2.9	3.8	5.5	4.4	3.1
5	fosfoonhape	94.7	94.5	99.9	93.2	98.3	98.3
	fosforhape	0	2.6	0	0	0	1.1
7	fosfoonhape	99.9	95.0	99.2	99.4	100.6	102.2
	fosforhape	2.3	1.4	1.4	2.8	3.5	3.1
9	fosfoonhape	95.7	92.0	94.8	93.4	98.5	97.1
	fosforhape	1.7	0	0	0	1.4	1.2

Valguse puudumisel mõõdeti katses fosforhappe sisalduseks kuni 6%, kuid kindlat tõusvat trendi fosforhappe sisalduse suurenemisel ajas ei olnud (FAO). Fotolüüs (aine lagunemine vesilahuses valgus toimel) toimub vaid titaaniumoksiidi juuresolekul (EFSA 2005). Steriilses vesikeskkonnas on fosfoonhappe fotolüüsi DT_{50} -väärtuseks märgitud 35 päeva, looduslikus vesikeskkonnas on tema fotolüüs mõnevõrra aeglasem (77 päeva) (EFSA 2018).

Looduslikus vesikeskkonnas on fosforhappe -, fosfoonhappe- ja hüpofosforishappe anioonide omavaheline transformatsioon seotud mikroorganismidega (Pasek et al. 2014). Ehkki fosfoonhappe oksüdeerumine fosforhappeks *Escherichia coli* kaasabil üle pürofosfaadi on teada, ei anna see täit ülevaadet pinnavees toimuva kohta (Kamat et al. 2011; Pasek et al. 2014). Ajavahemikul 2012-2013 kogutud Florida veeproovides uuriti näiteks fosfoonhappe anioonide (HPO_3^{2-}), hüpofosforishappe anioonide ($H_2PO_2^-$) ja fosforhappe anioonide (PO_4^{3-}) sisaldust ja nende seost vesikeskkonna redokspotentsiaali (E_h) ja pH-ga (Pasek et al. 2014). Veeproovid koguti kahe jõe peale kokku 6-st piirkonnast, neis kummastki omakorda kahest

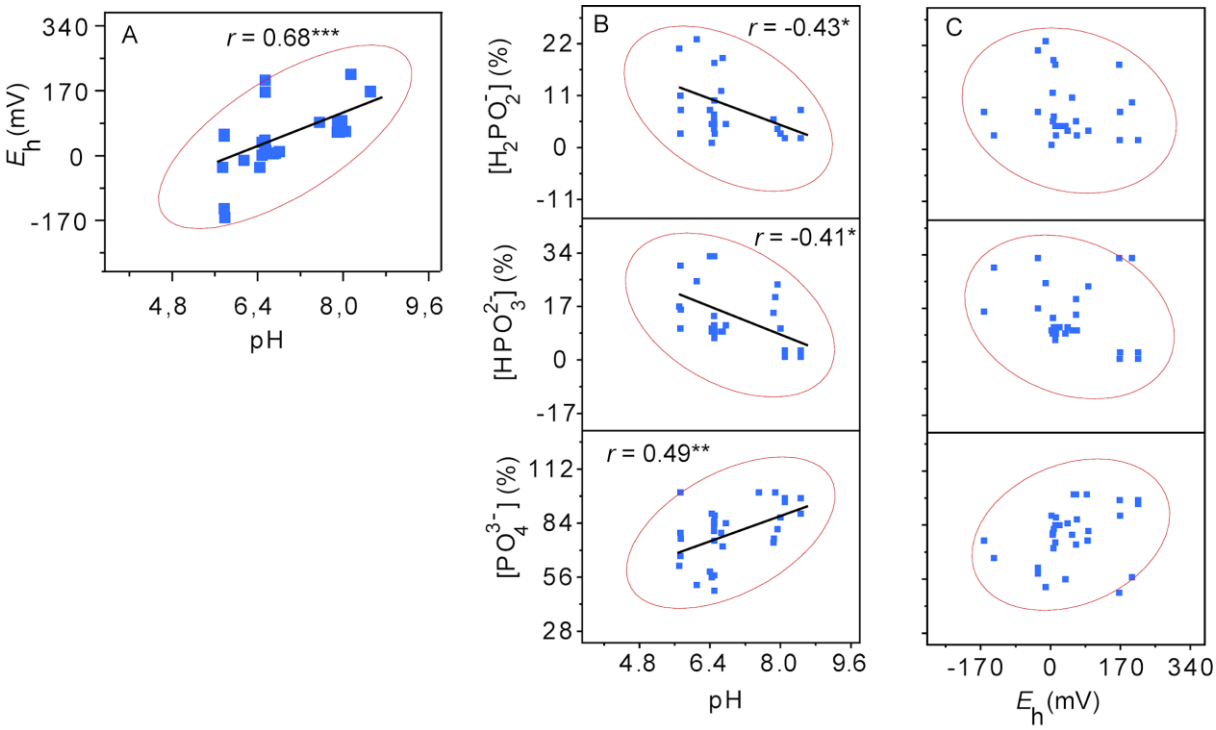
teineteisest umbes 5m kaugusel olevast proovivõtmise kohast (Tabel 12). Proovid koguti nii veepinnalt ja ka põhjapinnasest (bentaalist), sealhulgas sügavuselt, mis oli võrreldav põhjaveekihiga. Proovide kogumiseks löödi metallvarrastega varustatud PVC-toru veekogu põhja ja kui sügavus oli piisav, eemaldati metallvardad ja võeti veeproovid. Koheselt mõõdeti veeproovides temperatuur, pH ja E_h.

Tulemustest (Tabel 12) selgus, et anaeroobses keskkonnas oli E_h- ja pH väärtuste vahel positiivne lineaarne seos (Joonis 6A). Enamus vees lahustunud fosforist esines küll fosfaatanioonina, kuid veeproovides, mis olid pärit aeglase veevooluga piirkonnast, moodustas redutseerunud fosforanioonide ($H_2PO_2^-$ ja HPO_3^{2-}) sisaldus kogu fosfori sisaldusest kuni 50%, kusjuures põhjavee tasemelt võetud proovides oli redutseerunud ühendite sisaldus kõrgem (Pasek et al. 2014). Lisaks täheldati negatiivset seost pH-väärtuste ja $H_2PO_2^-$ - või HPO_3^{2-}-anioonide suhtelise sisalduse vahel, kuid positiivset seost pH ja PO_4^{3-}-anioonide sisalduse vahel (Joonis 6B). E_h-väärtusete ja dissotsieerunud fosfori anioonide sisalduste vahel seos puudus (Joonis 6C). Seega kokkuvõtlikult, mida madalam oli anaeroobse keskkonna pH ja E_h, seda suurem oli redutseerunud anioonide sisaldus ning mida kõrgem oli pH, seda kõrgem oli PO_4^{3-}-anioonide sisaldus. Fosforit sisaldavate anioonide keemiline muundumine toimus mikroorganismide kaasabil. Anaeroobses keskkonnas suurenes fosfoonhappe ja hüpofosforishappe sisaldus fosforhappe redutseerumise arvelt (Joonis 7A ja 7B) (Pasek et al. 2014).

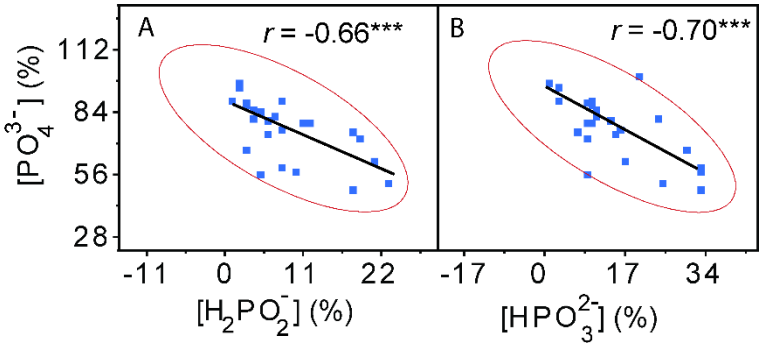
Tabel 12. Florida veeproovide määratud redokspotentsiaal (E_h) ja pH (Pasek et al. 2014).

Proovivõtmise asukoht, proovi nimetus	Proovivõtmise sügavus, cm	E_h (mV)	pH	Proovivõtmise asukoht, proovi nimetus	Proovivõtmise sügavus, cm	E_h (mV)	pH
River Front Park 28° 4' 12.25" N, 82° 22' 39.41" W				Pemberton Creek Retention Pond 28° 2' 4.74" N, 82° 15' 30.71" W			
A1 [a]	0	213	8.1	A1	0	167	6.5
A2	15	213	8.1	A2*	15	−31	6.4
A3*	35	-		B1	0	195	6.5
B1	0	169	8.46	B2*	17	−12	6.1
B2	20	168	8.46				
B3*	41	-	-				
Pithalachascotee River 28° 14' 26.15" N, 82° 40' 29.52" W				Muck Pond 28° 13' 44.27" N, 82° 42' 83" W			
A1	0	8	6.49	A1	0	22	6.51
A2*	24	2	6.44	A2	18	41	6.49
B1	0	6	6.49	A3*	36	36	6.44
B2	22	11	6.5	B1	0	11	6.76
B3*	44	13	6.51	B2	20	7	6.69
				B3*	41	5	6.65
Hillsborough River 28° 1' 14.14" N, 82° 27' 13.94" W				River Front Swamp 28° 4' 12.81" N, 82° 22' 51.73" W			
A1	0	64	8	A1	0	−138	5.73
A2	20	62	7.88	A2*	10	−162	5.74
A3*	39	62	7.84	B1	0	56	5.73
B1	0	92	7.93	B2	9	52	5.73
B2	14	90	7.85	B3*	19	−31	5.7
B3*	28	88	7.51				

´*´ - põhjavee tasemelt kogutud proov, [a] - A ja B tähistavad erinevaid proovivõtmise kohti.



Joonis 6. Redokspotentsiaali (E_h) ja pH (A), pH ja fosforit sisaldavate anioonide (B) ning E_h ja fosforit sisaldavate anioonide (C) vaheline seos erinevalt sügavuselt kogutud veeproovides. *r* – regressioonikordaja, *P* – statistilise olulisuse tähis (* - $P < 0.05$; ** - $P < 0.01$). Tulemused avaldatud artiklis (Pasek et al. 2014).



Joonis 7. Hüpofosforishappe - ($H_2PO_2^-$) ja fosforhappe anioonide (PO_4^{3-}) (A) ning fosfoonhappe - (HPO_3^{2-}) ja fosforhappe anioonide (PO_4^{3-}) (B) sisalduste vahel valitsev seos erinevalt sügavuselt kogutud veeproovides. *r* – Regressioonikordaja, *P* – statistilise olulisuse tähis (*** - $P < 0.001$). Tulemused avaldatud artiklis (Pasek et al. 2014).

7.3. Fosetüül-Al degradeerumine aeroobses keskkonnas

Fosetüül-Al degradeerumine mullas varieerub sõltuvalt mulla omadustes (Tabel 13, 14). Mullaeksperimente on tehtud mitmeid sealhulgas ^{14}C-ga märgistatud fosetüül-Al ([1-etüül-^{14}C]-fosetüül-Al) kaasabil (FAO).

Tabel 13. Fosetüül-Al biodegradatsiooni katses kasutatud mullad

Mulla karakteristikud	Keskmine muld	Raske muld	Kerge muld	Kerge muld
	saviliiv	raske liivsavi	sidus liiv	tolmjas saviliiv
liiv (50 - 2000 µm), %	62.3	34.0	81.2	15.2
mullaosakeste fraktsioon (2 - 20 µm) %	20.2	27.6	13.8	55.3
savi (< 2 µm), %	13.6	37.5	3.1	23.0
pH	5.3	7.6	6.6	6.6
orgaanilise aine sisaldus, %	3.6	2.6	1.3	2.3
orgaanilise süsiniku sisaldus [a], %	2.1	1.5	0.8	1.3

[a] - arvutuslik tulemus, mis on saadud orgaanilise aine sisalduse jagamisel 1.72-ga

Fosetüül-Al vesilahust tilgutati mullaproovidele, kuni fosetüül-Al sisaldus vastas 100 mg/kg pinnase kuivmassi kohta. Seejärel inkubeeriti mullaproove 20 ^{o}C juures aeroobsetes tingimustes pimedas kuni 16 tunni jooksul. Mullaproovide (2.5 g) aereerimine niiske õhuga toimus klaaskolbides, mis olid omakorda ühendatud püünisega radioaktiivsete lenduvate ühendite jaoks. Liivsavi ja saviliiv proovide puhul lisati alates seitsmendast inkubeerimise tunnist katseskeemi täiendav kontsentreeritud väävelhapet sisaldav ´püünis´.

Tabel 14. [1-etüül-^{14}C]-fosetüül-Al degradeerumise kiirus 20 ^{o}C juures erineva lõimisega muldades.

Keemiline komponent	Muld	^{14}C-ga märgistatud aine kogus (%)					
		0 h	0.75 – 1 h	1.5 h	3h	7h	15 – 16 h
Ekstraheeritud ainete sisaldused							
fosetüül-Al	saviliiv	97	17	1.2	-	-	-
	raske liivsavi	95	64	-	21	4	-
	sidus liiv	97	63	41	17	-	-
	tolmjas saviliiv	98	60	36	5	-	-
etanool	saviliiv	<1	73	78	48	5	-
	raske liivsavi	1	27	-	43	6	-
	sidus liiv	-	30	39	44	-	-
	tolmjas saviliiv	-	25	44	46	-	-
fosforit ja ammooniumit sisaldavad soolad [a]	saviliiv	2.2	1.8	2.5	3.4	8.9	9.5
	raske liivsavi	1.7	1.8	-	2.6	6.3	5
	sidus liiv	-	-	-	-	-	-
	tolmjas saviliiv	-	-	-	-	-	-
CO_2	saviliiv	-	0.4	1	2.2	6.3	9.4
	raske liivsavi	-	0.7	-	3.2	12.1	19.6
	sidus liiv	-	-	-	-	-	-
	tolmjas saviliiv	-	-	-	-	-	-

[a] – ainete sisaldus, mis esines ammooniumhüdroksiidi ekstraktides.

Radioaktiivsete lenduvühendite sisaldust kontrolliti vedelik stsintillaatori abil (LSC). $^{14}CO_2$ koguse arvutamisel lähtuti summaarsest ^{14}C-ga märgistatud ainete kogusest mullaproovides ning summaarsest ^{14}C-ga märgistatud ekstraheeritud ainete kogusest. Mullaproovid ekstraheeriti järjestikku väävelhappega, ammooniumhüdroksiidiga, metanooliga ning lõpuks etüülatsetaadiga. Ekstraktide radioaktiivsust hinnati LSC abil, lisaks analüüsiti proovid kiirgusdetektoriga varustatud pöördfaas-vedelikkromatograafi abil. Ekstraheerimata jäänud ühendid kvantifitseeriti põletamise teel, millele järgnes LSC.

Valguse puudumisel lagunes fosetüül-Al tundidega (Tabel 14, Tabel 15, Joonis 5). Mulla lõimiste ja pH varieerumine ei mõjutanud fosetüül-Al aeroobset degradeerumist (EFSA 2005; EFSA 2018; FAO).

Tabel 15. Fosetüül-Al aeroobse biodegradatsiooni poolestusajad erineva lõimisega muldades.

	Muld	pH, T (°C)	DT_{50} (päev)	DT_{90} (päev)	Poolestusaja määramise meetod
Katse 1	saviliiv	5.3, 20	0.01	0.04	SFO[a]
	sidus liiv	6.6, 20	0.05	0.16	SFO
	tolmjas saviliiv	6.6, 20	0.05	0.17	SFO
	raske liivsavi	7.6, 20	0.06	0.2	SFO
Katse 2	raske liivsavi	6.9, 20	0.01	0.05	SFO
	sidus liiv	5.4, 20	0.01	0.03	SFO

[a] – *Single First-Order Rate Model* – poolestusaja arvutmine esimest järku reaktsiooni põhjal

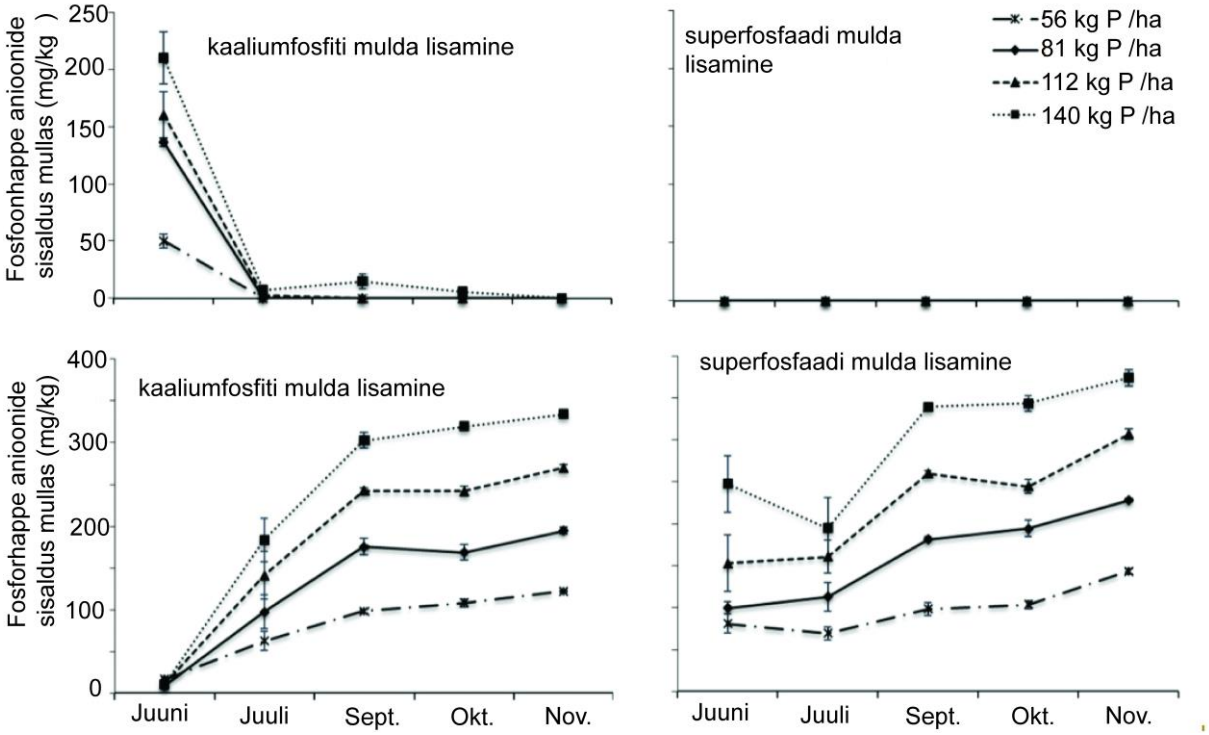
Anaeroobses mullas 20 °C on fosetüül-Al DT_{50} –väärtuseks mõõdetud < 1-1.7 päeva (EFSA 2005).

7.4. Fosfoonhappe oksüdeerumine aeroobses pinnases

Fosfoonhappe oksüdeerumine varieerub erinevates muldades ja ka mullatüübilt sarnases pinnases, mis viitab mikroorganismide koosluse/aktiivsuse varieerumisele muldades. Näiteks kõrreliste (valge kastehein *Agrostis stolonifera* ja karjamaa raihein *Lolium perenne*) põldkatses uuriti fosfaat- ja fosfoonhappe anioonide sisalduste muutust mullas (Joonis 8) (Chang and Guertal 2023). Eksperimendi teostamiseks pandi 500g niisket mulda (P 2 mg/kg, K 36.5 mg/kg, Ca 464 mg/kg, Mg 35.5 mg/kg ning pH 6.5) suletavatesse plastiktorudesse (17 x 15 x 13 cm), millesse segati fosforit sisaldavad kemikaalid (superfosfaat või kaaliumfosfit). Suletud torud asetati taimekasvukambrisse 21 °C juurde. Igal järgneval nädalal stimuleeriti õhuvahetust torude avamise ja sulgemisega. Peale 20 päeva pikkust inkubeerimist alustati mullaproovide analüüsidega. 5g mulda ekstraheeriti Mehlich 1 metoodika järgi ja fosforanioonide sisaldus määrati ioonkromatograafia abil.

Tulemustest selgus, et sidusliiva lõimisega pinnases kulus fosfoonhappe oksüdeerumiseks vaid kuu aega. Mullaproovid sisaldasid fosfaatanioone vaid juhul, kui mulda oli eelnevalt töödeldud kas fosfaadi- või fosfitipõhise kemikaaliga. Katse algas juunis ja juba

järgmisel kuul sisaldas muld fosfaatanioone. Viimaste sisalduse tõus jätkus kogu taimede kasvuhooaja vältel (Chang and Guertal 2023).



Joonis 8. Fosfoonhappe - ja fosforhappe anioonide kontsentratsioon mullas taimede kasvuperioodil peale mulla töötlemist kaaliumfosfiti või superfosfaadiga. Fosforühendite sisaldus mullas varieerus 56, 81, 112 ja 140 kg/ha (Chang and Guertal 2023).

Fosfoonhappe lühikest poolestusaega teatud tüüpi pinnases kinnitab teinegi katse, kus uuriti fosfoonhappe lagunemist laboratoorsetes tingimustes erineval temperatuuril ja valguse tugevusel (FAO). Selleks hoiti mulda (katse 1 ja katse 2), mis sisaldas 4 mg/kg fosfoonhapet, pimedas (kontrollkatse) ja päikevalgust imiteerivate lampide all (490 või 602 W/m^2) temperatuuril 22-30 ^{o}C 21 või 45 päeva (Tabel 16). Fosfoonhappe ekstraheerimiseks mullast kasutati amooniumpuhvrit ning isopropanooli, peale mida fosfoonhape derivatiseeriti trimetüülsilüüldiasometaaniga ning analüüsiti GC-FPD abil.

Tabel 16. Fosfoonhappe sisalduse vähenemine mullas valguse toimel juures pimedas.

Tingimused		Töötlus	Fosfoonhappe jääk pinnases (mg/kg)					
			Inkubeerimine päevades					
			0	*1*	*3*	*7*	*15*	*21*
Katse 1	30 ^{o}C	valgus (602 W/m^2)	4.6	3.9	3.6	3.5	2.6	2.2
		pimekatse	4.6	-	3.7	3.6	3.1	3.3
			0	*7*	*15*	*20*	*30*	*45*
Katse 2	mulla pH 6.6, OM[a] 9.9%,	valgus (490 W/m^2)	4.7	3.4	3.0	2.3	1.6	1.0
	22 ^{o}C, LOQ[b] = 0.1 mg/kg	pimekatse	4.7	3.9	3.6	2.7	2.1	2.6

[a] – orgaanilise aine sisaldus, [b] - fosfoonhappe sisalduse kvantifitseerimise alampiir.

Vaatamata erinevale valgusrežiimile (490 või 602 W/m^2) ja temperatuurile vähenes mõlemas katses fosfoonhappe kontsentratsioon 21. päevaks 52-53% võrra (FAO).

Põhjalikumad uuringud näitavad, et fosfoonhappe oksüdeerumise kiirus varieerub erineva lõimisega muldades (Tabel 17 ja 18) (FAO).

Tabel 17. Fosfoonhappe biodegradatsiooni katses kasutatud mullad.

Mulla karakteristikud	Kerge muld	Raske muld	Keskmise raskusega muld	
	tolmjas saviliiv	raske liivsavi	saviliiv A	saviliiv B
liiv (%)	25	29	53	77
tolmjate osakeste fraktsioon (%)	61	39	31	15
savi (%)	14	32	16	8
pH	6.4	7.3	5.3	6.5
orgaanilise aine sisaldus, %	2.8	7.4	2.8	2.1
orgaanilise süsiniku sisaldus [a], %	1.6	4.3	1.6	1.2
mikrobioloogiline biomass (mg C/100 g mullas)				
DAT-0 [b]	450	1250	537	382
DAT-117 [c]	497	892	436	405

[a] - arvutuslik tulemus, mis on saadud orgaanilise aine sisalduse jagamisel 1.72-ga; DAT-0 mikrobioloogiline biomass 0. päeval; DAT-117 mikrobioloogiline biomass 117. päeval

Kõik katses osalenud mullad olid Euroopa päritolu ning neid uuriti aeroobsetes tingimustes 20 ^{o}C juures niiskusrežiimil, mis oli maksimaalsest veemahutavusest 50%. 100 g muld (kuivmassi järgi) töödeldi fosfoonhappega kuni lõplik fosfoonhappe sisaldus mullas vastas kogusele 11.25 kg/ha. Mullaproovid paigutati dünaamilise õhuvooluga katseskeemi, kus toimus mulla inkubeerimine 20 ^{o}C juures niiskes pimedas keskkonnas 117 päeva jooksul. Iga mullaanalüüs sisaldas kaht paralleelmõõtmist. Mullaproovide ekstraheerimiseks kasutati ammooniumvesinikkarbonaadi (pH 9.2), misjärel proovid kuivatati. Tekkinud kuivjäägile lisati 0.1M viinhapet (pH 2) ning lõplik fosfoonhappe sisalduse analüüs toimus vedelikkromatograafi ja tandem-massispektromeetriga (HLC-MS/MS).

Fosfoonhappe saagised "0" päeval olid kerge ja keskmiste muldade puhul 94-99% ja raske mulla puhul vaid 64% (Tabel 18). Katse autorite järelduse kohaselt võis madal fosfoonhappe sisaldus "0" päeval olla tingitud mulla suurest lubjasisaldusest, mis kokkupuutel fosfoonhappega moodustas soolasid (vt peatükk 7.5.).

Tabel 18. Fosfoonhappe sisalduse vähenemine ja poolestusaeg aeroobsetes tingimustes.

Muld	Fosfoonhappe jääk (%) inkubeerimine päevades								DT_{50} [a] (päev)	DT_{90} [a] (päev)
	0	3	7	14	30	61	90	117		
tolmjas saviliiv	99.4	100.9	93.9	82.6	79.7	66.2	58.0	49.6	114	380
raske liivsavi	63.5	56.0	48.5	40.4	32.1	23.4	13.3	7.2	38.9	129
saviliiv A	96.0	84.3	90.0	79.4	73.9	64.0	67.3	66.4	219	726
saviliiv B	93.6	81.1	86.6	82.2	48.7	13.8	3.3	2.0	27.5	91.4

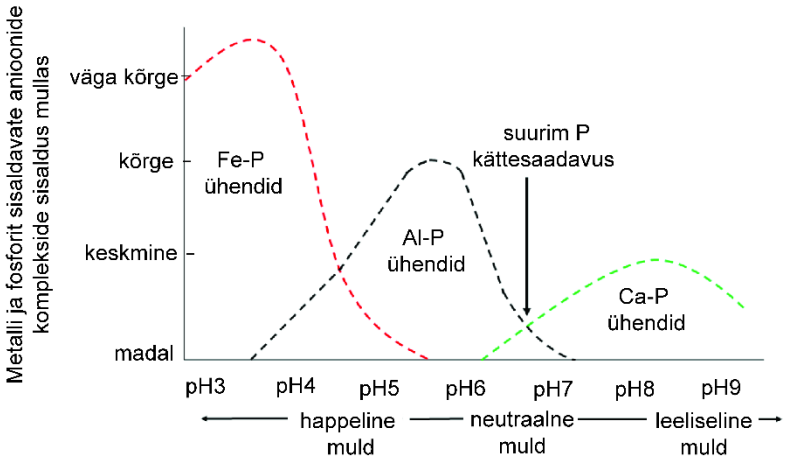
[a] – *Single First-Order Rate Model* – poolestusaja arvutamine esimest järku reaktsiooni põhjal

Võrreldes teiste muldadega oli raske liivsavi lõimisega mullas kõige suurem orgaanilise aine sisaldus ja mikrobioloogiline biomass. Lisaks selgus katsest, et happelisemas saviliiv pinnases (pH 5.3) oksüdeerus fosfoonhape tunduvalt aeglasemalt kui kõrgema pH-ga saviliiv pinnases Fosfoonhappe püsivust happelises pinnases kinnitab Inglismaal teostatud uuring (Stutter et al. 2015). Sõltuvalt mulla lõimisest varieerusid fosfoonhappe DT_{50}-väärtused 39 – 219 päeva ning DT_{90}-väärtused 91 ja 726 päeva vahel (EFSA 2018; FAO).

7.5. Fosfoonhappe adsorptsioon mullas

Sõltuvalt mulla pH-st moodustavad fosforit sisaldavad anioonid alumiiniumi, raua või kaltsiumiga soolasid (De Araujo et al. 2015; Johan et al. 2021; Penn and Camberato 2019; Wang et al. 2019). Happelistel muldadel (pH < 6.5) tekivad alumiiniumi- ja rauasoolad, pH > 6.5 soodustab kaltsiumsoolade teket (Joonis 9).

Alumiiniumi oksüdatsiooniaste ja hüdroksiidide teke muutub koos mulla pH-ga (Joonis 5). Kui pH on 5, sisaldab muld Al^{3+}-ioone, pH tõusmisel 5-6-ni on mullas positiivselt laetud alumiiniumhüdroksiidid ($Al(OH)_{2+}$ ja $Al(OH)_2^{+}$) ning alates pH 7 sisaldab muld negatiivse laenguga alumiiniumhüdroksiidi ($(Al)OH)_4^{-}$) (Joonis 5) (Bojórquez-Quintal et al. 2017). Raud (Fe^{2+}) esineb aeroobses keskkonnas pH 5-8 juures erinevate oksühüdroksiididena nagu goetiit (α- FeO(OH) ja hematiit (Fe_2O_3). Mõlemat eelnimetatud mineraali ja peeneteralist magnetiiti leidub savis ning jämedateralist magnetiiti (Fe_3O_4) liiva fraktsioonis (Anijago 2017; Colombo et al. 2018).



Joonis 9. Alumiiniumi-, raua- ja kaltsiumisoolade moodustumine fosforit sisaldavate anioonidega (vastavalt Al-P, Fe-P ja Ca-P) sõltuvalt mulla pH-st (Penn and Camberato 2019; Price 2006).

Raudoksiidid adsorbeerivad paljusid positiivselt laetud metalliioone (vask, nikkel, tsink, alumiinium, mangaan jne) ja anioone (dissotsieerunud fosforühendid). Orgaanilise süsiniku kandjatena moodustavad raud ja alumiinium kõrget raua- või alumiiniumi afiinsust omavate

ühenditega (fenoolid, karboksüülhapped rauda siduvad proteiinid ehk siderofoorid jne) stabiilseid komplekse (Colombo et al. 2018). Lisaks adsorbeeruvad fosforühendid orgaanilise aine, kaltsiumkarbonaadi, raud- või alumiiniumhüdroksiidide pinnale. Erinevalt kovalentseid keemilisi sidemeid sisaldavatest ühenditest tekivad adsorptsioonipõhised ühendid van der Waalsi jõudude toimel ning komplekse moodustavad nii fosforhappe kui fosfoonhappe anioonid (de Jonge et al. 2001; Morillo et al. 2000; Yang et al. 2023).

Pestitsiidide püsivust pinnases või leostumist iseloomustatakse jaotuskoefitsientide abil. Eristatakse koefitsiente, mis näitavad mullaosakestele (K_d või K_F) või mullaosakestega liitunud orgaanilise aine pinnale (K_{OC} või K_{FOC}) adsorbeerunud aine fraktsiooni mulla lahusesse jäänud fraktsiooni suhtes. Mida suuremad on koefitsientide K_{OC}- või K_d-väärtused, seda vähem leostuva kemikaaliga on tegemist. Kõrge K_{OC}-ga kemikaalid (log K_{oc} > 4.5) on mullas väga püsivad. Erinevalt K_d - ja K_{OC}- väärtustest, mis näitavad lineaarset seost adsorbeerunud aine ja mulla lahusesse jäänud aine hulga vahe, iseloomustavad Freundlich´i konstandid (K_F või K_{Foc}) logaritmilist (L-tüüpi) seost adsorbeerunud kemikaali koguse ja mulla lahusesse jäänud aine sisalduse vahel. Mõlemad juhul sõltub adsorptsioon/sorptsioon sorbendi kogusest, pH-st, mullalahuse ioontugevusest jne (Munira et al. 2018).

7.5.1. Pestitsiidide adsorptsioonimudelid

Kemikaalide adsorptsiooni/sorptsiooni iseloomustavaid konstante kajastatakse andmebaasides, mis võimaldab luua adsorptsioonimudeleid pestitsiidide keskkonnamõjude hindamiseks. Mudelite koostamisel lähtutakse tingimustest: (1) andmebaasides esitletud K_d-väärtused peavad olema esitatud mulla kohta, kus orgaanilise aine sisaldus on kuni 10%; (2) K_d-väärtused peavad olema arvutatavad K_{OC} andmetest; (3) orgaanilise süsiniku sisaldus peab olema arvutatav orgaanilise aine sisaldusest ja vastupidi; (4) savi sisaldus peab olema teada; (5) pinnase pH peab olema kirjeldatud (Weber et al. 2004). Varieeruvate pestitsiidide puhul võetakse mudelite koostamisel arvesse elementide sisaldust nende koostises. Näiteks 2004. aastal avaldatud artiklis sisaldas pestitsiidide nimekiri amiide, karbamiide, kloororgaanilisi ühendeid, fenüüluurea-tüüpi ühendeid, karboksüül- või hüdroksüülrühma(i) sisaldavaid kemikaale jne. Fosforit sisaldavatest pestitsiididest oli mudelisse kaasatud organofosfaatinsektitsiidid paratioon, poraat, piperopoos, profenofoss ja isazofos. Regressioonanalüüsidest selgus statistiliselt oluline positiivne seos fosforit sisaldavate ühendite K_d-väärtuste või mulla savisisalduse vahel ning K_d-väärtuste ja mulla orgaanilise aine sisalduse vahel (Weber et al. 2004). Hilisemas jaapanlaste poolt avaldatud tulemustes korreleerusid pestitsiidide K_{OC}-koefitsiendid mulla katioonvahetusvõimega. Tegemist on mulla omadusega adsorbeerida katioone (Motoki et al. 2014). Mulla katioonvahetus iseloomustab mulla viljakust ja sõltub pH-st, savi- ja orgaanilise aine sisaldusest. pH alanendes katioonvahetusvõime väheneb tänu sellele, et saviosakesed ja orgaaniline aine saavutavad positiivse laengu (vt ka peatükk 7.5.2.).

Orgaaniline aine/süsiniku sisaldus oleneb mulda viidavast sõnnikust ja taimejääkidest. Katseliselt on tõestatud süsinikuühendite koostise varieeruvus (aromaatsed ühendid, karboksüülrühma ühendid jne) veisesõnniku komposteerumisel (Motoki et al. 2014).

Komposteerumisel vähenes süsivesinike osakaal, samas kui alküülrühmi sisaldavate ühendite - ja aromaatsete ühendite osakaal, humiinainete sisaldus ja aktinobakterite arvukus tõusis (Inbar et al. 1989; Tang et al. 2006). Süsivesikute (hemitselluloos, tselluloos) lagunemise tulemusena akumuleerus sõnnikus modifitseeritud ligniin. Veisesõnniku komposteerimisel on täheldatud ka sõnniku katsioonivahetusvõime suurenemist (Inbar et al. 1989; Tang et al. 2006). Orgaaniliste ainete sisaldus ja koostis mulda viidavas sõnnikus on kemikaalide adsorptsiooni mõjutav lisafaktor. Näiteks aromaatsete süsinikuühendite sisaldus mullas soodustab aromaatseid rühmi sisaldavate pestitsiidide säilimist mullas (Motoki et al. 2014).

Euroopa Toiduohutusamet on avaldanud fosfoonhappe jaotuskoefitsiendid lähtudes mulla lõimisest, orgaanilise süsiniku sisaldusest ja pH-st Tabelis 19 (EFSA 2018). Detailseid katsetingimusi ja mullaomadusi selgitavaid andmeid Euroopa Toiduohutuslabori aruandest ei selgu ja seetõttu on K_F-väärtuste varieeruvust seoses orgaanilise süsiniku sisaldusega keeruline kommenteerida. Negatiivne märkimisväärne seos mulla pH ja K_F-väärtuste vahel viitab savi- ja alumiiniumi ning raua mineraalide sisaldusele mullas (r = -0.74, P < 0.05), sest pH alanemisel positiivselt laetud savipind või alumiinium (Al^{3+}) seob negatiivse laenguga fosforit sisaldavaid anioone (Joonis 5) (vt peatükk 7.5.).

Tabel 19. Fosfoonhappe jaotuskoefitsiendid lähtuvalt mulla lõimisest, pH-st ja orgaanilise süsiniku sisaldusest mullas.

Muld		OC [a] (%)	Mulla pH	K_d (ml/g)	K_{OC} (ml/g)	K_F (ml/g)	K_{Foc} (ml/g)	1/n [b]
EFSA 2013. tulemused	saviliiv	1.7	7.2			4.2	246	0.88
	tolmjas saviliiv	1.18	6.97			12.8	1086	0.74
	tolmjas saviliiv	2.6	6.7			5.0	193	0.78
	sõre liiv	1.08	5.8			32.8	3038	0.66
	saviliiv [b]	1.46	7.1			4.8	332	0.92
IBERICA-töörühm	sidus liiv	2.3	5.7			17.7	770	0.53
	kerge/ keskmine liivsavi	2.19	7.2			9.0	409	0.71
	tolmjas saviliiv	1.4	6.6			35.8	2557	0.55
	tolmjas saviliiv	4	5.6			82.4	2060	0.53
	kerge liivsavi	2.9	5.1			50.5	1741	0.66
EFSA 2012. tulemused	saviliiv	1.36	6.80	3.10	228			
	raske liivsavi	4.13	7.55	10.37	251			
	saviliiv	2.3	5.6	5.30	230			
	tolmjas saviliiv	1.95	5.52	18.96	972			
BAYER CROP SCIENCE töörühm	sõre liiv	2.4	6.2	43.9	1829			
	saviliiv	3.0	4.6	46.3	1543			
	raske liivsavi	4.3	7.2	28	650			
	saviliiv	1.6	5.0	87	5429			
	saviliiv	1.2	6.1	30	1650			

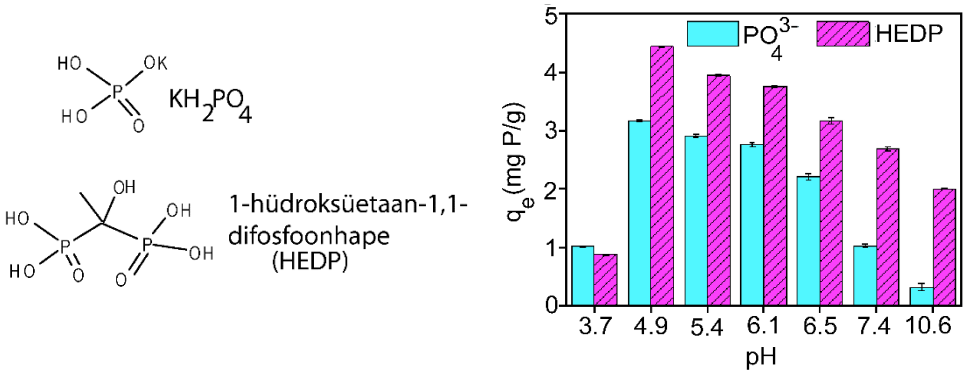
[a] – orgaanilise süsiniku sisaldus mullas; [b] - Freundlich´i kõvera tõus, 1/n = 1 näitab lineaarset seost sorbeerunud aine koguse ja lahuses oleva aine sisalduse vahel, 1/n väärtus 0.7-1 näitab mitte-lineaarset L-tüüpi seost sorbeerunud aine koguse ja lahuses oleva aine sisalduse vahel; 1/n > 1 on omane hüdrofiilset funktsionaalrühma sisaldavatele pestitsiididele, mis eelistavad mullalahust sorptsioonile.

2014. aastal avaldatud jaapanlaste katses on keeruliste struktuuridega fosforit sisaldavate pestitsiidide K_{OC}-väärtused samas suurusjärgus Tabelis 19 toodud fosfoonhappe K_{OC}-väärtustega (Motoki et al. 2014). Mainitud K_{OC}-väärtuste sarnasus viitab dissotsieerunud pestitsiidide pinnalaengu tähtsusele adsorptsioonis/sorptsioonis.

7.5.2. Kaasuvate ioonide ja pH mõju fosforühendite sorptsioonile

Mulla pH mõju fosfaat- ja fosfonaatanioonide sorptsioonile kirjeldavad 2023. avaldatud katsetulemused seoses pöördosmoosi filtrite puhastamisega fosforühenditest lantaani ja kaoliini põhise sorbendi abil (Yang et al. 2023). Katsed viidi läbi 25 ^{o}C juures 12 tunni jooksul varieeruva pH-ga lahustega (pH 3-10) (Joonis 10). Tsentrifuugitavatesse viaalidesse viidi 0.008g sorbenti ning võrdsetes osades kaaliumdivesinikfosfaati (KH_2PO_4) ja 1-hüdroksüetaan 1,1-difosfoonhapet (HEDP). Kummagi lahuse kontsentratsioon oli 1 mg/L ning summaarne lahuse ruumala oli 40ml. Kemikaalide sorptsiooni efektiivsust (fosforühendi kogus mg-des, mis sorbeerus 1g sorbendi kohta), hinnati desorptsiooni teel (4 x 240 min) lisades sorbendile naatriumhüdroksiidi (NaOH, 1 mol/L) ja naatriumvesinikkarbonaati ($NaHCO_3$, 0,5 mol/L).

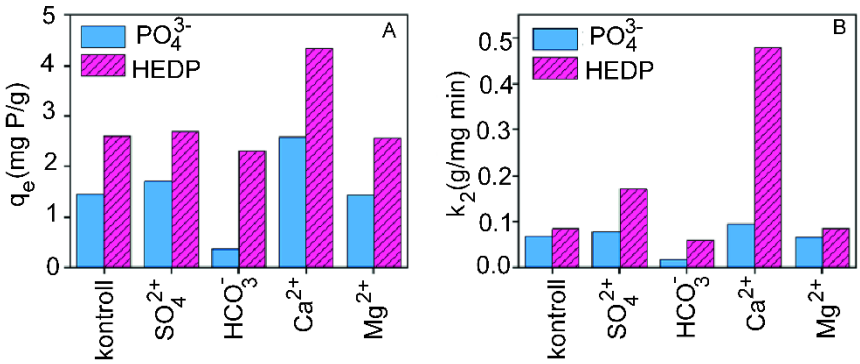
Fosfaatanioonide ja üldfosfori kontsentratsioon määrati molübdeensinise abil spektrofotomeetriliselt lainepikkusel 700 nm. HEDP-anioonide sisalduse määramisele eelnes nende oksüdeerumine persulfaadiga. Sorptsiooni efektiivsuse arvutamisel lähtuti anioonide sisaldusest lahuses katse alguses, katse läbiviimise ajast, sorbendi massist ja lahuse ruumalast (Yang et al. 2023).



Joonis 10. Fosfaat- (KH_2PO_4) ja fosfonaatanioonide (1-hüdroksüetaan 1,1-difosfoonhape, HEDP) sorptsiooni efektiivsus (q_e) lantaani ja kaoliini sisaldaval sorbendil sõltuvalt lahuse pH-st (Yang et al. 2023).

Lahuse pH varieerumine põhjustas muutusi sorbendi pinna laengus, mis omakorda mõjutas fosforanioonide sorptsiooni (Joonis 10). HEDP kõrgemad sorptsiooni efektiivsuse näitajad tulenesid OH-rühmade rohkusest molekulis. Maksimaalne anioonide sorptsioon lantaani ja kaoliini sisaldaval sorbendil oli pH 4.9 juures ja seda positiivselt laetud sorbendi pinna tõttu. pH Suurenedes anioonide sorptsioon vähenes, sest sorbendi pind saavutas negatiivse laengu. Madalal pH-l on fosforühendid dissotsieerunud valdavalt esimese astmes ($H_2PO_4^-$- ja H_2HEDP^-), pH suurenedes suureneb HPO_4^{2-} ja H_1HEDP^{2-} -anioonide sisaldus (vt peatükk 7., Joonis 5) (Havlin and Schlegel 2021).

Fosfaat- ja fosfonaatanioonide sorptsiooni efektiivsust lantaani ja kaoliini sorbendile hinnati kaltsiumi- või magneesiumikatioonide, sulfaat- või vesinikkarbonaatanioonide (vastavalt Ca^{2+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-}, HCO_3^-) lisamisel fosforanioonide lahusele pH-ga 8 (Joonis 11) (Yang et al. 2023).



Joonis 11. Fosfaat- (KH_2PO_4) ja fosfonaatanioonide (1-hüdroksüetaan 1,1-difosfoonhape, HEDP) sorptsiooni efektiivsus (q_e) (A) ja sorptsiooni kiirus (k_2) (B) lantaani ja kaoliini sisaldaval sorbendil sõltuvalt kaasioonide sisaldusest pH 8 juures.

Võrreldes kontrollkatsega vähendas HCO^-_3- anioonide sisaldus fosforanioonide sorptsiooni, samas kui aluseliste omadustega Ca^{2+}-ioonid suurendasid nii HPO_4^{2-}- kui ka H_1HEDP^{2-}-anioonide sorptsiooni.

7.5.3. Fosforühendite sorptsioon mullas aastatepikkuse väetamise tulemusena

Taimed omastavad mulda viidud fosforväetist vaid vähesel määral. Kasutamata jäänud fosfor akumuleerub mullas. Aastatepikkuse väetamise tulemusena muld küllastub fosforanioonidega. Selle kohta, kas ´uued´ mulda viidud molekulid asendavad varasemalt adsorbeerunud molekule, näitab kirjandus vastakaid tulemusi. Näiteks 2004. aastal avaldatud uurimuses vabastas happelises mullas glüfosaat alumiinium ja rauaoksiididele adsorbeerunud fosfaatanioone (Gimsing et al. 2004). 2018. aastal avaldatud artikkel glüfosaadi mõju adsorbeerunud fosfaatidele enam ei kinnitanud (Munira et al. 2018).

Sarnaselt lantaani ja kaoliini sorbendile soodustab kaltsium fosforühendite sorptsiooni mullas (Tabel 20). Pikaajalise väetuskatsete, mille raames kasvatati nisu ja lina, üks eesmärkidest oli hinnata fosfaatanioonide jaotuskoefitsiente fosfaatväetisega töödeldud mullas, mis sisaldasid Fe_2O_3, $CaCO_3$ ja Al_2O_3. Kõik katsed viidi läbi neljas korduses. Aastatel 2002-2009 toimus põllu väetamine monoammooniumfosfaadiga ($(NH_4)H_2PO_4$). Edasistel aastatel (2010-2013) väetamist enam ei toimunud. Fosfaatanioonide sisaldus määrati 2013. kevadel kogutud mullaproovidest. 2g õhu käes kuivatatud mullale lisati 40 ml 0.5N $NaHCO_3$ ja fosfaatide sisaldus määrati kolorimeetriliselt molübdeeni abil. Edasises katses lisati fosfaadiga töödeldud põllult ja kontrollpõllult (väetamist ei toimunud) kogutud mullaproovidele 0.01M kaltsium- või kaaliumkloriidi (vastavalt $CaCl_2$ või KCl) lahust ning KH_2PO_4. Adsorptsioon toimus 23 ^oC juures 24 h jooksul. Fosfaatanioonide sisaldus määrati molübdeeni abil spektrofotomeetriliselt.

Tabel 20. Fosfaatanioonide sorptsiooni iseloomustavad koefitsiendid (K_F) raudoksiidi (Fe_2O_3) - või kaltsiumkarbonaati ($CaCO_3$) sisaldavas liivsavi mullas elektrolüütide kaltsiumkloriid ($CaCl_2$) või kaaliumkloriidi (KCl) toimel.

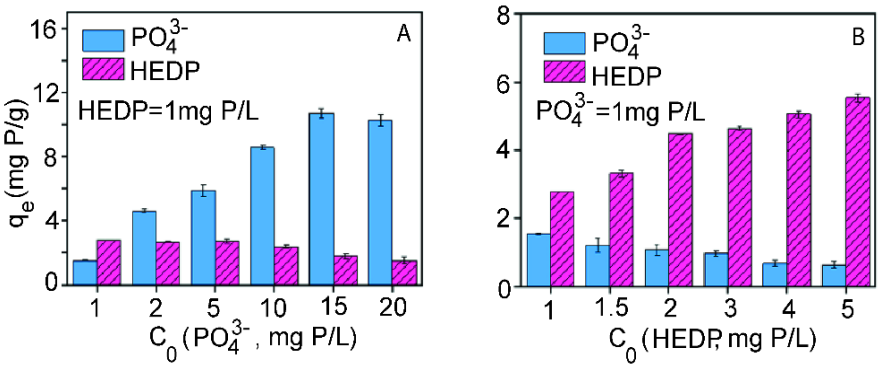
Muld	OC (%) [a]	pH	Fe_2O_3 (mg/kg)	Al_2O_3 (mg/kg)	Ca^{2+} (mg/kg)	Savi (%)	Liiv (%)	$CaCl_2$ (0.01M)	KCl (0.01M)
								K_F (L mg/kg)	K_F (L mg/kg)
Fe_2O_3	2.81 (0.04)	4.7 (0.02)	237 (8)	6.41 (0.64)	2252 (35)	20	60	38	23
$CaCO_3$	3.2 (0.07)	7.3 (0.02)	12.52 (0.22)	1.07 (0.47)	4791 (158)	30	31	54	36

[a] – orgaanilise süsiniku sisaldus

Põldude varasem väetamine fosfaatväetisega vähendas ´uute´ fosfaatide sorptsiooni nii happelises kui aluselises mullas. Suurim langus oli happelises Fe_2O_3-rikkas mullas, mis tulenes sorptsioonikohtade küllastumisest madalal pH-l. Fosfaatanioonide sorptsiooni koefitsient oli kõrgeim $CaCl_2$ sisaldavas $CaCO_3$-mullas, kus pH oli üle 7 (Munira et al. 2018). Sarnaselt kaltsiumile on vase- ja kaadmiumikatioonid (vastavalt Cu^{2+} ja Cd^{2+}) katioonsildadeks pestitsiidide interakteerumisel saviosakesega (Morillo et al. 2000; Zhou et al. 2004).

7.6. Fosfaat- ja fosfonaatanioonide konkurents adsorbendile/sorbendile

Pöördosmoosi katses oli OH-rühmade rohkusest tulenevalt oli võrdse fosfaat- ja HEDP-anioonide sisalduste korral HEDP-anioonide sorptsiooni efektiivsus kõrgem kui fosfaatanioonide oma (Joonis 10 ja 11) (Yang et al. 2023). Looduses taolist selgepiirilist vahekorda anioonide kontsentratsioonide vahel ei esine ja seda kinnitas ka lantaanipõhise sorbendi katse (Joonis 12).

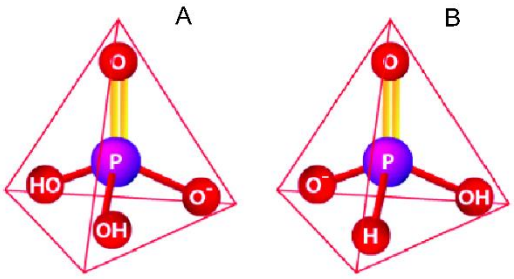


Joonis 12. HEDP- ja fosfaatanioonide sorptsiooni efektiisus (q_e) lantaanipõhisel sorbendil fosfaatanioonide sisalduse suurenemisel (C_0), kui HEDP-anioonide kontsentratsioon oli 1 mg P/L (A) või HEDP-anioonide sisalduse suurenemisel, kui fosfaatanioonide kontsentratsioon oli 1 mg P/L. Mõlemal juhul oli vesilahuste pH 8.

Ülekaalus oleva fosforühendi anioonid tõrjusid madalas kontsentratsioonis olevad anioonid sorptsiooni kohtadelt. Selle tulemusena oli lahuses domineerinud anioonidel kõrgem sorptsiooni efektiivsus (Yang et al. 2023).

Fosforhappe ja fosfoonhappe adsorptsiooni koefitsiendid on sarnased, kuid see ei vähenda nende hapete anioonide vahelist konkurentsi adsorbendi/sorbendi kohtadele. Fosfoonhappe pK_a-konstandid on madalamad kui fosforhappe omad (Tabel 1). Madalamatest pK_a-konstantidest tulenevalt on fosfoonhappe soolad võrreldes fosfaatidega lahustuvamad, mis võib tagada taimede jaoks parema fosfoonhappe omastatavuse (Gómez-Merino and Trejo-Téllez 2015).

Sõltuvalt mullalahuse pH-st on hapete struktuuride erinevusest tulenevalt sorbendi või ensüümi pinnalt väljaulatuval fosforhappe (Joonis 13A) hüdroksüülrühmal võimalus edasiseks interakteerumiseks katioonidega (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^{+}) või savipinnaga (Johan et al. 2021).



Joonis 13. Fosforhappe aniooni ($H_3PO_4^-$) ja fosfoonhappe aniooni ($H_3PO_3^-$) kolmedimensionaalne tetraeedriline struktuur (Gómez-Merino and Trejo-Téllez 2015) .

Fosforühendi sulgumine katioonide ja saviosakeste vahele toimub happelises mullas. Neutraalsetes ja lubjarikastes muldades tekib monokaltsiumfosfaadi reageerimisel kaltsiumkarbonaadiga dikaltsiumfosfaat ja sellest edasi hüdroksüapatiit. Fosfaadi vabanemine hüdroksüapatiidist tekib mulla pH alanemisel (Johan et al. 2021). Fosfoonhape esineb kahe tautomeerina ($(OH)_3P$) ja ($(OH)_2HPO$) (Joonis 14). Sõltuvalt OH-rürmade arvust saavutab ühe või teise tautomeeri dissotsieerumisel anioon suurema või väiksema negatiivse laengu

Joonis 14. Fosfoonhappe tautomeerid.

Teadaolevalt eksisteerib looduseses peamiselt siiski H-P sidet sisaldav struktuur ($(OH)_2HPO$) (Joonis 14). P-H-sidet sisaldava aniooni puhul (Joonis 13B) ulatub sorbendi pinnalt välja vesinik, mis dissotsieerumisele ei allu (Gómez-Merino and Trejo-Téllez 2015; Strawn 2021). Kokkuvõttes on sorbeerunud fosfoonhappe anioon orgaanilistele hapetele, mida eritab ka tatar, kättesaadavam.

8. Mahetoodangus fosfoonhappe akumuleerumist soodustavad anorgaanilised ja orgaanilised väetised ja mullaparandajad

2021. Vastuvõetud Euroopa Komisjoni määruses (nr. 2021/1165) on kirjas mitmeid väetisi ja mullaparandajaid, mida on lubatud kasutada mahepõllunduses. Kirjapandute hulgas on palju aineid, mis sõltuvalt mullaomadustest võivad põhjustada fosfoonhappe akumuleerumist mullas. Tähelepanu tuleks pöörata kaltsiumiühenditele (CAS numbritega 1305-62-0 ja 1344-81-6), kaoliinile (CAS numbriga 1332-58-7) ja raudoksiidide sisaldusele kvartsliivas (CAS 14808-60-7, CAS 7637-86-9). Ka vaseioonid osalevad fosfonaatide sorptsioonis. Kuid vastavalt etteantud tingimustele, mis lubab vaseühendite ühekordse kasutamist 7 aasta jooksul, ei pruugi vaske sisaldavad ained fosforühendite mullas püsimist mõjutada (CAS 20427-59-2, CAS 1332-65-6, CAS 1332-40-7, CAS 1317-39-1, CAS 12527-76-3). Oluline on katioonide-anioonide sisaldus mullas enne väetamist (Anijago 2017; Colombo et al. 2018; Morillo et al. 2000; Yang et al. 2023). Põldude üleväetamist fosfaadiga (CAS 10045-86-6) kaasa arvatud looduslikku päritolu fosfaatväetisega tuleks vältida. Seda enam, et looduslikus fosforväetises sisalduv kaadmium on katioonsillaks fosforühendite anioonide adsorptsioonil/sorptsioonil (Zhou et al. 2004). Taimede poolt sidumata jääv fosfaat akumuleerub mullas. Sõltuvalt kliimast võib tekkida olukord, kus mulla hapnikusisalduse vähenemisel fosforhappe anioonid redutseeruvad fosfoonhappe anioonideks (Munira et al. 2018).

Mitmed väetised sisaldavad sulfaati (CAS 12527-76-3, kaalimsulfaat), mida kasutavad sulfaati redutseerivad mikroorganismid (Han et al. 2023). Sulfaatredutseerijad vahendavad üleujutatud põldudel ja setetest fosfori vabanemist Fe-P kompleksidest (Han et al. 2023; Lippens and De Vrieze 2019). Nende elutegevuseks sobib anaeroobne muld, hapnikusisalduse varieeruvus mõjub neile pigem negatiivselt (Baldwin and Mitchell 2000). Sulfaadiredutseerijate arvukus suureneb temperatuuri tõusul 5 ^{o}C-lt 25 ^{o}C-ni. Sulfaadi sisaldust mullas tõstab ka kaltsiumsulfiid ja väävel (CAS 7704-34-9, CAS 1344-81-6), mille oksüdeerumist sulfaadiks vahendavad bakterid ja ürgid ja seda nii aeroobses kui anaeroobses keskkonnas.

Fosfoonhappe anioonide teke ja sisaldus mageveekogude setetes ja merevetikates on teada (vt peatükk 7.2.) (Trinchera et al. 2020). Mageveekogudesse satuvad fosforühendid liigse põldude väetamise tulemusena. Fosforühendite leostumisel liiguvad toitained põhja- või pinnavette, mis viib veekogude eutrofeerumiseni (Liu et al. 2021).

Fosfoonhappe sisaldus sõnnikus võib tuleneda linnu/looma söödast. Fosfoonhappe sisaldusega kanasõnniku kasutamine võib põhjustada fosfoonhappe sisaldust taimes (Trinchera et al. 2020). Kuid 2019. avaldatud katses alandas kanasõnnik mulla pH-d, mille tulemusena toimus aluselies mullas Ca-P kompleksidest fosfaatanioonide vabanemine (Adnan et al. 2019). Kanasõnnikule sarnane pH-d alandav toime on seasõnnikul, samas kui veisesõnnik suurendab pH-d (Sun et al. 2019; Whalen et al. 2000). Üldiselt ei ole mikroorganismide kooslus ja aktiivsus sõnnikus teada. Ka fosfoonhappe sisalduse kohta Ca-P, Al-P ja Fe-P kompleksides puudub informatsioon. Kokkuvõttes on võimalus, et fosfoonhappe sisalduse muutust mullas seoses sõnniku kasutamisega ei ole võimalik vältida (Johan et al. 2021).

Biosöe, komposti ja puutuha mulda viimine tõstab mulla pH-d. Biosüsi mõjub positiivselt fosforit lahustavate bakterite elujõulisusele, samas kui kompost rikastab mulda katioonidega (Horta 2019; Rafique et al. 2020). Biosüsi ja puutuhk soodustavad mükoriisa seente paljunemist (Hagerberg and Wallander 2002; Rafique et al. 2020). Tatar nagu ka ristõielised taimed mükoriisat ei moodusta, mistõttu nende taimede fosfori omastamise võime sellest ei muutu. Seevastu teatud põllukultuuridel (nisu, mais, sojauba) võib mükoriisa avaldada positiivset mõju taimede fosfaatide omastamisele.

9. Fosetüül-Al ja fosfoonhappe analüüsimetoodikate kitsaskohad

Maatriksites teeb fosetüüli ja fosfoonhappe määramise keeruliseks nende madal molekulmass, molekulide polaarsus ning UV-kiirguse neeldumise või fluorestseerumise puudumine. Gaaskromatograaf leekfotomeetrilise detektoriga (GC-FPD) saadud fosetüüli ja fosfoonhappe tulemused on usaldusväärsed, kuid võrreldes vedelikkromatograafia tandem-massispektromeetria (LC-MS/MS) meetodiga on GC-FPD meetod vähem tundlik, st ainete kvantifitseerimispiirid (LOQ) kõrgemad kui LC-MS/MS-meetodis. Lisaks eeldab GC-FPD kasutus proovide ettevalmistuse lõpp-etapis ainete derivatiseerimist näiteks trimetüülsilüül diasometaaniga. GC-FPD meetod on sobilik pigem baasuuringute läbiviimiseks, kus on vaja hinnata fosfoonhappe sisaldust mullas või taimedes (Tabel 9 ja 16).

Fosetüüli ja fosfoonhappe jääksisalduste määramine on põllumajandustoodete kvaliteedikontrollis muutunud rutiinanalüüsiks (Tabel 21). Tänaseks päevaks on fosetüüli ja fosfoonhappe vedelikkromatograafia (LC) põhised analüüsimetoodikad läbinud rea uuendusi eesmärgiga lühendada/optimeerida analüüsideks kuluvat aega ning lihtsustada proovide ettevalmistamise metoodikaid säilitades samal ajal ainete madala kvantifitseerimispiiri (Hernández et al. 2003; Li et al. 2021; Sekiyama et al. 2021). Fosetüüli ja fosfoonhappe määramise kõrval on välja töötatud ka fosetüül-Al jääkkoguste määramise metoodika, kuigi viimane degradeerub taimedes kiiresti. Meetod põhineb hüdrofiilse interaktsiooni kromatograafial koos tandem-massispektromeetriaga (HILIC-MS/MS). Tegemist on rutiinanalüüsideks mõeldud metoodikaga, mis sobib vee-, tärklise-, proteiini- ja õlirikaste toodete analüüsimiseks. Vaid salati analüüsides oli fosetüül-Al LOQ 0.2 mg/kg, kõikide teiste toiduainete puhul nagu greip, tomat, mango, oliivõli, sojaoad ja nisujahu varieerus LOQ 0.05 – 0.01 mg/kg. Sõltuvalt toiduainest jäi meetodi lineaarsuspiir vahemikku 10 -1000 ng/g kuni 10 – 10 000 ng/g (Li et al. 2021).

Laboritulemuste tõlgendamise osas juhivad teadlased tähelepanu asjaolule, et fosetüüli sisalduse all mõistetakse fosetüüli, fosfoonhappe ja tema soolade summaarset sisaldust (Manghi et al. 2021). Taoline fosfonaatide sisalduse väljendus on segadust tekitav, kuna tulemustes jääb selgusetuks, kas põllumajandustoodete saastatus on tingitud mitme fosfonaadi samaaegsest sisaldusest või ühe kemikaali sisaldusest. Itaalias on fosetüüli sisaldusega seotud probleemi püütud lahendada regulatsiooniga, mis ütleb, et mahetoodetes detekteeritud fosfoonhappe sisalduse puhul, mis on kõrgem kui 0.1 mg/kg, on tegemist valepositiivse tulemusega, kui samaaegselt määratud fosetüüli sisaldus on alla 0.01 mg/kg (Manghi et al. 2021). Saksamaa

mahepõllumajandustootjate, hulgi- ja jaemüüjate ühendus rõhutab samuti fosetüüli sisalduse defineerimisest tulenevat ebatäpsust (Bnn, 2020).

Tabel 21. Fosetüüli ja fosfoonhappe määramismeetodid erinevate maatriksite korral.

Aparatuur	Uuritav maatriks		Kvantifitseerimispiir mg/kg		Kirjanduse allikas
			fosetüül	fosfoonhape	
Aruandes mainitud meetodid					
LC-MS/MS	taimed	köögivili	0.0093 mg/kg	0.1 mg/kg	FAO
		teravilja lehemass	0.047 mg/kg	0.5 mg/kg	
	anorg. taimekaitsevahend		0.01 mg/kg	0.1 mg/kg	Trinchera et al. 2020
	orgaaniline väetis		0.1 mg/kg	1.0 mg/kg	
	taim / muld		0.01 mg/kg	0.1 mg/kg	
GC-FPD	taimed		-	0.5 mg/kg	FAO
	muld		-	0.1 – 0.2 mg/kg (vajalik deivatiseerimine)	
Euroopa Toiduohutuslabori poolt avaldatud meetodid					
LC-MS/MS – Bayer´i töörühm	toiduained / köögiviljad / taimed		0.01 mg/kg (kõrge vee-, õli-, kuivaine- või happe-sisaldusega tooted)	0.1 mg/kg (kõrge vee-, kuivaine- või happesisaldusega tooted) 0.5 mg/kg (õlirikkad tooted)	EFSA, 2018 Apendix A
LC-MS/MS – Iberica töörühm			0.01 mg/kg (kõrge vee-, õli-, kuivaine- või happe-sisaldusega tooted)	0.01 mg/kg (kõrge vee-, kuivaine- või õlisisaldusega tooted) 1 mg/kg (happerikkad tooted)	
LC-MS/MS – Oxon´i töörühm			0.05 mg/kg (kõrge vee-, õli-, kuivaine- või happe-sisaldusega tooted)	-	
LC-MS/MS – Bayer´i töörühm	muld		0.05 mg/kg	0.05 mg/kg	
LC-MS/MS – Iberica töörühm			0.025mg/kg	0.025 mg/kg	
LC-MS/MS – Oxon´i töörühm			0.05 mg/kg	0.2 mg/kg	
LC-MS/MS – Bayer´i töörühm	vesi (pinna- ja joogivesi)		0.1 µg/L	0.1 µg/L	
LC-MS/MS – Iberica töörühm			0.05 µg/L	0.1 µg/L	
LC-MS/MS – Oxon´i töörühm			0.1 µg/L	-	

Tänase päeva seisuga on EFSA esitanud Euroopa Komisjonile mitmeid ettepanekuid seoses fosfoonhappe sisalduse kohta käiva definitsiooni ning fosfoonhappe ja fosetüüli jääkide piirnormide kohta. Näiteks 2022. tehti ettepanek jätta edaspidistes peedilehtede analüüsides "fosetüül" definitsioonist välja ja näidata fosfoonhappe sisaldusena fosfoonhappe ja selle soolade summaarne sisaldus (EFSA 2022). Käesoleval aastal tehtud soovitus sisaldas fosetüüli ja fosfoonhappe jääkide piirnormide muutmist porrulaugus ja sibulas (EFSA 2023).

Fosetüüli summaarse sisalduse väljendamine, mis hõlmab fosetüüli, fosfoonhappe ja tema soolade sisaldust, on mõistetav, sest taimed ise fosfoonhapet ei tekita. Aine omastamine toimub mullast või lehtede pritsimise kaudu. Kokkuvõttes võib fosfoonhappe sisaldus tuleneda fosetüül-Al või fosfoonhappe soolade kasutamisest, kuid arvestada tuleb ka kliima, mikroorganismide ja mulla omaduste mõju. Mainitud taustainfo puudumisel on põllumajandustoodetes sisalduva fosfoonhappe osas keeruline jõuda õiglase järelduseni. Mulla/setete - ja vee analüüsides teostatakse fosetüüli (väljendatuna kui fosetüül-Al) ja

fosfoonhappe määramine vastavalt LOQ-väärtustele, mis on kummagi aine kohta eraldi määratletud (Tabel 21).

Ainete detekteerimise teeb keeruliseks maatriksite varieeruvus. Teada on, et proovide aeganõudvamate ettevalmistusprotsesside käigus on suur tõenäosus ainete ´kaotamiseks´. Pestitsiidide jääkide identifitseerimine tandemspektromeetri või tuumamagnetresonantsi abil nõuab eriteadmisi ja -oskusi rääkimata proovide ettevalmistusest, aparatuuri kalibreerimisest, hooldamisest jne. Näiteks proovide ettevalmistamisel ekstraheerub fosforhape koos fosfoonhappega. Kõrge fosforhappe sisaldus maatriksis võib fosfoonhappe signaali maha suruda, sest analüüsiseadmes fragmenteeruvad fosforhape ja fosfoonhape sarnaselt. Tulemuseks on peaaegu identised massispektrid ning lisaks on nende ainete retensiooniaeg sarnane. Teine oluline soovitus puudutab fosfoonhappe ja fosetüüli sisalduste eraldi määramist vältimaks analüüsiseadme ionisatsiooniallikas toimuvat fosetüüli lagunemise tulemusena tekkivat fosfoonhappe sisaldust. Vastasel korral saadakse vale tulemus nii fosetüüli kui fosfoonhappe sisalduse kohta algmaatriksis (Hacker, 2016). Taolisi analüüsiseade opereerimise tingimustest tulenevaid komplikatsioone tuleb ette ka lenduvate orgaaniliste ühendite identifitseerimisel (Pazouki et al. 2015). Kokkuvõetuna mõjutab kõik eelnevalt mainitu analüüside maksumust, mis võib olla üheks kitsaskohaks fosetüüli ja fosfoonhappe määramisel mahetoodetes, orgaanilistes väetistes/toodetes ja ka mullas.

10. Fosfororgaaniliste pestitsiidide kasutamine ja nende mõju organismidele

Intensiivistunud põllumajandusega on tõusnud sünteetiliste pestitsiidide kasutamine, mida kinnitab 2020. avaldatud glüfosaatide müüki ja kasutust hõlmav uuring (Antier et al. 2020). Kuigi näiteks 2017. oli Eestisisene pestitsiidide müük võrreldes ülejäänud 30 Euroopa riigiga äärmiselt tagasihoidlik, oli põldudele suunatud herbitsiidide kogus 0.5 kg/ha, mis andis Eestile 32 riigi seas 16. koha (Antier et al. 2020; Manghi et al. 2021). Lisaks selgub uuringust, et ajavahemikul 2011 - 2017 suurenes Eestis herbitsiidide kasutus 30%, samas kui Leedus, Taanis, Soomes, Rootsis ja Norras müük langes keskmiselt 19 - 44%. Veelgi olulisem on aga glüfosaatide müügi stabiilsus aastate lõikes - 277 tonni 2014., 412 tonni 2016. ning 253 tonni 2017. Ülejäänud aastate (2013 ja 2015) kohta andmed puuduvad (Antier et al. 2020).

Alates juunist 2019 kehtima hakanud väetisetoodete määruse (nr 2019/1009) kohaselt on fosfonaatide keskkonda viimine keelatud (ELT L170, 25.juuni.2019, lk 39). Pikaajaline fosfonaatidel põhinevate sünteetiliste kemikaalide kasutamine on põhjustanud redutseerunud fosforiühendite sealhulgas fosfoonhape mulda akumuleerumise (Kehler et al. 2021). Seega on küsimused, kas ja kuidas pinnases olevate fosforiühendite laguproduktid mõjutavad mulla elustikku ja põllukultuuride kasvu soojeneva kliima tingimustes, põhjendatult teadlaste huviorbiidis.

Pestitsiidide toime imetajatele ja teistele elusorganismidele on mitmekesine. Näiteks 2,4-diklorofenoksüäädikhappel on imetajatele vähkitekitav toime, samas kaladele põhjustab ta

muutusi DNA-s (Carvalho et al. 2020; IARC 2018). Fosetüül-alumiinium (fosentüül-Al) seevastu ei ole kantserogeenne ega genotoksiline, ei oma neuroloogilist toksilisust ega põhjusta kõrvalekaldeid embrüo arengus. Ka fosfoonhappe ja tema soolad ei ole inimese jaoks akuutselt toksilised. Fosetüül-Al sattumisel imetaja organismi toimub aine absorbeerumine 24 tunni jooksul. Aine levib maksa, neerudesse, rasvkoesse, naha kudedesse, kopsu, põrna, neerupealsetesse ja ka sugunäärmetesse. Kuid kokkuvõttes toimub siiski kiire aine lagunemine etanooliks ja CO_2-ks. (EFSA, 2018). Samas näitavad ökotoksikoloogilised uuringud, et nii fosetüül-Al kui fosfoonhape on kahjulikud väiksematele imetajatele, lindudele, vesikeskkonna elustikule, vihmaussidele jne, mis tähendab pöördumatut kahju elusorganismide populatsioonides (EFSA, 2018). Näiteks rottide jaoks algab suukaudsel ja naha kaudu manustamisel fosetüül-Al surmav doos (LD_{50}) sisaldusest >2000 mg/kg kehamassi kohta ning aine sissehingamisel on keskmiseks surmavaks kontsentratsiooniks (LC_{50}) 5.11 mg/L õhus 4 tunni jooksul. Rottidel on fosfoonhappe LD_{50} väärtuseks 3624 mg/kg. Nurmvuti *Colinus virginianus* jaoks on fosetüül-Al akuutse toksilisuse LD_{50} väärtuseks > 6400 mg/kg ja fosfoonhappe LD_{50} väärtuseks > 675 mg/kg. Vikerforelli (*Oncorhynchus mykiss*) fosetüül-Al akuutne toksilisus (LC_{50} väärtus) algab kalade 96 tunnisel kokkupuutel ainega pooleldi seisvas vees tingimusel, et fosetüül-Al kontsentratsioon on suurem kui 120 mg/L, fosfoonhappe puhul seisvas vees on LC_{50} väärtus tunduvalt madalam (> 28.6 mg/L) . Vihmausside jaoks algab fosetüül-Al surmav doos LC_{50} sisaldusest > 1000 mg/kg pinnase kuivmassi kohta (EFSA, 2018).

11. Kokkuvõte ja soovitused edaspidiseks tatra kasvatamiseks

Fosetüül-Al ja fosfoonhappe mullas püsimist võib mõjutada fosfoonhappe keemiline omadus esineda erinevate keemiliste struktuuridena (taotomeeridena). Seda, kas looduslikud protsessid mõjutavad tautomeersete struktuuride teineteiseks muundumist, ei ole teada. Kirjanduslike andmete kohaselt eksisteerib fosfoonhape peamiselt H-P sidet sisaldava struktuurina ($(OH)_2HPO$), mis võiks tähendada molekuli lühemat mullas püsimise aega võrreldes fosforhappega. Mullas laguneb fosetüül-Al tundidega. Kuid fosfoonhape sisaldus varieerub sõltuvalt mulla lõimisest, pH-st ja keemilisest koostisest. Kirjanduse andmetel võib fosfoonhape jääda mulda vähemalt 730 päevaks. Mullastikukaardi kohaselt on Eesti mullastik väga mitmekesine ja varieeruv. Sellest tulenevalt varieerub ka taimede jaoks kättesaadava fosfor- ja fosfoonhappe sisaldus mullas. Teadlased on arvamusel, et kliima soojenemine tõstab fosfonaatide looduslikku fooni mullas. Selle prognoosi kohaselt sageneb võimalus lubatust kõrgema fosfoonhappe sisalduse tekkeks põllumajandustoodetes järgneva 10 aasta jooksul.

Fosfoonhappe looduslik foon sõltub kliimast ja mulla mikroorganismidest. Mitmed mikroorganismid vahendavad fosfonaatide teket, mis biodegradatsiooni käigus lagunevad fosfaatideks. Viimaste redutseerumine fosfoonhappeks toimub redoksprotsesside kaudu, mida enamasti vahendavad mikroorganismid. Teadaolevalt ei ole fosfoonhappe sisaldust Eesti muldades uuritud. Taimed ise fosfoonhapet ei tooda. Taimedes/seemnetes tuvastatud fosfoonhape saab taime siseneda vaid juurte kaudu mullast ja/või lehtede kaudu. Fosfoonhappe

akumuleerumine taime kudedesse taimelehtedelt toimub üksnes taimede pritsimise tulemusena põllumajanduspiirkondades.

Euroopa Komisjoni määruses (nr. 2021/1165) on välja toodud mitmeid väetisi ja mullaparandajaid, mida on lubatud kasutada mahepõllunduses, kuid mis võivad põhjustada fosfoonhappe sisaldust mullas. Mageveekogude setted, merevetikad ja sõnnik võivad sisaldada fosfoonhapet. Siinkohal on oluline märkida, et orgaanilist toodet ei loeta fosfoonhapet sisaldavaks tooteks, kui viimase sisaldus on vähem kui 2 mg/kg. Sõltuvalt fosfoonhappe looduslikust foonist ning põllu suurusest ei pruugi madala fosfoonhappe sisaldusega orgaanilise toote kasutamine põhjustada aine akumuleerumist taimes. Sõltuvalt mulla pH-st moodustavad nii looduslikult mullas sisalduvad kui mulda viidud fosfor- ja fosfoonhappe anioonid alumiiniumi-, raua- ja kaltsiumikatioonidega soolasid ja adsorptsiooni tõttu tekkinud komplekse. Soolade koostis sõltub mulla pH-st.

Külvikordade rotatsiooni käigus põllukultuurid vahetuvad. Juhul kui taimedel puudub kompleksidesse seotud fosfoonhappe omastamise võime, jääb viimane neile kättesaamatuks. Külvikordade rotatsiooniga kaasneb veel teinegi oluline aspekt. Teadaolevalt tatar mükoriisat ei moodusta. Mükoriisa säilitab fosfaate polüfosfaatidena ja annab seetõttu teatud põllukultuuridele fosfaatide omastamisel eelise. Mõlemal juhul võib võrreldes fosforhappega fosfoonhappe sisaldus mullas aastate lõikes pigem suureneda. Teadlik valik anorgaaniliste ja orgaaniliste toodete osas sõltuvalt mulla pH-st, omadustest ning viljeleva kultuuri sobivusest konkreetse põllu mullastikuga vähendab pestitsiidide jääkide sisaldust mahetoodetes. Tatra olulisus haljaskultuurina seisnebki tema sobivuses varieeruva pH-ga muldadele (pH 4.5 - 7.5) ning taime võimes eritada mulda oblikhapet ehk oksaalhapet ja *d*-2,3-dihüdroksübutaandihapet ehk viinhapet, mis lahustavad kompleksidesse seotud fosforit. Kompleksides sisalduv fosfoonhape on kättesaadav ka orgaanilisi happeid eritavatele mikroorganismidele. Fosfoonhapet oksüdeerivate mullaorganismide arvukuse ja/või aktiivsust tõstmine ning neile sobiva elukeskkonna loomine võiks soodustada fosfoonhappe vähenemist mullas.

Lisaks tatra seemnetele on fosfonaate leitud sarikaliste ja ristõieliste taimede seemnetest ning teraviljadest. Fosfoonhappe ja/või fosetüüliga tehtud põldkatsetest selgus fosfoonhappe akumuleerumine ka mugulates, lehtedes ja vartes. Kõrge veesisaldusega taimedes püsib fosetüüli sisaldus kuni 12 kuud ning tärkliserikastes toodetes kuni 5 kuud. Seemnete säilitamisel sügavkülmas (alates -18 ^{o}C ja sellest madalamal temperatuuril) säilub fosetüüli, fosfoonhappe ja nende soolade sisaldus vähemalt kaks aastat.

Sarnaselt maisitaimedele, kus kõrge fosforhappe omastamisega kaasneb taimede resistentsus mullas sisalduva alumiiniumi suhtes, võib fosforhappe omastamine varieeruda ka tatra taimedes. Tatra sortide alumiiniumi resistentsust presenteeriti juba 2005. aastal. Kuna ensüümid, mis vahendavad fosforhappe ja fosfoonhappe sisenemist taimede juurtesse, ei tee mainitud ainete struktuuridel vahet, võib taimede kõrge fosforhappe omastamisega kaasneda kõrge fosfoonhappe omastamine. Teadaolevalt ei ole seda katseliselt uuritud. Madalama fosforhappe omastamise võimega tatrasordi/sortide leidmine võiks aidata vähendada fosfoonhappe esinemise riski tatraseemnetes ja ka teistest põllukultuurides.

Kirjanduse läbitöötamisel selgus, et fosetüül-Al tuvastamisel mahetatra toodangus võis eksitavaks asjaoluks olla selle kemikaali sisalduse esitlemine, sest fosetüül-Al, fosfoonhappe ja fosetüüli sisaldust väljendatakse nende summaarse tulemusena. Taimed omastavad mullas sisalduvat fosfoonhapet juurte kaudu ning kirjanduses esinevad andmed ei välista ühtegi põllu

-, marja- ja viljakultuuri, kus see omadus puudub. Aruande koostamise hetkel ei ole teada, kas või milliseid orgaanilisi tooteid mahepõldudel kasutati, mille toodangust leiti keelatud aineid. Selle tulemusena ei saa välistada fosfoonhappe sattumist põldudele seoses kodumaiste või imporditud orgaaniliste toodetega. Fosfoonhappe sisaldus orgaanilises tootes ei pruukinud olla kõrge, kuid väetamise ja anoksilise mulla koosmõju võis soodustada kõrgemat fosfoonhappe sisaldust tatraseemnetes.

Ettevaatusmeetmed mahetootjatele:

- Tatrataimede õitsemine ja seemnete moodustamise ajal on soovitav teha mullaanalüüse. Juhul ku tulemused näitavad kõrget fosfoonhappe sisaldust, on suure tõenäosusega sarnast tulemust oodata tatraseemnete analüüsides.

- Vältida fosfoonhapet sisaldavate haljasväetiste mulda kündmist, kuna see viib taimedes akumuleerunud fosfoonhappe taas mulda.

- Vajalik on mikroorganismide koosluse ja/või aktiivsuse hindamine mullas. Mikroorganismidest sõltub fosforhappe keemiline muundumine fosfoonhappeks ja vastupidi.

- Mulla omaduste (pH, orgaanilise aine sisaldus, katioonide sisaldus) regulaarne monitooring. Mulla omadustest sõltub mulda viidavate mineraalsete ja orgaaniliste väetiste kogus. Oluline on vältida põldude üleväetamist ning vähendada fosforühendite mullas püsimist läbi adsorptsiooni/sorptsiooni protsesside.

- Fosfoonhappe sisalduse analüüs orgaanilistes toodetes enne nende põllul kasutamist.

- Võimalusel kasvatada selliseid tatrasorte, millel on madal fosfori omastatavus.

Kasutatud kirjandus

Adnan, M., S. Fahad, I.A. Khan, M. Saeed, M.Z. Ihsan, S. Saud, M. Riaz, D.P. Wang and C. Wu. 2019. Integration of poultry manure and phosphate solubilizing bacteria improved availability of Ca bound P in calcareous soils. 3 Biotech. 9:(10):368. doi:10.1007/s13205-019-1894-2.

Anijago, A. 2017. Mulla keemiliste omaduste mõju puutuha efektiivsusele P, K, Ca ja Mg väetisena. *In* Põllumajandus- ja keskkonna instituut. Eesti Maaülikool, Tartu. http://hdl.handle.net/10492/3241

Antier, C., R. Andersson, O. Auskalnienė, K. Barić, P. Baret, G. Besenhofer, I. Calha, D. Carrola, S. Santos, B. De Cauwer, D. Chachalis, Z. Dorner, S. Follak, D. Forristal, S. Gaskov, J.L. Gonzalez Andujar, R. Hull, H. Jalli, R. Kierzek, J. Kiss, P. Kudsk, C. Leonhardt, R. Leskovšek, H. Mennan, A. Messéan, J. Ņečajeva, E. Mullins, P. Neve, V. Pedraza, A. Pintar, X. Reboud, M. Redl, M. Riemens, B. Ringselle, P. Ruuttunen, M. Sattin, M. Simić, J. Soukup, E. Stefanic, S. Steinkellner, J. Storkey, L. Ulber, B. Weickmans and J. Wirth. 2020. A survey on the uses of glyphosate in European countries, INRAE. doi:10.15454/A30K-D531

Archambault, D.J., G.C. Zhang and G.J. Taylor. 1997. Spatial variation in the kinetics of aluminium (Al) uptake in roots of wheat (*Triticum aestivum* L.) exhibiting differential resistance to Al.: Evidence for metabolism-dependent exclusion of Al. Journal of Plant Physiology. 151:668-674. doi:10.1016/S0176-1617(97)80063-6

Aubert, L. and M. Quinet. 2022. Comparison of heat and drought stress responses among twelve tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) Varieties. Plants-Basel. 11(11: 1517. doi:10.3390/plants11111517

Aubert, L., C. Decamps, G. Jacquemin and M. Quinet. 2021a. Comparison of plant morphology, yield and nutritional quality of *Fagopyrum esculentum* and *Fagopyrum tataricum* grown under field conditions in Belgium. Plants-Basel. 10(2): 258. doi: 10.3390/plants10020258

Aubert, L., D. Konrádová, S. Barris and M. Quinet. 2021b. Different drought resistance mechanisms between two buckwheat species *Fagopyrum esculentum* and *Fagopyrum tataricum*. Physiologia Plantarum. 172:577-586. doi: 10.1111/ppl.13248

Baldwin, D.S. and A.M. Mitchell. 2000. The effects of drying and re-flooding on the sediment and soil nutrient dynamics of lowland river-floodplain systems: A synthesis. Regulated Rivers-Research & Management. 16:457-467. https://doi.org/10.1002/1099-1646(200009/10)16:5<457::AID-RRR597>3.0.CO;2-B

Barcelo, J. and C. Poschenrieder. 2002. Fast root growth responses, root exudates, and internal detoxification as clues to the mechanisms of aluminium toxicity and resistance: a review. Environmental and Experimental Botany. 48:75-92. https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00013-8

Basu, U., A.G. Good, T. Aung, J.J. Slaski, A. Basu, K.G. Briggs and G.J. Taylor. 1999. A 23-kDa, root exudate polypeptide co-segregates with aluminum resistance in *Triticum aestivum*. Physiologia Plantarum. 106:53-61. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1999.106108.x

Bnn, 2020. BNN fact sheet. Phosphonic acid, potassium phosphonate (potassium salt of phosphonic acid), fosetyl-aluminium. Available at: https://n-bnn.de/sites/default/dateien/2020_Factsheet_Phosphonic_Acid_en.pdf.

Bogati, K. and M. Walczak. 2022. The impact of drought stress on soil microbial community, enzyme activities and plants. Agronomy-Basel. 12: 189. https://doi.org/10.3390/agronomy12010189

Botten, N., L.J. Wood and J.R. Werner. 2021. Glyphosate remains in forest plant tissues for a decade or more. Forest Ecology and Management. 493:119259. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119259

Bown, L., R. Hirota, M.N. Goettge, J. Cui, D.T. Krist, L.Y. Zhu, C. Giurgiu, W.A. van der Donk, K.S. Ju and W.W. Metcalf. 2023. A novel pathway for biosynthesis of the herbicidal phosphonate natural product phosphonothrixin is widespread in actinobacteria. Journal of Bacteriology. 205(5):e0048522. doi: 10.1128/jb.00485-22.

Brouns, F. 2022. Phytic acid and whole grains for health controversy. Nutrients. 14 (1):25. doi: 10.3390/nu14010025.

Cade-Menun, B.J. 2005. Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy. Talanta. 66:359-371. doi: 10.1016/j.talanta.2004.12.024.

Chang, B. and E. Guertal. 2023. Phosphite, phosphate, and their interactions in soil and turfgrass. Grass Research. 3:13. doi:10.48130/GR-2023-0013

Chiu, C.H. and U. Paszkowski. 2019. Mechanisms and impact of symbiotic phosphate acquisition. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology. 11 (6):a034603. doi: 10.1101/cshperspect.a034603.

Cichy, K. and V. Raboy. 2009. Evaluation and development of low-phytate crops. In Modification of Seed Composition to Promote Health and Nutrition Ed. H. Krishnan, pp 177-200. https://doi.org/10.2134/agronmonogr51.c8

Colombo, C., E. di Iorio, Q.S. Liu, Z.X. Jiang and V. Barrón. 2018. Iron oxide nanoparticles in soils: Environmental and Agronomic Importance (vol 17, pg 4449, 2017). Journal of Nanoscience and Nanotechnology. 18:761-761. doi:10.1166/jnn.2018.15294

Colla, G. and Y. Rouphael. 2020. Microalgae: new source of plant biostimulants. Agronomy-Basel. 10(9), 1240. https://doi.org/10.3390/agronomy10091240

Coulibaly, A., B. Kouakou and J. Chen. 2011. Phytic acid in cereal grains: structure, healthy or harmful ways to reduce phytic acid in cereal grains and their effects on nutritional quality. American Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology. 1:1-22. doi: 10.3923/ajpnft.2011.1.22

Dann, E. and A. McLeod. 2021. Phosphonic acid: a long-standing and versatile crop protectant. Pest Management Science. 77:2197-2208. doi: 10.1002/ps.6156.

Danova-Alt, R., C. Dijkema, P. De Waard and M. Köck. 2008. Transport and compartmentation of phosphite in higher plant cells -: kinetic and ^{31}P nuclear magnetic resonance studies. Plant Cell and Environment. 31:1510-1521. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01861.x

De Araujo, L.M.C., E. Sampaio and M.D.B. De Araujo. 2015. Phosphorus desorption from Fe and Al oxides mediated by soil microorganisms. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 46:633-640. https://doi.org/10.1080/00103624.2015.1005218

EFSA. 2005. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fosetyl. *In* EFSA Scientific Report, pp 1-79. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5307

EFSA. 2018. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fosetyl. Appendix A - List of end points for the active substance and the representative formulation. https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/action/downloadSupplement?doi=10.2903%2Fj.efsa.2018.5307&file=efs25307-sup-0001-Appendix_A.pdf

EFSA (European Food Safety Authority). 2022. Reasoned opinion on the modification of the existing maximum residue levels for fosetyl/phosphonic acid in chards/beet leaves and honey resulting from the use of potassium phosphonates. EFSA Journal. 20(1):6992, 30 pp. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.6992

EFSA (European Food Safety Authority). 2023. Reasoned opinion on the modification of the existing maximum residue levels in leeks and spring onions/green onions/Welsh onions resulting from the use of potassium phosphonates. EFSA Journal.21(5):8033, 29 pp. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8033.

Eliot, A.C., B.M. Griffin, P.M. Thomas, T.W. Johannes, N.L. Kelleher, H.M. Zhao and W.W. Metcalf. 2008. Cloning, expression, and biochemical characterization of streptomyces rubellomurinus genes required for biosynthesis of antimalarial compound FR900098. Chemistry & Biology. 15:765-770. doi: 10.1016/j.chembiol.2008.07.010.

FAO. Fosetyl-aluminium (302), phosphonic acid (301), http://nyfzx.com/pdf/fx/fosetyl-aluminium%20Evaluation%20(T,%20R)%202017.pdf.

Foster, T.L., L. Winans and S.J.S. Helms. 1978. Anaerobic utilization of pfosphite and hypophosphite by *Bacillus* sp. Applied and Environmental Microbiology. 35(5): 937-944. doi:10.1128/aem.35.5.937-944.1978.

Fuchs, B., K. Saikkonen, A. Damerau, B. Yang and M. Helander. 2023. Herbicide residues in soil decrease microbe-mediated plant protection. Plant Biology. 25(4): 571-578. https://doi.org/10.1111/plb.13517

Gaugler, P., R. Schneider, G.Z. Liu, D.Y. Qu, J. Weber, J. Schmid, N. Jork, M. Haner, K. Ritter, N. Fernandez-Rebollo, R.F.H. Giehl, M.N. Trung, R. Yadav, D. Fiedler, V. Gaugler, H.J. Jessen, G. Schaaf and D. Laha. 2022. *Arabidopsis* PFA-DSP-type phosphohydrolases target specific inositol pyrophosphate messengers. Biochemistry. 61(12): 1213-1227. https://doi.org/10.1021/acs.biochem.2c00145

Gaume, A., F. Mächler and E. Frossard. 2001. Aluminium resistance in two cultivars of *Zea mays* L.:root exudation of organic acids and influence of phosphorus nutrition. Plant and Soil. 234: 73-81. https://doi.org/10.1023/A:1010535132296

Gimsing, A.L., O.K. Borggaard and M. Bang. 2004. Influence of soil composition on adsorption of glyphosate and phosphate by contrasting Danish surface soils. European Journal of Soil Science. 55(1): 183-191. doi:10.1046/j.1365-2389.2003.00585.x

Gillaspy, G.E. 2011. The cellular language of *myo*-inositol signaling. New Phytologist. 192(4): 823-839. doi: 10.1111/j.1469-8137.2011.03939.x.

Gómez-Merino, F.C. and L.I. Trejo-Téllez. 2015. Biostimulant activity of phosphite in horticulture. Scientia Horticulturae. 196:82-90. http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.035

Gulabani, H., K. Goswami, Y. Walia, A. Roy, J.J. Noor, K.D. Ingole, M. Kasera, D. Laha, R.F.H. Giehl, G. Schaaf and S. Bhattacharjee. 2022. *Arabidopsis* inositol polyphosphate kinases IPK1 and ITPK1 modulate crosstalk between SA-dependent immunity and phosphate-starvation responses. Plant Cell Reports. 41:347-363. doi: 10.1007/s00299-021-02812-3

Gupta, R.K., S.S. Gangoliya and N.K. Singh. 2015. Reduction of phytic acid and enhancement of bioavailable micronutrients in food grains. Journal of Food Science and Technology-Mysore. 52:676-684. doi:10.1007/s13197-013-0978-y

Hacker, K., A. Benkenstein, E. Eichhorn, D. Kolberg, C. Wildgrube, E. Scherbaum and M. Anastassiades. 2016. Fosetyl and phosphonic acid – residue situation asnd some interesting facts. https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlSRM/EPRW2016_Hacker_PR_006_Phosphonic-acid_Fosetyl.pdf

Hagerberg, D. and H. Wallander. 2002. The impact of forest residue removal and wood ash amendment on the growth of the ectomycorrhizal external mycelium. Fems Microbiology Ecology. 39:139-146. doi: 10.1111/j.1574-6941.2002.tb00915.x.

Han, T.L., K. Zhou, J.Y. Chao, X.T. Xu, T. Zhang, Y. Wang and M. Kong. 2023. Sulfate reduction promotes the release of organic phosphorus and iron-bound phosphorus in black-odor sediments in response to increased temperatures. Journal of Soils and Sediments. 23:3191-3200. https://doi.org/10.1007/s11368-023-03562-3

Havlin, J.L. and A.J. Schlegel. 2021. Review of phosphite as a plant nutrient and fungicide. Soil Systems. 5(3): 52. https://doi.org/10.3390/soilsystems5030052

Hayes, J.E., R.J. Simpson and A.E. Richardson. 2000. The growth and phosphorus utilisation of plants in sterile media when supplied with inositol hexaphosphate, glucose 1-phosphate or inorganic phosphate. Plant and Soil. 220:165-174. https://doi.org/10.1023/A:1004782324030

Hernández, F., J.V. Sancho, O.J. Pozo, C. Villaplana, M. Ibáñez and S. Grimalt. 2003. Rapid determination of fosetyl-aluminum residues in lettuce by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. Journal of AOAC International. 86:832-838. doi:10.1093/jaoac/86.4.832

Hijikata, N., M. Murase, C. Tani, R. Ohtomo, M. Osaki and T. Ezawa. 2010. Polyphosphate has a central role in the rapid and massive accumulation of phosphorus in extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. New Phytologist. 186:285-289. doi: 10.1111/j.1469-8137.2009.03168.x.

Horta, C. 2019. Fertilisation with Compost: fffects on soil phosphorus sorption and on phosphorus availability in acid soils. Open Journal of Soil Science, pp 255-268. doi: 10.4236/ojss.2019.912016

Hou, E.Q., C.R. Chen, Y.Q. Luo, G.Y. Zhou, Y.W. Kuang, Y.G. Zhang, M. Heenan, X.K. Lu and D.Z. Wen. 2018. Effects of climate on soil phosphorus cycle and availability in natural terrestrial ecosystems. Global Change Biology. 24:3344-3356. https://doi.org/10.1111/gcb.14093

Johan, P.D., O.H. Ahmed, L. Omar and N.A. Hasbullah. 2021. Phosphorus transformation in soilsf co-application of charcoal and wood ash. Agronomy. 11(10). https://doi.org/10.3390/agronomy11102010

Kahli, H., L. Béven, C. Grauby-Heywang, N. Debez, I. Gammoudi, F. Moroté, H. Sbartai and T. Cohen-Bouhacina. 2022. Impact of growth conditions on *Pseudomonas fluorescens* morphology characterized by atomic force microscopy. International Journal of Molecular Sciences. 23(17): 9579. doi:10.3390/ijms23179579

Kamat, S.S., H.J. Williams and F.M. Raushel. 2011. Intermediates in the transformation of phosphonates to phosphate by bacteria. Nature. 480:570-573. https://doi.org/10.1038/nature10622

Kehler, A., P. Haygarth, F. Tamburini and M. Blackwell. 2021. Cycling of reduced phosphorus compounds in soil and potential impacts of climate change. European Journal of Soil Science. 72:2517-2537. https://doi.org/10.1111/ejss.13121

Khan, F., A. Siddique, S. Shabala, M.X. Zhou and C.C. Zhao. 2023. Phosphorus plays key roles in regulating plants' physiological responses to abiotic stresses. Plants. 12(15): 2861-2863. doi:10.3390/plants12152861

Kim, H.J. and X.X. Li. 2016. Effects of phosphorus on shoot and root growth, partitioning, and phosphorus utilization efficiency in lantana. Hortscience. 51:1001-1009. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.51.8.1001

Kim, S., V.A. Sinclair, J. Raisanen and R. Ruuhela. 2018. Heat waves in Finland: present and projected summertime extreme temperatures and their associated circulation patterns. International Journal of Climatology. 38:1393-1408. https://doi.org/10.1002/joc.5253

Kim, S.Y., K.S. Ju, W.W. Metcalf, B.S. Evans, T. Kuzuyama and W.A. van der Donk. 2012. Different biosynthetic pathways to fosfomycin in *Pseudomonas syringae* and *Streptomyces* species. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 56:4175-4183. doi:10.1128/AAC.06478-11

Komisjoni rakendusmäärus (EL) 2021/1165, 15. juuli 2021, millega lubatakse mahepõllumajanduslikus tootmises kasutada teatavaid tooteid ja aineid ning koostatakse nende loetelud. https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/ALL/?uri=CELEX:32021R1165

Kumar, P. and A. Libchaber. 2013. Pressure and temperature dependence of growth and morphology of *Escherichia coli*: experiments and stochastic model. Biophysical Journal. 105:783-793. doi:10.1016/j.bpj.2013.06.029

Kuroda, A., S. Tanaka, T. Ikeda, J. Kato, N. Takiguchi and H. Ohtake. 1999. Inorganic polyphosphate kinase is required to stimulate protein degradation and for adaptation to amino acid starvation in *Escherichia coli*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 96:14264-14269. doi: 10.1073/pnas.96.25.14264

Laha, D., P. Johnen, C. Azevedo, M. Dynowski, M. Weiss, S. Capolicchio, H.B. Mao, T. Iven, M. Steenbergen, M. Freyer, P. Gaugler, M.K.F. de Campos, N. Zheng, I. Feussner, H.J. Jessen, S.C.M. Van Wees, A. Saiardi and G. Schaaf. 2015. VIH2 Regulates the synthesis of inositol pyrophosphate InsP(8) and jasmonate-dependent defenses in *Arabidopsis*. Plant Cell. 27:1082-1097. doi: 10.1105/tpc.114.135160

Laha, N.P., R.F.H. Giehl, E. Riemer, D.Y. Qiu, N.J. Pullagurla, R. Schneider, Y.W. Dhir, R. Yadav, Y.E. Mihiret, P. Gaugler, V. Gaugler, H.B. Mao, N. Zheng, N. von Wiren, A. Saiardi, S. Bhattacharjee, H.J. Jessen, D. Laha and G. Schaaf. 2022. INOSITOL (1,3,4) TRIPHOSPHATE 5/6 KINASE1-dependent inositol polyphosphates regulate auxin

responses in *Arabidopsis*. Plant Physiology. 190:2722-2738. doi: 10.1093/plphys/kiac425

Lambers, H., M.W. Shane, M.D. Cramer, S.J. Pearse and E.J. Veneklaas. 2006. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: Matching morphological and physiological traits. Annals of Botany. 98:693-713. https://doi.org/10.1093/aob/mcl114

Li, X.J., S. Wang, Z. Guo, X.Q. Li, Q.H. Zhang and H.M. Li. 2021. Determination of fosetyl-Aluminum in wheat flour with extract-dilute-shoot procedure and hydrophilic interaction liquid chromatography tandem mass spectrometry. Separations. 8(11): 197. https://doi.org/10.3390/separations8110197

Lippens, C. and J. De Vrieze. 2019. Exploiting the unwanted: Sulphate reduction enables phosphate recovery from energy-rich sludge during anaerobic digestion. Water Research. 163: 114859. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.114859

Liu, L.Y., X.Q. Zheng, X.C. Wei, Z. Kai and Y. Xu. 2021. Excessive application of chemical fertilizer and organophosphorus pesticides induced total phosphorus loss from planting causing surface water eutrophication. Scientific Reports. 11(1). doi:10.1038/s41598-021-02521-7

Liu, X., R. Han, Y. Cao, B.L. Turner and L.Q. Ma. 2022. Enhancing phytate availability in soils and phytate-P acquisition by plants: A Review. Environmental Science & Technology. 56(13): 9196-9219. https://doi.org/10.1021/acs.est.2c00099

López-Arredondo, D.L. and L. Herrera-Estrella. 2012. Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control system. Nature Biotechnology. 30:889-893. doi: 10.1038/nbt.2346.

López-Arredondo, D.L., M.A. Leyva-González, S.I. González-Morales, J. López-Bucio and L. Herrera-Estrella. 2014. Phosphate nutrition: Improving low-phosphate tolerance in crops. Annual Review of Plant Biology, Vol 65. 65:95-123. doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-035949.

Lorenzo-Orts, L., D. Couto and M. Hothorn. 2020. Identity and functions of inorganic and inositol polyphosphates in plants. New Phytologist. 225:637-652. doi: 10.1146/annurev-arplant-050213-035949

Ma, J.F. 2000. Role of organic acids in detoxification of aluminum in higher plants. Plant and Cell Physiology. 41:383-390. doi: 10.1093/pcp/41.4.383

Mahgoub, S.E.O. and S.A. Elhag. 1998. Effect of milling, soaking, malting, heat treatment and fermentation on phytate level of four *Sudanese sorghum* cultivars. Food Chemistry. 61:77-80. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00109-X

Manghi, M.C., M. Masiol, R. Calzavara, P.L. Graziano, E. Peruzzi and B. Pavoni. 2021. The use of phosphonates in agriculture. Chemical, biological properties and legislative issues. Chemosphere. 283: 131187. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131187

Metcalf, W.W. and W.A. van der Donk. 2009. Biosynthesis of phosphonic and phosphinic acid natural products. Annual Review of Biochemistry. 78: 65-94. doi: 10.1146/annurev.biochem.78.091707.100215.

Micó, M.M., A. Zapata, M.I. Maldonado, J. Bacardit, J. Malfeito and C. Sans. 2014. Fosetyl-Al photo-Fenton degradation and its endogenous catalyst inhibition. Journal of Hazardous Materials. 265:177-184. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2013.11.064

Moreno-Alvarado, M., S. García-Morales, L.I. Trejo-Téllez, J.V. Hidalgo-Contreras and F.C. Gómez-Merino. 2017. Aluminum enhances growth and sugar concentration, alters macronutrient status and regulates the expression of *NAC* transcription factors in rice. Frontiers in Plant Science. 8: 73. doi: 10.3389/fpls.2017.00073

Morillo, E., T. Undabeytia, C. Maqueda and A. Ramos. 2000. Glyphosate adsorption on soils of different characteristics. Influence of copper addition. Chemosphere. 40:103-107. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00255-6

Munira, S., A. Farenhorst and W. Akinremi. 2018. Phosphate and glyphosate sorption in soils following long-term phosphate applications. Geoderma. 313:146-153. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.030

Nader, W., A. Zahm and J. Jaschik. 2023. Phosphonic acid in plant-based food and feed products-Where does it come from? Food Control. 150: 109701. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.109701

Nahas, E. 1996. Factors determining rock phosphate solubilization by microorganisms isolated from soil. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 12:567-572. doi: 10.1007/BF00327716

Nedwell, D.B. 1999. Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. Fems Microbiology Ecology. 30:101-111. https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00639.x

Nguyen, D., Y. Poeschl, T. Lortzing, R. Hoogveld, A. Gogol-Doring, S.M. Cristescu, A. Steppuhn, C. Mariani, I. Rieu and N.M. van Dam. 2018. Interactive responses of *Solanum dulcamara* to drought and insect feeding are herbivore species-specific. International Journal of Molecular Sciences. 19(12): 3845. doi: 10.3390/ijms19123845.

Nowruzi, B., N. Bouaïcha, J.S. Metcalf, S.J. Porzani and O. Konur. 2021. Plant-cyanobacteria interactions: Beneficial and harmful effects of cyanobacterial bioactive compounds on soil-plant systems and subsequent risk to animal and human health. Phytochemistry. 192: 112959. doi: 10.1016/j.phytochem.2021.112959.

Nussaume, L., S. Kanno, H. Javot, E. Marin, N. Pochon, A. Ayadi, T.M. Nakanishi and M.C. Thibaud. 2011. Phosphate import in plants: focus on the PHT1 transporters. Frontiers in Plant Science. 2: 83. doi:10.3389/fpls.2011.00083

Omar, S.A. 1998. The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbusular-mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. World Journal of Microbiology & Biotechnology. 14:211-218. https://doi.org/10.1023/A:1008830129262

Pazouki, L., H. R. Memari, A. Kännaste , R. Bichele and Ü. Niinemets. 2015. Germacrene A synthase in yarrow *(Achillea millefolium*) is an enzyme with mixed substrate specificity: gene cloning, functional characterization and expression analysis. Fronties in Plant Science. 6:111. doi: 10.3389/fpls.2015.00111.

Papakaloudis, P. and C. Dordas. 2023. Phosphorus fertilization affects morphological, physiological and agronomic characteristics of faba bean cultivars. Sustainability. 15(17): 13172. https://doi.org/10.3390/su151713172

Park, K.H., C.Y. Lee and H.J. Son. 2009. Mechanism of insoluble phosphate solubilization by *Pseudomonas fluorescens* RAF15 isolated from ginseng rhizosphere and its plant

growth-promoting activities. Letters in Applied Microbiology. 49:222-228. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02642.x

Pasek, M.A., J.M. Sampson and Z. Atlas. 2014. Redox chemistry in the phosphorus biogeochemical cycle. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 111:15468-15473. https://doi.org/10.1073/pnas.1408134111

Pellet, D.M., L.A. Papernik and L.V. Kochian. 1996. Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat - Roles of root apical phosphate and malate exudation. Plant Physiology. 112:591-597. doi: 10.1104/pp.112.2.591

Penn, C.J. and J.J. Camberato. 2019. A critical review on soil chemical processes that control how soil pH affects phosphorus availability to plants. Agriculture-Basel. 9(6): 120. https://doi.org/10.3390/agriculture9060120

Penu, P. 2005. Eesti muldadest põllumehele. https://www.digar.ee/arhiiv/nlib-digar:231

Pereira, A.C. and R.M. Papini. 2015. Processes for phosphorus removal from iron ore - a review. REM – International Engineering Journal. 68(3): 331-335. doi:10.1590/0370-44672014680202

Petrasek, J. and J. Friml. 2009. Auxin transport routes in plant development. Development. 136:2675-2688. doi: 10.1242/dev.030353.

Possinger, A.R., L.B. Byrne and N.E. Breen. 2013. Effect of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) on soil-phosphorus availability and organic acids. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 176:16-18. https://doi.org/10.1002/jpln.201200337

Price, G. 2006. Australian Soil Fertility Manual. Inc. & CSIRO, Collingwood, Australia. doi: 10.1071/9780643100725

Qiu, L.Q. and R.G. Cooks. 2022. Simultaneous and spontaneous oxidation and reduction in microdroplets by the water radical cation/anion pair. Angewandte Chemie-International Edition. 134: e202210. https://doi.org/10.1002/ange.202210765

Qu, Q., Z. Wang, Q. Gan, R.T. Liu and H.W. Xu. 2023. Impact of drought on soil microbial biomass and extracellular enzyme activity. Frontiers in Plant Science. 14: 1221288. doi: 10.3389/fpls.2023.1221288

Rafique, M., I. Ortas, M. Rizwan, H.J. Chaudhary, A.R. Gurmani and M.F.H. Munis. 2020. Residual effects of biochar and phosphorus on growth and nutrient accumulation by maize (*Zea mays* L.) amended with microbes in texturally different soils. Chemosphere. 238: 124710. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124710.

Richardson, A.E. and R.J. Simpson. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. Plant Physiology. 156:989-996. https://doi.org/10.1104/pp.111.175448

Roberts, E., D.G. Simonsen, K. Horiguchi and J.S. Kittredge. 1968. Transamination of aminoalkylphosphonic acids with alpha ketoglutarate. Science. 159(3817): 886-888. doi: 10.1126/science.159.3817.886.

Santana, M.M. and J.M. González. 2015. High temperature microbial activity in upper soil layers. Fems Microbiology Letters. 362: fnv182. https://doi.org/10.1093/femsle/fnv182

Shasha, B.S., M.R McGuire and R.W. Behle. 1998. Lignin-based pest control formulations, A01N 25/04; A01N 25/10; AON 25/24 ed. The United States of America as represented by the Secretary of Agriculture, Washington, D.C.; Biotechninology Research & Development Corporation, Peoria, Ill., United States of America, p. 22.

Schilder, A. 2008. Effect of water pH on the stability of pesticides. Michigan State University, https://www.canr.msu.edu/news/effect_of_water_ph_on_the_stability_of_pesticides.

Sekiyama, A., E. Toriumi and Y. Yamada. 2021. Single- and multiple-laboratory validation of LC-MS/MS method for simultaneous determination of fosetyl-Al and phosphonic acid in cereal grains and analysis of rice, wheat, and barley. Journal of AOAC INTERNATIONAL. 104(5): 1298–1307. doi: 10.1093/jaoacint/qsab063.

Sharma, A., P.P. Chaudhary, S.K. Sirohi and J. Saxena. 2011. Structure modeling and inhibitor prediction of NADP oxidoreductace enzyme from Methanobrevibacter smithii. Bioinformation. 6(1): 15-19. doi:10.6026/97320630006015

Sharma, S., L.H.D. AnandKumar, A. Tyagi, M. Muthumilarasan, K. Kumar and K. Gaikwad. 2022. An insight into phytic acid biosynthesis and its reduction strategies to improve mineral bioavailability. Nucleus-India. 65:255-267. https://doi.org/10.1007/s13237-021-00371-2

Siebielec, S., G. Siebielec, A. Klimkowicz-Pawlas, A. Galazka, J. Grzadziel and T. Stuczynski. 2020. Impact of water stress on microbial community and activity in sandy and loamy soils. Agronomy. 10(9): 1429. https://doi.org/10.3390/agronomy10091429.

Simon, M.A., C. Ongpipattanakul, S.K. Nair and W.A. van der Donk. 2021. Biosynthesis of fosfomycin in pseudomonads reveals an unexpected enzymatic activity in the metallohydrolase superfamily. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 118(23):e2019863118. doi: 10.1073/pnas.2019863118

Singh, V.K., S.M. Wood, V.L. Knowles and W.C. Plaxton. 2003. Phosphite accelerates programmed cell death in phosphate-starved oilseed rape (*Brassica napus*) suspension cell cultures. Planta. 218:233-239. doi: 10.1007/s00425-003-1088-2

Song, C., C.R.Ma and D.B. Xiang. 2019. Variations in accumulation of lignin and cellulose and metabolic changes in seed hull provide insight into dehulling characteristic of tartary buckwheat seeds. International Journal of Molecular Sciences. 20(3), 524. https://doi.org/10.3390/ijms20030524.

Srivastava, S., V. Anand, J. Kaur, M. Ranjan, V. Bist and M.H. Asif. 2022. Functional genetic diversity and plant growth promoting potential of polyphosphate accumulating bacteria in soil. Microbiology Spectrum. 10(1): e0034521. doi: 10.1128/spectrum.00345-21.

Steadman, K.J., M.S. Burgoon, B.A. Lewis, S.E. Edwardson and R.L. Obendorf. 2001. Minerals, phytic acid, tannin and rutin in buckwheat seed milling fractions. Journal of the Science of Food and Agriculture. 81:1094-1100. https://doi.org/10.1002/jsfa.914

Stutter, M.I., C.A. Shand, T.S. George, M.S.A. Blackwell, L. Dixon, R. Bol, R.L. MacKay, A.E. Richardson, L.M. Condron and P.M. Haygarth. 2015. Land use and soil factors affecting accumulation of phosphorus species in temperate soils. Geoderma. 257:29-39. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2015.03.020

Sun, R.B., D.D. Myrold, D.Z. Wang, X.S. Guo and H.Y. Chu. 2019. AOA and AOB communities respond differently to changes of soil pH under long-term fertilization. Soil Ecology Letters. 1:126-135. https://doi.org/10.1007/s42832-019-0016-8

Syvyi, M., P. Demyanchuk, B. Havryshok and B. Zablotskyi. 2019. Phosphates of Ukraine as raw materials for the production of mineral fertilizers and ameliorants. Gospodarka Surowcami Mineralnymi-Mineral Resources Management. 35:5-25. doi: 10.24425/gsm.2019.128543.

Zheng, S.J., J.L. Yang, Y.F. He, X.H. Yu, L. Zhang, J.F. You, R.F. Shen and H. Matsumoto. 2005. Immobilization of aluminum with phosphorus in roots is associated with high aluminum resistance in buckwheat. Plant Physiology. 138:297-303. https://doi.org/10.1104/pp.105.059667

Zhou, D.M., Y.J. Wang, L. Cang, X.Z. Hao and X.S. Luo. 2004. Adsorption and cosorption of cadmium and glyphosate on two soils with different characteristics. Chemosphere. 57:1237-1244. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.08.043

Talgre, L. and A. Luik. 2023. Haljasväetis - mullaviljakuse parandaja. Eesti Maaülikooli Mahekeskus ja Eesti Maaülikool, Tartu. https://www.maheklubi.ee/upload/Editor/Haljasvaetis-mullaviljakuse-parandaja_2023.pdf

Testerink, C. and T. Munnik. 2011. Molecular, cellular, and physiological responses to phosphatidic acid formation in plants. Journal of Experimental Botany. 62:2349-2361. doi: 10.1093/jxb/err079.

Ticconi, C.A., C.A. Delatorre and S. Abel. 2001. Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in arabidopsis. Plant Physiology. 127:963-972. doi: 10.1104/pp.010396

Tokarz, E. and D. Urban. 2015. Soil redox potential and its impact on microorganisms and plants of wetlands. Journal of Ecological Engineering. 16(3): 20-30. doi:10.12911/22998993/2801

Trinchera, A., B. Parisi, V. Baratella, G. Roccuzzo, I. Soave, C. Bazzocchi, D. Fichera, M. Finotti, F. Riva, G. Mocciaro, M. Brigliadori and L. Lazzeri. 2020. Assessing the origin of phosphonic acid residues in organic vegetable and fruit crops: The Biofosf Project Multi-Actor Approach. Agronomy. 10(3): 421. https://doi.org/10.3390/agronomy10030421

van Bruggen, A.H.C., M.R. Finckh, M. He, C.J. Ritsema, P. Harkes, D. Knuth and Geissen. 2021. Indirect effects of the herbicide glyphosate on plant, animal and human health through its effects on microbial communities. Frontiers in Environmental Science. 9: 763917. doi: 10.3389/fenvs.2021.763917

Wang, L., X.W. Fan, J.L. Pan, Z.B. Huang and Y.Z. Li. 2015. Physiological characterization of maize tolerance to low dose of aluminum, highlighted by promoted leaf growth. Planta. 242:1391-1403. https://doi.org/10.1007/s00425-015-2376-3

Wang, X.M., B.L. Phillips, J.F. Boily, Y.F. Hu, Z. Hu, P. Yang, X.H. Feng, W.Q. Xu and M.Q. Zhu. 2019. Phosphate sorption speciation and precipitation mechanisms on amorphous aluminum hydroxide. Soil Systems. 3(1): 20. https://doi.org/10.3390/soilsystems3010020

Whalen, J.K., C. Chang, G.W. Clayton and J.P. Carefoot. 2000. Cattle manure amendments can increase the pH of acid soils. Soil Science Society of America Journal. 64:962-966. https://doi.org/10.2136/sssaj2000.643962x

Wieczorek, D., B. Zyszka-Haberecht, A. Kafka and J. Lipok. 2021. Phosphonates as unique components of plant seeds-A promising approach to use phosphorus profiles in plant chemotaxonomy. International Journal of Molecular Sciences. 22(21): 11501. https://doi.org/10.3390/ijms222111501

Xin, X.F., B. Kvitko and S.Y. He. 2018. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. Nature Reviews Microbiology. 16:316-328. https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.17

Yan, B., B. Wu, Y.H. Gao, J.M. Wu, J.Y. Niu, Y.P. Xie, Z.J. Cui and Z.K. Zhang. 2018. Effects of nitrogen and phosphorus on the regulation of nonstructural carbohydrate accumulation, translocation and the yield formation of oilseed flax. Field Crops Research. 219:229-241. https://doi.org/10.1016/j.fcr.2018.01.032

Yang, Z.H., Z.X. Liu, F.P. Zhao, L. Yu, W.C. Yang, M.Y. Si and Q. Liao. 2023. Organic acid, phosphate, sulfate and ammonium co-metabolism releasing insoluble phosphate by *Klebsiella aerogenes* to simultaneously stabilize lead and cadmium. Journal of Hazardous Materials. 443(Pt B):130378. doi: 10.1016/j.jhazmat.2022.130378.

Yu, H.N., P. Liu, Z.Y. Wang, W.R. Chen and G.D. Xu. 2011. The effect of aluminum treatments on the root growth and cell ultrastructure of two soybean genotypes. Crop Protection. 30:323-328. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.11.024

Yu, Z.M. and X.X. Song. 2003. Matrix-bound phosphine: A new form of phosphorus found in sediment of Jiaozhou Bay. Chinese Science Bulletin. 48:31-35. https://doi.org/10.1007/BF03183329

Zhu, F., 2016. Buckwheat starch: Structures, properties, and applications. Trends in Food Science & Technology. 49, 121-135. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.12.002.