

## POZOSTAŁOŚCI SUBSTANCJI AKTYWNYCH HERBICYDÓW IZOTURON 500 SC I SEGAL 65 WG W GLEBIE I ROŚLINACH PSZENICY JAREJ

*Arkadiusz Telesiński, Janina Nowak*

Katedra Biochemii, Akademia Rolnicza w Szczecinie

### Wstęp

W wyniku nadmiernej chemizacji i intensyfikacji rolnictwa do gleby przetrwała się i stale przedostaje się duża ilość wszelkiego rodzaju środków ochrony roślin [PRZYBULEWSKA, NOWAK 2004]. Pestycydy, a wśród nich herbicydy, ulegają w glebie różnorodnym procesom: sorpcji, wymywaniu, ulatnianiu, fotodegradacji, rozpadowi chemicznemu, rozkładowi mikrobiologicznemu oraz są pobierane przez rośliny [ADAMCZEWSKI, BANASZAK 2000]. W organizmach roślinnych środki ochrony roślin mogą blokować układy enzymatyczne, w wyniku czego można obserwować zmiany fizjologiczne, co wiąże się często z obumieraniem tkanek i komórek [STARCK i in. 1995].

Ponadto stosowanie pestycydów nie ogranicza się do jednorazowego zabiegu wykonanego przy użyciu tylko jednego preparatu, lecz obejmuje całe systemy ochrony poszczególnych upraw [MICHALCEWICZ 1995]. W literaturze często pojawiają się doniesienia o występującym efekcie synergizmu bądź antagonizmu pomiędzy różnymi substancjami aktywnymi stosowanych środków ochrony roślin [WYSOCKA-PARUSZEWSKA 1995].

Celem niniejszej pracy była ocena szybkości zanikania substancji aktywnych preparatów Izoturonu 500 SC i Segalu 65 WG: izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu w glebie oraz ewentualnego skażenia nimi roślin pszenicy w trakcie trwania doświadczenia.

### Material i metody

Doświadczenie wazonowe z pszenicą jary odmiany Kokska przeprowadzono w Hali Wegetacyjnej Akademii Rolniczej w Szczecinie w okresie od 13 maja do 1 sierpnia 2005 r. na glebie pobranej z poziomu orno-próchniczego czarnych ziem Równiny Gumienieckiej. Glebę tę charakteryzującą się składem granulometrycznym gliny pylastej lekkiej i zawartością próchnicy 1,2-1,8% [BOGDA i in. 1990], przesiano przez sito o  $\varnothing$  2 mm i podzielono na 6 kg naważki, do których dodano wodne emulsje Izoturonu 500 SC w następujących dawkach: zalecanej przez producenta – dawka I, pięciokrotnie większej – dawka II i dwudziestopięciokrotnie większej – dawka III (każda kombinacja w sześciu wazonach). Odnie-

sieniem (kontrolą) była gleba bez dodatku herbicydu (3 wazony). Następnie do każdego wazonu wysiano po 45 ziarniaków pszenicy jarej. Dawki Izoturonu 500 SC przeliczono na 1 kg leby, przyjmując gęstość gleby  $1,53 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  oraz biorąc pod uwagę warstwę gleby o głębokości 10 cm. W fazie trzech liści pszenicy (21 dzień doświadczenia), dzień przed pierwszym pomiarem, wykonano oprysk Segalem 65 WG. Dawki Segalu 65 WG przeliczono na powierzchnię  $0,3 \text{ ara}$ , następnie wyznaczono prostokąt o takiej powierzchni ( $3 \times 11 \text{ m}$ ), na którym ustawiono trzy wazony z określoną dawką Izoturonu 500 SC i wykonano oprysk Segalem 65 WG, w takiej samej dawce, w jakiej wcześniej zastosowano Izoturon 500 SC. Zastosowane dawki badanych herbicydów zestawiono w tab. 1 i 2.

Tabela 1; Table 1

Dawki Izoturonu 500 SC użyte w doświadczeniu  
Doses of Izoturon 500 SC applied in the experiment

Substancje aktywne Active substances	Dawki Izoturonu 500 SC Doses of Izoturon 500 SC						Dawki substancji aktywnych; Doses of active substances		
	$(\text{dm}^3\cdot\text{ha}^{-1})$			$(\text{mm}^3\cdot\text{kg}^{-1})$			$(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$		
Izoproturon Isoproturon	2	10	50	1,30	6,50	32,50	0,65	3,25	16,25

Tabela 2; Table 2

Dawki Segalu 65 WG użyte w doświadczeniu  
Doses of Segal 65 WG applied in the experiment

Substancje aktywne Active substances	Dawki Segalu 65 WG Doses of Segal 65 WG						Dawki substancji aktywnych; Doses of active substances		
	$(\text{dm}^3\cdot\text{ha}^{-1})$			$(\text{g}\cdot 0,3 \text{ ar}^{-1})$			$(\text{mg}\cdot 0,3 \text{ ar}^{-1})$		
Metribuzyna Metribuzin	0,12	0,60	3,00	0,40	2,00	10,00	200	1000	5000
Amidosulfuron							60	300	1500

W fazie trzech liści, strzelania w źdźbło, kwitnienia i dojrzałości młeczej pobierano próbki glebowe i roślinne, w których oznaczano w trzech powtórzeniach zawartość izoproturonu, metribuzyny i amidosulfuronu.

Pozostałości izoproturonu i amidosulfuronu ekstrahowano z gleby metanolem, a następnie oznaczano przy użyciu zestawu do wysoko sprawnej chromatografii cieczowej HPLC Series 200 firmy Perkin Elmer z detektorem UV, stosując kolumnę Adsorbosphere UHS (C18)  $150 \times 4,6 \text{ mm}$  ( $5 \mu\text{m}$ ). Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę metanol/woda (70/30 v/v). Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła  $1 \text{ cm}^3\cdot\text{min}^{-1}$ , ilość nastrzykiwanego ekstraktu  $10 \text{ mm}^3$ . Dla izoproturonu czas retencji wynosił  $3,3 \text{ min}$ , najmniejsza oznaczalna dawka  $0,01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. gleby, a odzysk  $97 \pm 4\%$ ; natomiast dla amidosulfuronu czas retencji –  $5,2 \text{ min}$ , najmniejsza oznaczalna dawka  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  s.m. gleby, a odzysk  $93 \pm 2\%$ .

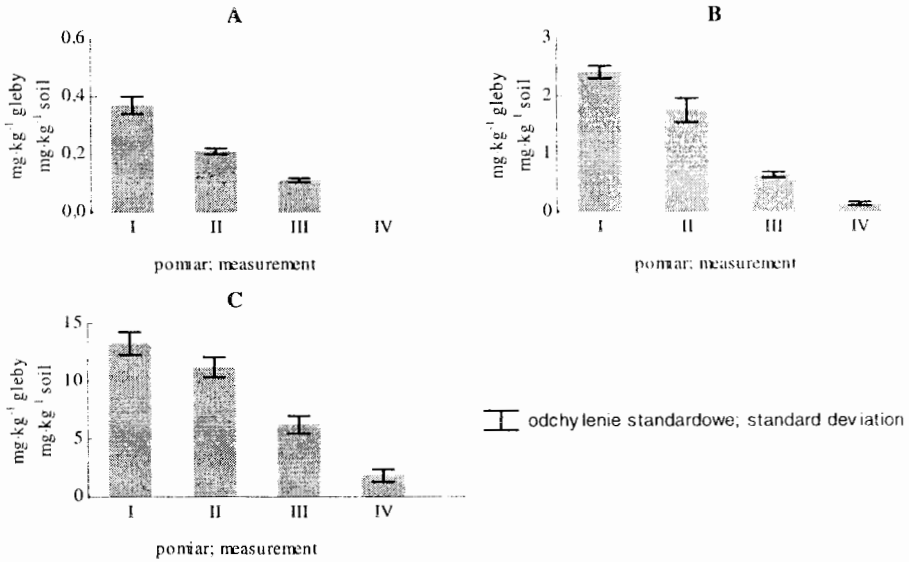
Ekstrakcję izoproturonu i amidosulfuronu z tkanek roślinnych wykonano metanolem wykorzystując zmodyfikowaną metodę GROLLIER i in. [1997]. Otrzymane ekstrakty odparowano do sucha na wyparce próżniowej, a otrzymaną pozosta-

łość rozpuszczono w 3 cm<sup>3</sup> toluenu. Roztwory toluenowe przepuszczano przez kolumnki SPE zawierające 1 g florisilu. Izoproturon i amidosulfuron wyciuowano z kolumnek 25 cm<sup>3</sup> mieszaniny octan etylu/toluen (50/50 v/v). Próbki ponownie odparowano do sucha, a otrzymaną pozostałość rozpuszczono w 1 cm<sup>3</sup> acetonitrylu. Tak przygotowane ekstrakty nanoszono na zestaw do wysoko sprawnej chromatografii cieczowej Series 200 firmy Perkin Elmer z detektorem UV i kolumną Adsorbosphere UHS (C18) 150 × 4,6 mm (5 μm). Jako fazę ruchomą stosowano mieszaninę acetonitryl/woda (50/50 v/v). Prędkość przepływu fazy ruchomej wynosiła 1 cm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>, ilość nastrzykiwanego ekstraktu 20 mm<sup>3</sup>. Dla izoproturonu czas retencji wynosił 2,3 min, najmniejsza oznaczalna dawka 20 ng·g<sup>-1</sup> św.m. rośliny, a odzysk 89±2%; natomiast dla amidosulfuronu czas retencji – 4,3 min, najmniejsza oznaczalna dawka 20 ng·g<sup>-1</sup> św.m. rośliny, a odzysk 88±3%.

Pozostałości metrybuzyny z gleby ekstrahowano dichlorometanem. Natomiast ekstrakcję metrybuzyny z tkanki roślinnej wykonano acetonem według aplikacji J.T. Baker <[www.jtbaker.com/europe/techlib/documents/pestvege.html](http://www.jtbaker.com/europe/techlib/documents/pestvege.html)>. Ekstrakty roślinne odwodniono bezwodnym siarczanem(VI) sodu. W celu wysoleńnięcia białek do odwodnionych ekstraktów dodano nasycony roztwór chlorku sodu. Kolejnym krokiem była ekstrakcja ciecz-ciecz z dichlorometanem. Tak przygotowane ekstrakty roślinne oraz ekstrakty glebowe odparowano na wyparce próżniowej do sucha, otrzymaną pozostałość rozpuszczono w mieszaninie aceton/heksan (10/90 v/v) i przepuszczono przez kolumnki SPE zawierające 500 mg silica żelu. Kolumnki wcześniej kondycjonowano mieszaniną aceton/eter dietylowy (30/70 v/v) i heksanem. Metrybuzynę wyciuowano z kolumnek mieszaniną eter dietylowy/heksan (60/40 v/v) i oznaczano na detektorze FID chromatografu gazowego Autosystem XL firmy Perkin Elmer z kolumną Elite 5 (60 m × 0,25 mm × 0,25 μm). Ilość nastrzykiwanego ekstraktu była równa 5 mm<sup>3</sup>. Temperatura detektora wynosiła 270°C, przepływ helu jako gazu nośnego 2 cm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>, przepływ H<sub>2</sub> – 45 cm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>, przepływ powietrza – 450 cm<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>, a temperatura nastrzykiwu 220°C. Temperatura kolumny była programowana w zakresie od 150°C do 285°C przy wzroście 5°C·min<sup>-1</sup>. Czas retencji metrybuzyny wynosił 13,7 min, najmniejsza oznaczalna dawka w glebie 0,02 mg·kg<sup>-1</sup> s.m. gleby, w roślinie 30 ng·g<sup>-1</sup> św.m. rośliny, a odzysk w glebie 89±3%, w roślinie 86±4%.

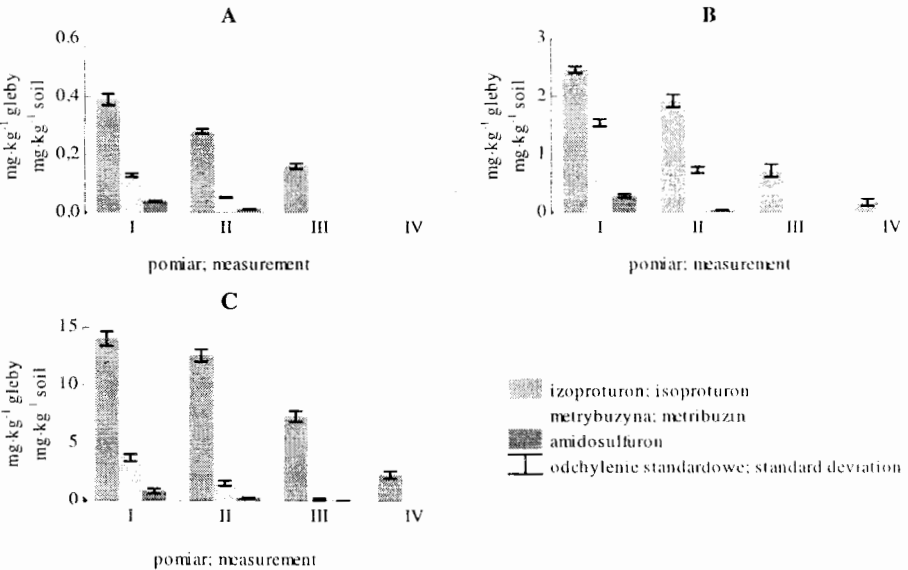
## Wyniki i dyskusja

Szybkość zanikania badanych substancji aktywnych w glebie była różna i zależała zarówno od ich budowy chemicznej, jak i wielkości zastosowanej dawki (rys. 1, 2). Najdłuższym okresem zalegania w glebie charakteryzował się izoproturon niezależnie od dawki preparatu, którego obecność przy dawce pięciokrotnie i dwudziestopięciokrotnie większej od zalecanej stwierdzono jako jedynej substancji aktywnej w fazie dojrzałości młecznej (85 dzień doświadczenia). SORENSEN i AAMAND [2001] podają, że okres zalegania w glebie izoproturonu wynosi od 2 do 24 miesięcy. Po zastosowaniu dawki zalecanej przez producenta w ostatnim terminie pomiaru nie stwierdzono w glebie obecności izoproturonu, podczas gdy metrybuzyny i amidosulfuronu przy wszystkich dawkach nie wykryto w glebie już w fazie kwitnienia pszenicy (59 dzień doświadczenia). FUSCALDO i in. [1999] stwierdzili, że w zależności od rodzaju gleby w okresie 66–77 dni zanika w glebie około 80% metrybuzyny. Natomiast SMITH i AUBIN [1992] wykazali, że okres połowicznego zaniku amidosulfuronu w glebie wynosi 14±2 dni.



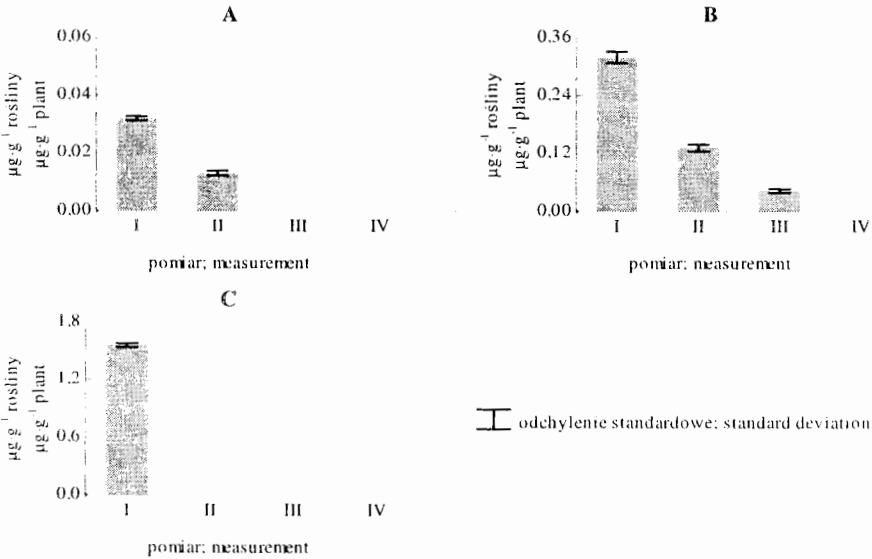
Rys. 1. Zawartość izoproturonu w glebie po zastosowaniu Izoturonu 500 SC: A – dawka zalecana, B – 5 x dawka zalecana, C – 25 x dawka zalecana; I – faza trzech liści, II – faza strzelania w źdźbło, III – faza kwitnienia, IV – faza dojrzałości mlecznej

Fig. 1. The content of isotoproturon in the soil after the treatment with Izoturon 500 SC: A – recommended dose, B – 5 x recommended dose, C – 25 x recommended dose; I – three leaf, II – shooting, III – ear formation, IV – early maturity



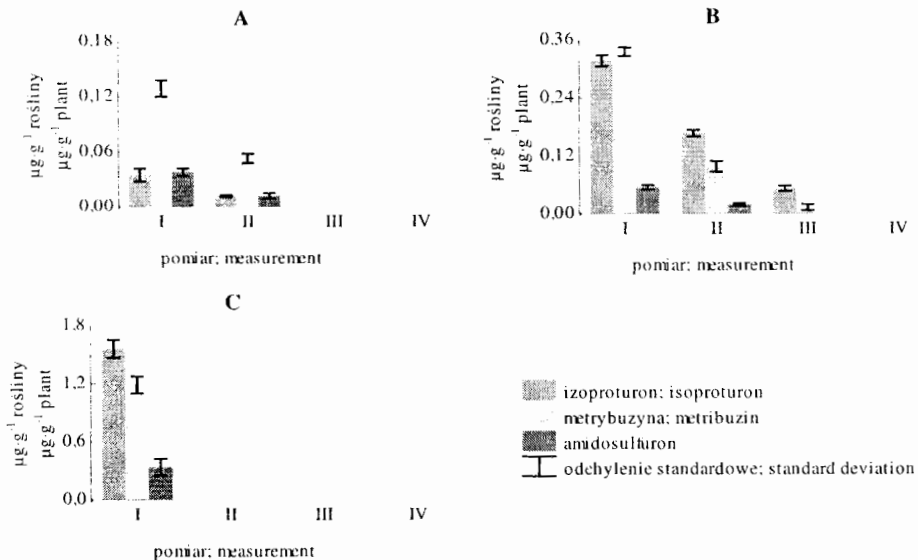
Rys. 2. Zawartość izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu w glebie po zastosowaniu Izoturonu 500 SC wraz z Segalem 65 WG: A – dawka zalecana, B – 5 x dawka zalecana, C – 25 x dawka zalecana; I – faza trzech liści, II – faza strzelania w źdźbło, III – faza kwitnienia, IV – faza dojrzałości mlecznej

Fig. 2. The content of isotoproturon, metribuzin and amidosulfuron in the soil after the treatment with Izoturon 500 SC and Segal 65 WG: A – recommended dose, B – 5 x recommended dose, C – 25 x recommended dose; I – three leaf, II – shooting, III – ear formation, IV – early maturity



Rys. 3. Zawartość izoproturonu w roślinie po zastosowaniu Izoturonu 500 SC: A – dawka zalecana przez producenta, B – 5 x dawka zalecana przez producenta, C – 25 x dawka zalecana przez producenta; I – faza trzech liści, II – faza strzelania w źdźbło, III – faza kwitnienia, IV – faza dojrzałości młeczej

Fig. 3. The content of isotoproturon in plant after the treatment with Izoturon 500 SC: A – recommended dose, B – 5 x recommended dose, C – 25 x recommended dose; I – three leaf, II – shooting, III – ear formation, IV – early maturity



Rys. 4. Zawartość izoproturonu, metribuzyny i amidosulfuronu w roślinie po zastosowaniu Izoturonu 500 SC wraz z Segalem 65 WG: A – dawka zalecana, B – 5 x dawka zalecana, C – 25 x dawka zalecana; I – faza trzech liści, II – faza strzelania w źdźbło, III – faza kwitnienia, IV – faza dojrzałości młeczej

Fig. 4. The content of isotoproturon, metribuzin and amidosulfuron in plant after the treatment with Izoturon 500 SC and Segal 65 WG: A – recommended dose, B – 5 x recommended dose, C – 25 x recommended dose; I – three leaf, II – shooting, III – ear formation, IV – early maturity

Po użyciu badanych herbicydów w dawce największej (dwudziestopięciokrotnie większej od zalecanej) pozostałości substancji aktywnych utrzymywały się w glebie najdłużej, a dla roślin dawka ta okazała się zabójcza i po fazie trzech liści rośliny uschły. Potwierdzają to badania NOWAK i TELESIŃSKIEGO [2004], którzy zaobserwowali, że po 15 dniach siewki pszenicy rosnące na glebie z dodatkiem Izoturonu 500 SC w dawce stukrotnie większej od zalecanej uschły. Biorąc pod uwagę efekt skażenia w badanych fazach rozwojowych rośliny przy obydwu dawkach (zalecanej i pięciokrotnie większej od zalecanej), największy zaobserwowano w fazie trzech liści i w kolejnych fazach rozwojowych wyraźnie on się zmniejszał. Ponadto dla dawki zalecanej od fazy kwitnienia pszenicy (59 dzień doświadczenia) a dla dawki pięciokrotnie większej w fazie dojrzałości młecznej (85 dzień doświadczenia) nie stwierdzono zawartości substancji aktywnych w roślinach (rys. 3, 4). Wyniki te są potwierdzeniem obserwacji NOWAK i TELESIŃSKIEGO [2004], którzy po zastosowaniu doglebowym Izoturonu 500 SC w dawce zalecanej przez producenta już w 20 dniu doświadczenia nie stwierdzili zawartości izoproturonu w siewkach pszenicy jarej.

### Wnioski

1. Spośród badanych substancji aktywnych: izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu, najdłuższym okresem zalegania w glebie charakteryzował się izoproturon.
2. Biorąc pod uwagę cztery pierwsze fazy rozwojowe pszenicy największą zawartość izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu w roślinach stwierdzono w fazie trzech liści.
3. Dawka dwudziestopięciokrotnie większa od zalecanej przez producenta Izoturonu 500 SC i Segalu 65 WG okazała się silnie toksyczna dla roślin i zahamowała całkowicie ich wzrost i rozwój.

### Literatura

- ADAMCZEWSKI K., BANASZAK K. 2000. *Mechanizm zachowania się herbicydów w glebie*. Ochr. Rośl. 11: 5–8.
- BOGDA A., CHODAK T., NIEDŹWIECKI E. 1990. *Niektóre właściwości i skład mineralogiczny gleb Równiny Gumienieckiej*. Roczn. Glebozn. 41(3/4): 179–191.
- FUSCALDO E., BEDMAR F., MONTERUBBIANES G. 1999. *Persistence of atrazine, metribuzin and simazine herbicides in two soil*. Pesq. Agropec. Bras. 31(11): 2037–2044.
- GROLLIER T., FEURTEL-MAZEL A., BOUDOU A., RIBEYRE F. 1997. *Role of temperature on isoproturon bioaccumulation and the effects on two freshwater macrophytes: Elodea densa and Ludwigia natans*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 36: 205–221.
- MICHALCEWICZ W. 1995. *Wpływ pestycydów stosowanych w chemicznej ochronie roślin uprawnych na niektóre właściwości biologiczne gleby*. Roczn. Glebozn. 46(1/2): 53–64.

NOWAK J., TELESIŃSKI A. 2004. *Zmiany aktywności enzymatycznej w siewkach pszenicy jarej (*Triticum aestivum* L.) pod wpływem herbicydu Izoturon 500 SC*. Folia Univ. Agric. Stetin. Agricultura 242(98): 129–136.

PRZYBULEWSKA K., NOWAK A. 2004. *Wpływ pestycydów na przebieg procesu nityfikacji w glebie inkubowanej w zmieniającej się temperaturze*. Folia Univ. Agric. Stetin. Agricultura 234(93): 325–332.

SMITH A.E., AUBIN A.J. 1992. *Degradation of the sulfonylurea herbicide [<sup>14</sup>C]amidosulfuron (HOE 075032) in Saskatchewan soils under laboratory conditions*. J. Agric. Food Chem. 40: 2500–2504.

SORENSEN S.R., AAMAND J. 2001. *Biodegradation of the phenylurea herbicide isoproturon and its metabolites in agricultural soils*. Biodegradation 12: 69–77.

STARCK Z., CHOLUJ D., NIEMĘSKA B. 1995. *Fizjologiczna reakcja roślin na niekorzystne czynniki środowiskowe*. Wyd. SGGW, Warszawa: 168 ss.

WYSOCKA-PARUSZWSKA B. 1995. *Toksykologiczne interakcje pestycydów i metody ich badania*. Pestycydy 4: 37–46.

**Słowa kluczowe:** izoproturon, metrybuzyna, amidosulfuron, gleba, pszenica jara

### Streszczenie

W pracy przedstawiono wyniki badań zawartości w glebie i roślinach pszenicy jarej substancji aktywnej: izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu, zawartych w herbicydach Izoturon 500 SC i Segal 65 WG.

Doświadczenie przeprowadzono jako doświadczenie wazonowe z pszenicą jarą odmiany Kokska, stosując doglebowo Izoturon 500 SC (500 g izoproturonu w 1 dm<sup>3</sup> preparatu) w dawkach: zalecanej przez producenta, pięciokrotnie i dwudziestopięciokrotnie większej. W fazie trzech liści pszenicy (21 dzień doświadczenia), dzień przed pierwszym pomiarem, wykonano dodatkowo oprysk Segalem 65 WG (50% metrybuzyny i 15% amidosulfuronu) w takich samych dawkach w jakich użyto Izoturon 500 SC.

W fazie trzech liści, strzelania w źdźbło, kwitnienia i dojrzałości młecznej pobierano próbki glebowe i roślinne, w których oznaczano w trzech powtórzeniach zawartość izoproturonu i amidosulfuronu metodą chromatografii cieczowej oraz zawartość metrybuzyny metodą chromatografii gazowej.

Wyniki badań wskazują, że wśród badanych substancji aktywnych najdłuższym okresem zalegania w glebie charakteryzował się izoproturon. Natomiast zawartość w roślinach izoproturonu, metrybuzyny i amidosulfuronu była największa w fazie trzech liści i zmniejszała się w trakcie trwania doświadczenia. Ponadto po zastosowaniu herbicydów w dawce dwudziestopięciokrotnie większej od zalecanej po fazie trzech liści rośliny pszenicy uschły.

THE RESIDUES OF ACTIVE SUBSTANCES FROM IZOTURON 500 SC  
AND SEGAL 65 WG HERBICIDES IN SOIL  
AND SPRING WHEAT PLANTS

*Arkadiusz Telesiński, Janina Nowak*

Department of Biochemistry, Agricultural University, Szczecin

Key words: izoproturon, metribuzin, amidosulfuron, soil, spring wheat

Summary

Paper presents the results on studies on isoproturon, metribuzin and amidosulfuron contents in the soil and wheat plants, after the treatment with Izoturon 500 SC and Segal 65 WG herbicides.

In a pot experiment on spring wheat Koksa cv. the herbicide Izoturon 500 SC (500 g isoproturon per 1 dm<sup>3</sup> preparation) was applied to the soil in three doses: recommended by the manufacturer, then 5 and 25 times larger. At the phase of three leaves (21st day of experiment) the plants were sprinkled with Segal 65 WG (50% metribuzin and 15% amidosulfuron) in the same doses as Izoturon 500 SC.

At the three leaf, shooting, ear formation and early maturity phases soil and plant samples were taken to determine the isoproturon and amidosulfuron contents using liquid chromatography and metribuzin content using gas chromatography.

Obtained results showed that among studied active substances reminded in soil for isoproturon the longest time. However, the largest contents of isoproturon, metribuzin and amidosulfuron in plants were observed at three leaf phase and then they decreased during the experiment. Moreover, in the case of applying the herbicides at dose 25-times higher than recommended by the producer, the plants withered after the phase of three leaves.

Prof. dr hab. Janina **Nowak**  
Katedra Biochemii  
Akademia Rolnicza  
ul. Słowackiego 17  
71-434 SZCZECIN  
e-mail: jnowak@agro.ar.szczecin.pl