ZESZYTY PROBLEMOWE POSTĘPÓW NAUK ROLNICZYCH 2006 z. 515: 147–154

OCENA ODDZIAŁYWANIA ADIUWANTÓW STOSOWANYCH Z ATRAZYNĄ NA SZYBKOŚĆ JEJ ZANIKANIA W GLEBIE I AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH ENZYMÓW GLEBOWYCH

Dariusz Kłódka, Marcin Chybiński

Katedra Biochemii, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Wstęp

Współczesne rolnictwo nie może obejść się bez stosowania chemicznych środków ochrony roślin. Oczywiście można zmniejszyć ilość stosowanych preparatów, stosując odpowiednie zabiegi agrotechniczne, optymalny termin siewu oraz właściwy dobór roślin. W celu obniżenia kosztów oprysku i podniesienia skuteczności zabiegu coraz częściej stosuje się adiuwanty [ADAMCZEWSKI, KRZYSZTOFIAK 1996; KUCHARSKI i in. 2000]. Ilość zarejestrowanych do użytku w naszym kraju adiuwantów zwiększa się z roku na rok. Niewątpliwie są to substancje pozwalające obniżyć ilość wprowadzanych do środowiska pestycydów. Jednak nasze dotychczasowe badania wskazują, że po zastosowaniu pestycydu z adiuwtantem może obniżyć się aktywność biologiczna gleby wyrażona aktywnością enzymatyczną [NOWAK i in. 1998, 2000; KŁÓDKA, NOWAK 2003]. Stąd w niniejszej pracy zbadano wpływ dwóch adiuwantów stosowanych z atrazyną na aktywność dehydrogenaz, ureazy, reduktazy azotanowej i ß-glukozydazy. Do badań wykorzystano Olemix 84 EC zawierający olej mineralny oraz Atpolan 80 EC zawierający olej parafinowy. Herbicydem użytym w doświadczeniu był Gesaprim 500 FW zawierający 500 g atrazyny w 1 dm^3 preparatu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w laboratorium na próbkach czarnej ziemi o składzie granulometrycznym gliny lekkiej pylastej, charakteryzującej się niską zawartością próchnicy (1,2%) i odczynem słabo kwaśnym (pH 6,1–6,9) [BOGDA i in. 1990]. Pobraną do badań glebę podsuszono i przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Do części ziemistych przygotowanego materiału glebowego wprowadzono wodne emulsje herbicydu Gesaprim 500 FW w kombinacji bez adiuwantów oraz z adiuwantami: Olemix 84 EC (zawiera 84% oleju mineralnego) oraz Atpolan 80 EC (zawiera 76% oleju parafinowego) w dawkach zalecanych przez producenta na uprawy, pięciokrotnie i dwudziestopięciokrotnie większych od za-

lecanych. Odpowiednie dawki przeliczono i podano na ilość środka, jaką należy zastosować na 1 kg gleby (tab. 1).

Tabela 1; Table 1

Zastosowane w doświadczeniu dawki preparatów
Doses of chemicals applied in the experiment

Preparat Chemicals	Zastosowane dawki; Applied doses					
	($dm^3 \cdot ha^{-1}$)			($mm^3 \cdot kg^{-1}$)		
	I	II	III	I	II	III
Gesaprim 500 FW Atpolan 80 EC Olemix 84 EC	2	10	50	13	65	325

Przez okres ośmiu tygodni wszystkie próbki glebowe przechowywano w polietylenowych woreczkach w optymalnych warunkach wilgotności i temperatury: 20°C i 60 % m.p.w. W 1., 7., 14., 28. i 56. dniu doświadczenia badano kolorymetrycznie aktywność czterech enzymów glebowych: dehydrogenaz metodą Thalmana [1968] w modyfikacji Öhlinger [1996]; reduktazy azotanowej metodą Fu i Tabatabai [1989]; ureazy metodą Bonmatt i in. [1992] i β-glukozydazy metodą Hofmana i Dedekena [1965]. Zawartość atrazyny w glebie oznaczono wykorzystując zestaw do wysoko sprawnej chromatografii cieczowej Series 200 firmy Perkin Elmer. Warunki chromatograficzne były następujące: detektor UV, długość fali λ = 254 μm, kolumna chromatograficzna: Adsorbosphere UHS (C18) 5 μm długości 150 mm, objętość nastrzyku 10 mm^3, faza ruchoma: metanol : woda w stosunku 60 : 40 (v/v), przepływ cieczy elucyjnej 1 $cm^3 \cdot min^{-1}$, czas retencji 3,20 min, najmniejsza oznaczana ilość 0,02 $mg \cdot kg^{-1}$ gleby.

Wszystkie analizy laboratoryjne wykonano w trzech powtórzeniach. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie przy użyciu jednoczynnikowej analizy wariancji. Wartości NIR obliczono zgodnie z procedurą Tukey'a przy α = 0,05.

Wyniki i dyskusja

Uzyskane w laboratorium wyniki aktywności badanych enzymów (tab. 2) przeliczono i podano jako procent aktywności danego enzymu w glebie kontrolnej bez dodatku Gesaprimu 500 FW i adiuwantów, przyjmując jej aktywność jako 100%. Wykresy słupkowe przedstawiają wartości uśrednione aktywności badanych enzymów ze wszystkich dni pomiaru w zależności od dawki użytego w doświadczeniu Gesaprimu 500 FW oraz jego mieszaniny z Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC. Na wykresach liniowych przedstawiono szybkość zanikania atrazyny w czasie w zależności od użytej w doświadczeniu kombinacji herbicydu i adiuwantów.

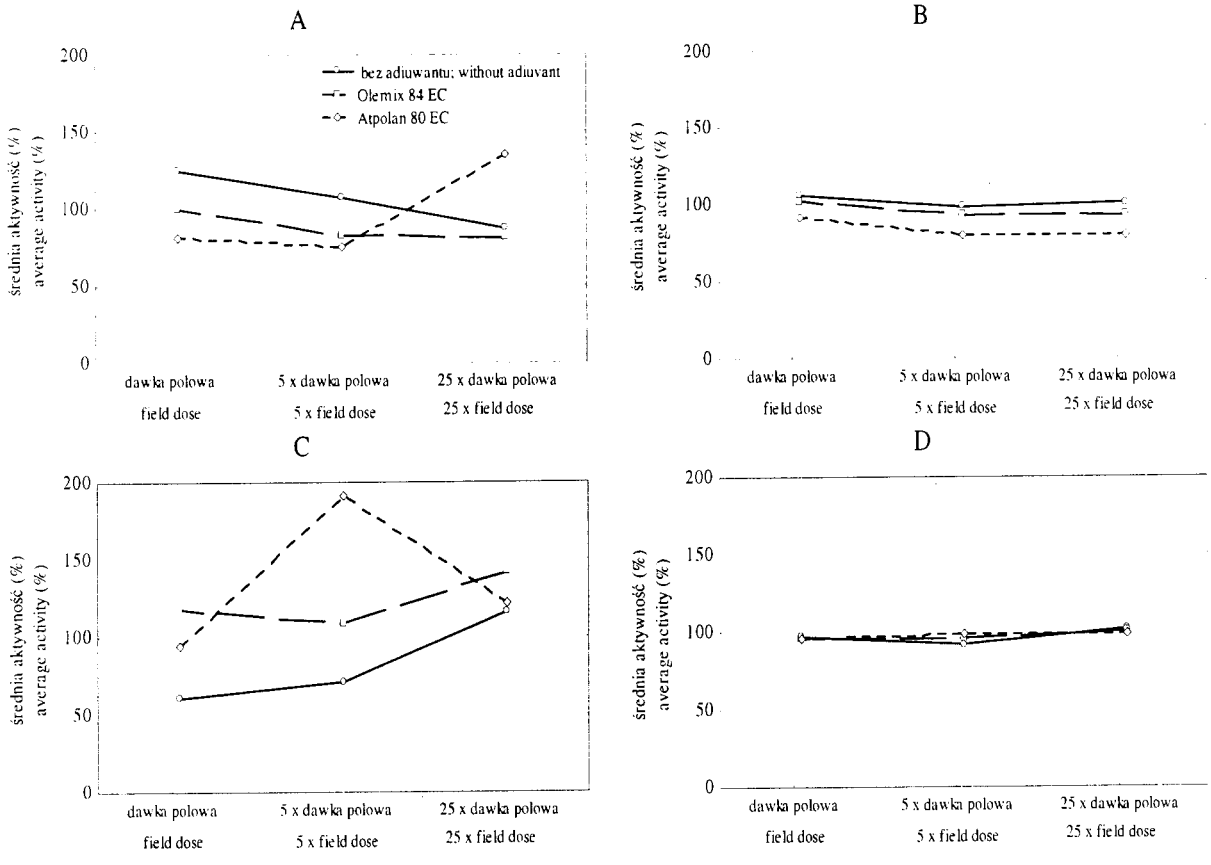
Po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW w kombinacji z Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC średnia aktywność dehydrogenaz była niższa niż po zastosowaniu herbicydu bez adiuwantów, co widoczne było zwłaszcza przy dawkach najniższych: zalecanej przez producenta na uprawy i pięciokrotnie wyższej (rys. 1A). Średnia aktywność dehydrogenaz po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW z Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC była niższa odpowiednio o 25% i 45% po

Tabela 2; Table 2

Aktywność badanych enzymów glebowych po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW, Atpolanu 80 EC oraz Olejanu 84 EC
The activity of investigated soil enzymes after application of Gesaprim 500 FW, Atpolan 80 EC and Olejan 84 EC

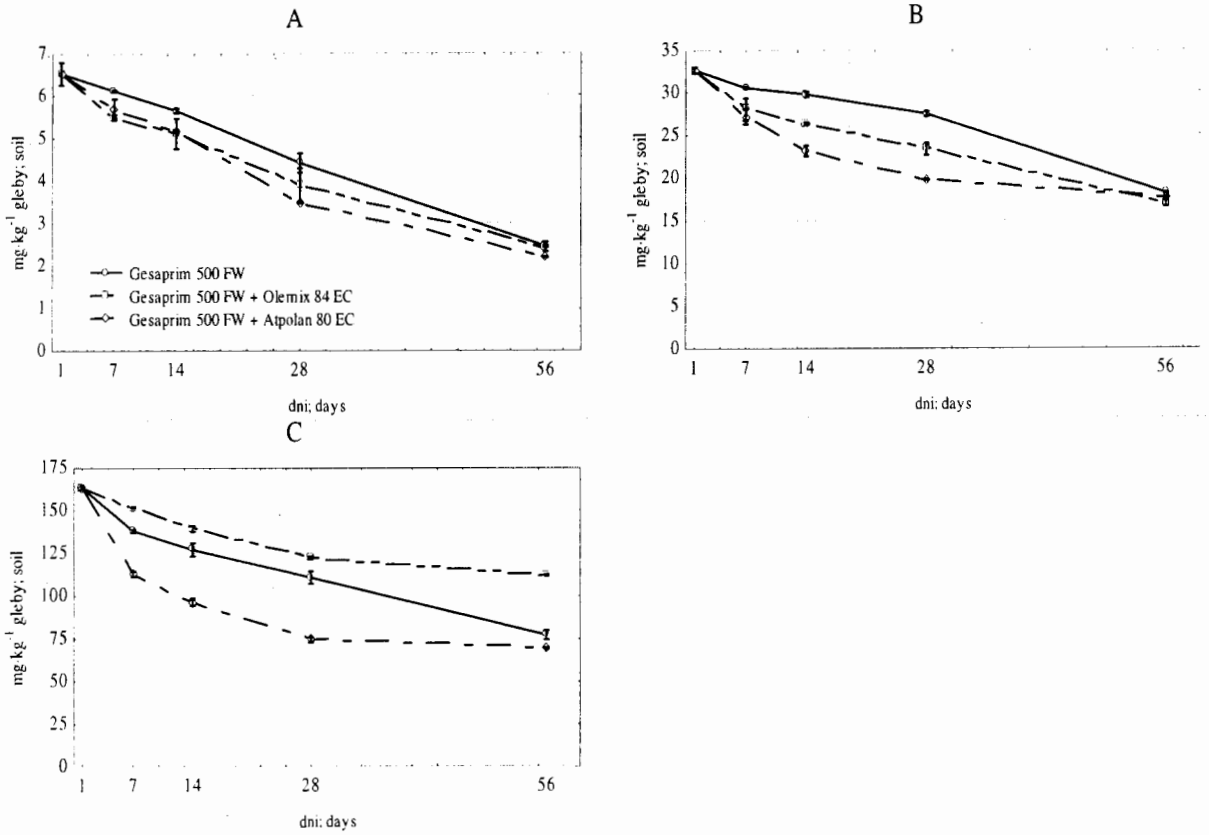
Dzień Day	Dawka Dose	Gesaprim 500 FW				Gesaprim 500 FW + Olemix 84 EC				Gesaprim 500 FW + Atpolan 80 EC			
		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
1	K	25,85	0,65	33,95	7,84	22,43	0,77	132,43	10,72	19,87	1,15	37,04	9,16
	I	26,39	0,81	27,78	7,55	26,06	0,73	119,46	10,82	16,52	1,16	18,52	8,11
	II	29,15	0,80	14,81	8,23	20,29	0,77	93,53	10,50	17,66	1,17	61,12	8,13
	III	18,69	0,82	65,34	8,23	21,79	0,83	99,09	10,62	17,94	1,16	12,03	8,56
	$NIR_{0,05}$; $LSD_{0,05}$	1,95	0,069	8,32	0,46	1,95	0,087	6,93	0,56	1,76	0,066	6,93	0,97
7	K	23,39	0,50	81,49	10,48	25,64	0,64	100,94	7,51	12,32	1,06	37,66	8,04
	I	30,66	0,50	47,23	9,72	25,85	0,65	92,60	7,78	5,02	1,02	48,15	8,38
	II	30,77	0,50	59,27	9,62	26,49	0,54	63,90	8,35	7,48	1,05	76,86	8,97
	III	27,99	0,55	51,86	9,94	30,34	0,57	103,72	7,63	28,34	1,00	74,08	8,59
	$NIR_{0,05}$; $LSD_{0,05}$	2,52	0,034	7,56	0,96	2,52	0,023	9,73	0,46	2,09	0,082	5,73	0,68
14	K	44,01	0,56	60,19	9,04	27,99	0,59	62,04	9,13	13,89	1,12	62,97	9,78
	I	31,73	0,57	45,37	8,90	22,43	0,56	75,01	8,64	15,59	1,02	42,60	9,37
	II	32,80	0,54	58,34	8,75	18,58	0,52	89,83	8,33	11,39	0,97	222,88	9,49
	III	22,75	0,57	57,41	8,49	25,21	0,52	150,95	8,55	20,40	0,98	138,29	9,85
	$NIR_{0,05}$; $LSD_{0,05}$	2,11	0,078	9,23	0,79	2,11	0,065	4,77	0,78	1,99	0,047	7,94	0,66
28	K	29,27	0,48	154,65	7,44	20,72	0,57	89,83	9,49	12,75	1,09	180,89	9,10
	I	27,88	0,51	84,27	5,83	22,65	0,50	202,81	8,46	10,54	0,80	238,00	8,40
	II	18,05	0,45	113,91	6,91	15,38	0,42	206,51	8,08	8,54	0,33	78,71	8,79
	III	26,70	0,46	199,11	7,41	11,53	0,38	222,26	9,29	8,96	0,42	69,76	8,60
	$NIR_{0,05}$; $LSD_{0,05}$	2,44	0,045	4,90	0,66	2,44	0,034	6,95	0,88	2,98	0,064	4,99	0,48
56	K	13,53	0,51	44,45	7,47	31,19	0,44	76,86	8,33	13,67	0,53	104,64	8,42
	I	30,07	0,46	14,81	9,02	28,63	0,54	40,74	7,73	15,59	0,88	46,30	7,90
	II	20,89	0,37	30,56	5,68	24,14	0,47	22,22	7,97	16,02	0,94	89,52	7,12
	III	13,46	0,33	44,45	8,84	13,24	0,45	24,07	9,19	22,00	0,78	152,80	8,12
	$NIR_{0,05}$; $LSD_{0,05}$	2,76	0,039	6,34	0,71	2,50	0,053	3,88	0,64	1,85	0,055	6,11	0,72

A – dehydrogenazy; dehydrogenases – μg TPF·(g s.m. gleby·16 h)$^{-1}$; μg TPF·(g DM soil·16 h)$^{-1}$. B – reduktaza azotanowa; nitrate reductase – μg $N\text{-}NO_2^-$·(5 g s.m. gleby·24 h)$^{-1}$; μg $N\text{-}NO_2^-$·(5 g DM soil·24 h)$^{-1}$. C – ureaza; urease – μg $N\text{-}NH_4^+$·(g s.m. gleby·0.75 h)$^{-1}$; μg $N\text{-}NH_4^+$·(g DM soil·0.75 h)$^{-1}$. D – β-glukozydaza; β-glucosidase – mg saligeniny·(10 g s.m. gleby·3 h)$^{-1}$; mg saligenine·(10 g DM soil·3 h)$^{-1}$
K, I, II, III – objaśnienia jak w tab. 1; explanations see Table 1



Rys. 1. Wpływ Gesaprimu 500 FW zastosowanego w kombinacji bez adiuwantu i z adiuwantami na aktywność dehydrogenaz (A), reduktazy azotanowej (B), ureazy (C) i ß-glukozydazy (D) w glebie (wartości średnie)

Fig. 1. The effect of Gesaprim 500 FW herbicide applied in combination without adiuvant and with adiuvants, on dehydrogenase (A), nitrate reductase (B), urease (C) and β-glucosidase (D) activity in soil (mean values)



Rys. 2. Szybkość zanikania atrazyny w glebie po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW, Gesaprimu 500 FW z Olemixem 84 EC oraz Gesaprimu 500 FW z Atpolanem 80 EC w I stężeniu (A), II stężeniu (B) i III stężeniu (C)

Rys. 2. Degradation rate of atrazine in soil after Gesaprim 500 FW, Gesaprim 500 FW + Olemix 84 EC and Gesaprim 500 FW + Atpolan 80 EC aplication in I concentration (A), II concentration (B) and III concentration (C)

zastosowaniu dawki połowej oraz 25% przy dawce 5-krotnie większej niż zalecana po zastosowaniu obu adiuwantów z Gesaprimem 500 FW

Aktywność reduktazy azotanowej była niższa o 5–10% po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW z Olemixem 84 EC oraz 20–25% po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW z Atpolanem 80 EC niezależnie od użytego stężenia (rys. 1B).

Ciekawie przedstawiała się aktywność ureazy (rys. 1C). Aktywność tego enzymu była zazwyczaj wyższa po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW w postaci czystej bez dodatku adiuwantów i była wyższa średnio o 130% po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW z Atpolanem 80 EC w dawce 5-krotnie wyższej od zalecanej oraz o 60% przy dawce zalecanej przez producenta po zastosowaniu herbicydu z Olemixem 84 EC.

Średnia aktywność ß-glukozydazy w glebie po zastosowaniu wszystkich dawek Gesaprimu 500 FW oddzielnie, jaki i z adiuwantami była podobna i kształtowała się na poziomie 100–105% (rys. 1D). Zatem nie stwierdzono znaczącego wpływu użytych w doświadczeniu adiuwantów na aktywność tego enzymu.

Generalnie po zastosowaniu herbicydu z adiuwantami stwierdzono szybszy zanik atrazyny w glebie, co było widoczne zwłaszcza przy dawkach podwyższonych (rys. 2A–2C). Jedynie po zastosowaniu dawki najwyższej Gesaprimu 500 FW z Olemixem 84 EC stwierdzono zależność odwrotną – wolniejszy zanik atrazyny niż po zastosowaniu herbicydu bez adiuwantu.

Poszukiwanie możliwości ograniczenia zużycia chemicznych środków ochrony roślin jest zjawiskiem niewątpliwie korzystnym w aspekcie ochrony środowiska. Stąd też coraz popularniejsze staje się stosowanie pestycydów z adiuwantami. Poza wymiernym ekonomicznym zyskiem w postaci obniżenia kosztów produkcji i podniesienia wydajności płonu bez utraty właściwości biologicznych warto zastanowić się nad wpływem adiuwantów na środowisko glebowe. Malkomes [1997] podaje, że badania nad wpływem adiuwantów na środowisko glebowe są niezmiernie ważne, a efekt wpływu tych związków powinien być monitorowany. Również stosowanie herbicydów z adiuwantami powinno ograniczyć ryzyko występowania pozostałości substancji czynnej herbicydów w roślinie uprawnej i glebie [Kucharski i in. 2000]. Dotychczasowe wyniki badań własnych potwierdzają niekorzystne oddziaływanie adiuwantów na środowisko glebowe [Nowak i in. 1998, 2000; Kłódka, Nowak 2003]. Również Michalcewicz i in. [2004] zauważyli, że po zastosowaniu atrazyny z adiuwantem PGA-031 wzrosła liczba bakterii, ale zmniejszyła się liczba grzybów i promieniowców. W świetle powyższych danych istotnym wydaje się prowadzenie dalszych badań w tym zakresie.

Wnioski

1. Zastosowanie herbicydu Gesaprim 500 FW oddzielnie i łącznie z Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC wpłynęło na silne zmiany aktywności dehydrogenaz glebowych i ureazy.

2. Po zastosowaniu Gesaprimu 500 FW z Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC aktywność dehydrogenaz i reduktazy azotanowej była niższa, a ureazy wyższa niż po zastosowaniu samego Gesaprimu 500 FW.

3. Nie stwierdzono wpływu Gesaprimu 500 FW na aktywność ß-glukozydazy.

4. Dodatek obu adiuwantów do Gesaprimu 500 FW przyspieszał zanik atrazyny w glebie.

Literatura

ADAMCZEWSKI K., KRZYSZTOFIAK R. 1996. *Adiuwanty z herbicydami*. Agrochemia 10: 15–17.

BOGDA A., CHODAK T., NIEDŹWIECKI E. 1990. *Niektóre właściwości i skład mineralogiczny gleb Równiny Gumienieckiej*. Rocz. Glebozn. 41(3/4): 179–191.

BONMATI M., COCCANTI B., NANNIPIERI P. 1992. *Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon and total nitrogen in soil*. Soil Biol. Biochem. 4: 391–396.

FU M.H., TABATABAI M.A. 1989. *Nitrate reductase activity in soils: effects of trace elements*. Soil Biol. Biochem. 21: 943–946.

HOFMAN G., DEDEKEN M. 1965. *Eine Methode zur colorimetrischen Bestimmung der β-glukosidase – Aktivität im Boden*. Z. Pflanz. Bod. 108/3: 193–198.

KŁÓDKA D., NOWAK J. 2003. *Badania nad wpływem adiuwanta – Dynawet, stosowanego z fungicydem Siarkol 80 WP na aktywność niektórych enzymów glebowych*. Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol. 492: 141–147.

KUCHARSKI M., SADOWISK J., GOŁĘBIOWSKA H. 2000. *Wpływ adiuwantów na pozostałości wybranych herbicydów w ochronie kukurydzy*. Progr. Plant. Prot. 40(2): 945–947.

MALKOMES H.-P. 1997. *Applications of ecotoxicity tests to assess side effects of pesticides in soils*. Soil Ecotoxycology: 319–329.

MICHALEWICZ W., SWARCEWICZ M., PRACZYK T. 2004. *Wpływ adiuwantu PGA-031 z atrazyną na mikroflorę glebową*. Post. Ochr. Rośl. 22(2): 952–956.

NOWAK J., NOWAK A., LECH B., TUROS-BIERNACKA M. 1998. *Auswirkung von Betanal 160 EC in kombination mit Zusatzstoffen auf die biologische Aktivität des Boden*. Teil. II. *Einfluss auf die Aktivität von Bodenenzymen*. Z. PflKrankh. PflSchutz. XVI: 771–778.

NOWAK J., NOWAK A., KŁÓDKA D., TUROS-BIERNACKA M. 2000. *Einfluss der gemeinsamen und getrennten Application von Herbiziden und Zusatzstoffen auf die Aktivitat von Dehydrogenase und Phosphatase im Boden*. Z. PflKrankh. PflSchutz. XVII: 769–774.

ÖHLINGER R. 1996. *Dehydrogenase activity with the substrate TTC*, w: *Methods in soil biology*. Schinner F., Öhlinger R., Kandeler E., Margesin R. (red.). Springer Verlag, Berlin: 241–243.

THALMAN A. 1968. *Zur Methodik der Bestimmund der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)*. Landwrtsch. Forsch. 21: 249–258.

Słowa kluczowe: herbicyd, Gesaprim 500 FW, enzymy glebowe, aktywność enzymatyczna, adiuwanty

Streszczenie

W doświadczeniu laboratoryjnym badano wpływ herbicydu Gesaprim 500 FW stosowanego w kombinacji bez adiuwantu i z adiuwantami: Olemixem 84 EC i Atpolanem 80 EC na aktywność dehydrogenaz, ureazy, β-glukozydazy i reduktazy azotanowej. Badano również szybkość zanikania atrazyny w glebie.

Wyniki badań wskazują, że dodatek adiuwantów do Gesaprimu 500 FW przyspieszał zanik atrazyny, zwłaszcza po zastosowaniu dawki zalecanej przez producenta na uprawy i pięciokrotnie większej. Również aktywność dehydrogenaz i reduktazy azotanowej była niższa po zastosowaniu obu adiuwantów z Gesaprimem 500 FW w porównaniu z aktywnością enzymów w glebie z dodatkiem samego herbicydu. Aktywność ureazy i β-glukozydazy po zastosowaniu samego herbicydu i herbicydu z adiuwantami była podobna.

ESTIMATING THE INFLUENCE OF ADIUVANTS APPLIED WITH ATRAZINE ON THE RATE OF ITS DISAPPEARANCE IN SOIL AND ACTIVITY OF SELECTED SOIL ENZYMES

Dariusz Kłódka, Marcin Chybiński
Department of Biochemistry, Agricultural University, Szczecin

Key words: herbicide, Gesaprim 500 FW, soil enzymes, enzymatic activity, adiuvants

Summary

The influence of Gesaprim 500 FW herbicide applied in the combination with adiuvants: Olemix 84 EC and Atpolan 80 EC, and without adiuvant, on activity of dehydrogenases, urease, β-glucosidase and nitrate reductase was investigated in laboratory experiment. Moreover the rate of atrazine disappearance in soil was studied.

The results showed that the addition of adiuvants to Gesaprim 500 FW accelerated the disappearance of atrazine, especially after the use of dose recommended by the producer for the crops and five times greater. Also the activities of dehydrogenases and nitrate reductase were lower after the use of both adiuvants with Gesaprim 500 FW, in comparison with the activity of enzymes in soil with addition of herbicide alone. The activity of urease and β-glucosidases after using only herbicide and the herbicide with adiuvants, was similar.

Dr inż. Dariusz **Kłódka**
Katedra Biochemii
Akademia Rolnicza
ul. Słowackiego 17
71–434 SZCZECIN
e-mail: dklodka@agro.ar.szczecin.pl