

ANNA STRZELEC

Instytut Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach

MIKROBIOLOGICZNY ROZKŁAD S-TRIAZYNOWYCH HERBICYDÓW W GLEBIE

Zaleganie herbicydów s-triazynowych w glebie

W praktyce rolniczej stosuje się coraz więcej różnych herbicydów, które jak wiadomo nie są obojętne zarówno dla środowiska glebowego jak i dla uprawianych roślin.

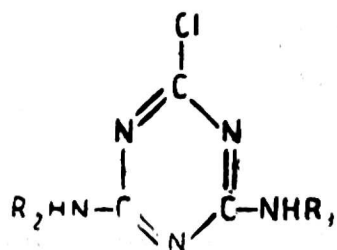
Szczególnie szkodliwy wpływ mają herbicydy długo zalegające w glebie. Do takich herbicydów należą s-triazyny, które pozostają niekiedy w glebie w ilościach toksycznych dla roślin przez kilka, a nawet kilkanaście miesięcy (11, 52, 53, 82, 86, 91, 103, 109, 116).

Stwierdzono, że czasokres zalegania herbicydów w glebie zależy głównie od ich właściwości chemicznych i fizycznych.

Herbicydy s-triazynowe pod względem chemicznym można podzielić na trzy grupy (27).

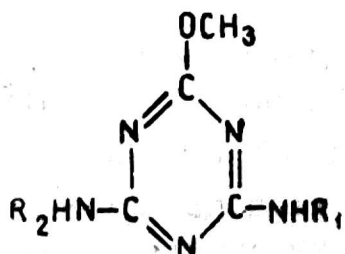
1. 2-chloro-s-triazyny (rys. 1).

Należą tu:	simazyna	R_1	$—C_2H_5$	R_2	$—C_2H_5$
	atrazyna	R_1	$—C_2H_5$	R_2	$—i—C_3H_7$
	propazyna	R_1	$—i—C_3H_7$	R_2	$—i—C_3H_7$
	trietazyna	R_1	$—C_2H_5$	R_2	$=(C_2H_5)_2$
	chlorazyna	R_1	$=(C_2H_5)_2$	R_2	$=(C_2H_5)_2$
	ipazyna	R_1	$—C_3H_7$	R_2	$=(C_2H_5)_2$



Rys. 1. 2-chloro-s-triazyny

2. 2-metoksy-s-triazyny (rys. 2).

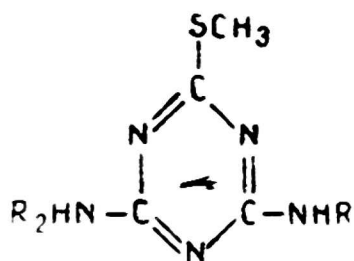


Rys. 2. 2-metoksy-s-triazyny

Przedstawicielami tej grupy są:

atraton	R ₁	—C ₂ H ₅	R ₂	—i—C ₃ H ₇
prometon	R ₁	—i—C ₃ H ₇	R ₂	—i—C ₃ H ₇
simeton	R ₁	—C ₂ H ₅	R ₂	—C ₂ H ₅

3. 2-metylo-merkapto-s-triazyny (rys. 3)



Rys. 3. 2-metyl-merkapto-s-triazyny

Do grupy tej należą:

prometryna	R ₁	—i—C ₃ H ₇	R ₂	—i—C ₃ H ₇
ametryna	R ₁	—C ₂ H ₅	R ₂	—i—C ₃ H ₇
G ₃₄₃₆₀	R ₁	—CH ₃	R ₂	—i—C ₃ H ₇

Badania Sheetsa i Shawa (103) oraz Skippera, Gilmoura i Furticka (109) wykazały, że herbicydy z grupy 2-chloro-s-triazyn pozostają aktywne w glebie przez 15 miesięcy. Ragab i McCollum (91) podają, że simazyna wniesiona do gleby rozłożona została w pierwszym roku w 91,6%, w drugim zaś o dalsze 5,7%.

Holly i Roberts (52) stwierdzili w swoich doświadczeniach, że w ciągu 5—13 tygodni po zastosowaniu simazyny ulega inaktywacji 50% preparatu a w czasie następnych 6—27 tygodni inaktywuje się 80% tego związku.

Przedłużanie działania herbicydów s-triazynowych poza żądany okres pociąga za sobą skutki nieraz bardzo niekorzystne dla rolnictwa. Na przykład simazyna zastosowana w dawce 4 kg/ha w latach suchych powodowała uszkodzenie następczych roślin uprawnych (11). Dlatego też w ostatnim dziesięcioleciu dużo uwagi poświęcono badaniom wpływu różnych czynników na szybkość rozkładu herbicydów s-triazynowych.

Czynniki wpływające na szybkość zanikania herbicydów s-triazynowych w glebie

Na zanikanie s-triazyn w glebie mają wpływ następujące procesy: 1) rozkład przez drobnoustroje (7, 19, 37, 57, 60, 61, 62, 63, 66, 73, 76, 91), 2) rozkład chemiczny w wyniku reakcji a) fotochemicznych (18, 30, 54), b) hydrolizy (4, 5, 69, 83), c) utleniania (31, 67), 3) adsorpcja na powierzchni organicznych i mineralnych cząstek glebowych (25, 33, 36, 46, 85, 94,

101, 114, 118), 4) przemieszczanie się w głąb profilu glebowego (48, 74, 84, 92), 5) pobieranie i rozkład przez rośliny (84).

Stopień zanikania herbicydu w wyniku poszczególnych procesów jest uzależniony od takich czynników jak: temperatura otoczenia (2, 20, 76, 77, 93, 113), wilgotność gleby (2, 34, 93, 100), intensywność nasłonecznienia (84), skład mechaniczny gleby (44, 82, 120), zawartość substancji organicznej (44, 76, 82, 97, 120), odczyn gleby (33, 50, 77, 82, 98), częstotliwość wprowadzania herbicydu (84, 112), forma w jakiej herbicyd jest stosowany (10) oraz wysokość stosowanej dawki (15, 20, 32, 77).

Wielu autorów badając wpływ różnych czynników na rozkład herbicydów s-triazynowych w glebie doszło do wniosku, że istnieje dodatnia korelacja pomiędzy tempem rozkładu tych preparatów a warunkami środowiska sprzyjającymi rozwojowi mikroflory glebowej. Np. Sheets i Crafts (100) oraz Roeth, Lavy, Burnside (93) zaobserwowali szybszy rozkład atrazyny w glebie wilgotnej niż suchej. Burschel (20) badał wpływ temperatury na szybkość rozkładu herbicydów. W jego doświadczeniach obniżenie temperatury z 28°C do 8°C powodowało 7-krotne zmniejszenie tempa rozkładu simazyny. Natomiast każdy wzrost temperatury o 10°C w granicach od 10 do 30°C podwajał szybkość rozkładu atrazyny (76). Podobne wyniki uzyskali Talbert i Fletchall (113) oraz Roeth, Lavy i Burnside (93).

Stwierdzono też wyraźną zależność pomiędzy intensywnością rozkładu s-triazyn a ilością substancji organicznej w glebie (26).

Burschel (20) określając ilość simazyny w glebie metodą chemiczną stwierdził szybszy rozkład tego herbicydu w podłożu zawierającym 10% humusu niż z 1% zawartością tej substancji.

Szybszy rozkład simazyny w glebie organicznej niż w mineralnej Scudder (97) tłumaczy większą liczebnością drobnoustrojów w glebie organicznej niż mineralnej. Wyniki wyżej wymienionych badań zostały potwierdzone przez McCormicka i Hiltbolda (76) oraz Skippera (108). Autorzy ci stwierdzili, że dodatek do gleby łatwo dostępnego źródła energii dla drobnoustrojów przyspieszył rozkład atrazyny.

Liczni badacze uważają, że substancja organiczna w glebie jest istotnym czynnikiem wpływającym na zachowanie się herbicydów w glebie (1, 20, 44, 45, 47, 82, 115).

Ważną też rolę w procesach zanikania herbicydów w glebie odgrywa sorpcja tych preparatów przez koloidy organiczne i mineralne.

Burnside i Behrens (17) zwrócili uwagę na zmniejszenie się fitotoksyczności simazyny w glebie o dużej zawartości substancji organicznej i koloidów mineralnych.

Badając adsorpcję simazyny przez 18 różnych gleb, Nearpass (82)

stwierdził wyraźniejszą korelację pomiędzy sorpcją i zawartością substancji organicznej niż pomiędzy sorpcją i zawartością części spławialnych.

Badania zależności pomiędzy pH i sorpcją s-triazyn przez minerały ilaste wykazały, że sorpcja ta zmniejsza się wraz ze wzrostem odczynu (33).

Ponadto stwierdzono, że simazyna w glebie jest silniej wiązana przez minerały ilaste a tym samym mniej dostępna dla drobnoustrojów niż przez substancję organiczną. Dlatego też rozkład tego połączenia szybciej przebiega w glebie organicznej niż mineralnej (44).



Udział mikroflory glebowej w rozkładzie s-triazyn

Jednym z najważniejszych czynników wpływających na detoksykację gleby są niewątpliwie drobnoustroje.

Hance (42) udowodnił, że gdyby rozkład herbicydów zachodził tylko w wyniku reakcji chemicznych to w temperaturze 20°C półokres trwania tych preparatów wynosiłby 9 do 116 lat.

Poszukując bezpośredniego dowodu udziału drobnoustrojów glebowych w rozkładzie herbicydów przeprowadzono doświadczenia w glebie wyjałowionej i świeżej (19, 28, 29, 73, 74, 91, 103). Wykazano, że w glebie jałowej herbicydy nie ulegały rozkładowi. Podobne wyniki uzyskano traktując glebę związkami powodującymi zahamowanie procesów metabolicznych drobnoustrojów np. toluenem (73).

Udało się też wyodrębnić z gleby drobnoustroje mające zdolność wykorzystywania s-triazyn jako źródła energii (8, 9, 19, 23, 37, 38, 58, 59, 62, 63, 66, 72, 74, 116).

Dla określenia zdolności drobnoustrojów do rozkładu herbicydów, różni badacze przyjmowali różne kryteria. Jedni z nich badali intensywność wzrostu drobnoustrojów hodowanych na pożywkach sztucznych zawierających s-triazyny jako źródło C lub N albo też C i N (72, 116). Inni używali herbicydy znaczone ^{14}C i badali wydzielanie $^{14}\text{CO}_2$ w hodowlach z dodatkiem s-triazyn (62, 63).

Oznaczano również pozostałości herbicydu w płynach pohodowlanych lub w glebie metodami chemicznymi (59, 63, 71, 75, 95, 111, 119) lub testami biologicznymi (8, 9, 12, 19, 59, 63, 110, 111, 116).

Spośród wyodrębnionych drobnoustrojów zdolnych do rozkładania herbicydów najliczniej reprezentowane są grzyby. Guillemat, Charpentier, Tardieux, Pochon (38) wyizolowali z gleby grzyby zdolne do wzrostu na pożywce Czapeka, w której źródło azotu zastąpiono simazyną.

Bortels i wsp. (13) stwierdzili, że simazyna rozkładana była aktywniej przez grzyby niż przez promieniowce i bakterie, chociaż przedstawiciele

tych ostatnich grup mają również zdolność wykorzystywania tego preparatu jako źródła N.

Kaufman, Kearney i Sheets (63) wyodrębnili szczepy *Aspergillus flavipes*, *A. fumigatus*, *A. ustus*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Penicillium purpurogenum*, *Rhizopus stolonifer*, *Stachybotrys*, oraz *Trichoderma viride*, które wykorzystywały simazynę jako podstawowe lub dodatkowe źródło C. Najaktywniej jednak simazynę rozkładał *Aspergillus fumigatus*. Wykorzystywał on również simeton (2-metoksy-analog simazyny) jako źródło C lub N.

Manorik, Wasilczenko, Mandrowskaja i Maliczenko (74) stwierdzili również, że rozkład simazyny następuje głównie pod wpływem grzybów. Wyizolowali oni 15 szczepów grzybów z gatunków: *Fusarium oxysporum*, *Penicillium adametzi*, *P. citrinum*, *P. cyclopium*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium raschelli*. Wśród wyodrębnionych szczepów najaktywniej rozkładały simazynę *P. adametzi* i *P. citrinum*.

Bakalivanov (8, 9) badał szybkość rozkładu atrazyny i simazyny przez niektóre grzyby glebowe używając do tego celu biotestu z *Aspergillus niger*. Zdaniem tego autora atrazyna była rozkładana o wiele energiczniej niż simazyna. Najaktywniejszymi pod tym względem spośród badanych grzybów okazały się *Aspergillus terreus* i *Penicillium canescens*.

Kaufman i Blake (59) stwierdzili, że grzyby glebowe (*Aspergillus fumigatus*, *A. ustus*, *A. flavipes*, *Rhizopus stolonifer*, *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *Penicillium decumbens*, *P. janthinellum*, *P. rugulosum*, *P. luteum*, *Trichoderma viride*) rozkładały simazynę w pożywce mineralnej z dodatkiem sacharozy.

Wyizolowano też grzyby rozkładające metoksy-s-triazyny (59) oraz metylo-merkapto-s-triazyny (57, 81).

Oprócz grzybów wyizolowano również bakterie i promieniowce zdolne do korzystania z simazyny jako źródła azotu.

Charpentier i Pochon (23) oraz Kozłowa, Bielousowa i Wandariewa (72) wyodrębnili z gleby bakterie z rodz. *Empedobacter*, *Achromobacter*, *Microbacterium*, *Bacterium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter* i *Rhizobium* zdolne do wykorzystania simazyny jako jedyne źródła N i C.

Z gleb Bułgarii wyizolowano szczepy *B. megaterium* i *B. agglomeratus* zdolne do rozkładania simazyny i atrazyny (116). Stwierdzono przy tym, że simazyna ulega rozkładowi o wiele wolniej niż atrazyna.

Wyizolowano również promieniowce z rodzaju *Streptomyces* i *Actinomyces*, które rozwijały się na pożywce mineralnej z dodatkiem simazyny (19, 74).

Na podstawie przytoczonych wyżej wyników badań trudno jest sądzić,

który ze składników s-triazyn — węgiel czy azot są bardziej wykorzystywane przez mikroorganizmy.

Jedni badacze uważają, że mikroorganizmy glebowe zdolne są do rozkładania simazyny wykorzystując z niej azot ale jedynie w obecności łatwo dostępnego źródła energii (37, 38, 74, 117). Pogląd ten jest reprezentowany również przez Kaufmana i wsp. (62) oraz Mickowskiego i Verona (79).

Okazało się, że liczne mikroorganizmy glebowe mają zdolność wykorzystywania węgla ze związków s-triazynowych (24, 59, 60, 61, 62, 63, 66, 67, 76). Jako źródło energii drobnoustroje te wykorzystywały węgiel z bocznych łańcuchów. Stwierdzono, że rozkład s-triazyn był o wiele szybszy gdy do pożywki dodano azotu.

Mechanizm namnażania się mikroorganizmów zdolnych do rozkładania s-triazyn

Liczni badacze starali się poznać mechanizm, dzięki któremu rozwijają się mikroorganizmy glebowe zdolne do rozkładania herbicydów. Audus (7) podaje, że następuje to dzięki zmianom mutacyjnym lub adaptacji enzymów. Według tego autora w glebie podczas braku w niej odpowiednich substratów namnażają się mutanty mające zdolność rozkładania stosowanego herbicydu i wykorzystywania go jako pożywienia lub źródła energii. Faza zastoju w tym przypadku jest to okres czasu potrzebny do rozwoju populacji drobnoustrojów zdolnych do rozkładu tych związków.

Niektóre mikroorganizmy glebowe zawdzięczają zdolność do rozkładania herbicydów indukcji enzymów adaptacyjnych. Faza zastoju jest to czas potrzebny na indukcję tych enzymów. Drobnoustroje rozkładające herbicydy mogą utracić tę zdolność jeśli do podłoża doda się łatwo dostępnego dla nich substratu np. glukozy (51, 56). Wskazuje to na słuszność teorii o indukcji lub adaptacji enzymów.

Szybkość rozkładu s-triazyn wzrastała, gdy do podłoża dodawano substancję organiczną (76, 99, 102, 103). Świadczyłoby to o tym, że herbicydy wprowadzane są do metabolizmu drobnoustrojów.

Kaufman (56) stwierdził, że u niektórych mikroorganizmów rozkładających herbicydy chloro-s-triazynowe występują konstytucyjne enzymy biorące udział w tym procesie. Drobnoustroje te pomimo kilkakrotnego pasażu na pożywkę bez triazyn w dalszym ciągu łatwo metabolizowały chloro-s-triazyny dodane do podłoża jako źródło energii i C. Natomiast w mikrobiologicznym rozkładzie metylo-s-triazyn wg Kaufmana zaangażowany jest mechanizm adaptacji enzymatycznej.

Wpływ budowy chemicznej s-triazyn na rozkład tych połączeń przez drobnoustroje

Wiadomo, że liczne drobnoustroje glebowe zdolne są do rozkładania jednego lub więcej herbicydów i odwrotnie jeden herbicyd może być rozkładany przez różne gatunki mikroorganizmów. Przy czym stopień tego rozkładu zależy w dużej mierze od chemicznej struktury cząstki herbicydu (3, 7, 55).

Hauck i Stephenson (49) stwierdzili, że metoksy- lub metylo-tiopodstawniki triazyn były szybciej rozkładane niż odpowiadające im chloro-s-triazyny.

Natomiast Kaufman (56) badając wykorzystanie przez *Aspergillus fumigatus* metoksy-, metylo-tio- i chloroanalogów simazyny, atrazyny i propazyny stwierdził, że najłatwiej wykorzystywane były chloro-s-triazyny. Najslabiej przez badany szczep *Aspergillus* wykorzystywane były metoksy-s-triazyny.

Bryant (14) znalazł zależność pomiędzy rodzajem podstawników alkilo-aminowych w pierścieniu s-triazyn a ich przydatnością jako substratu dla różnych bakterii. Związki zawierające grupy dwuetylo-aminowe były szczególnie chętnie wykorzystywane przez *Pseudomonas sp.*, natomiast *Arthrobacter sp.* wykorzystywał bardziej podstawniki etylo-aminowe. Grupy izopropylo-aminowe były wykorzystywane w równym stopniu przez obydwie gatunki bakterii.

Wyniki uzyskane przez Kaufmana i Blake (59) wskazują na to, że badane przez nich grzyby glebowe różniły się pomiędzy sobą pod względem zdolności do wykorzystywania podstawników alkilowych w pierścieniu s-triazyn. *Aspergillus fumigatus* oraz *Penicillium janthinellum* wykorzystywały w pierwszym rzędzie grupę etylową a dopiero potem izopropylo-owe, podczas gdy *Rhizopus stolonifer* i inne grzyby chętniej korzystały z grup izopropylo-owych.

Kaufman (56) obserwował dodatnią korelację pomiędzy ilością i wielkością podstawników alkilo-aminowych w cząsteczce s-triazyn a suchą masą grzybni *Aspergillus fumigatus* wyhodowanego na pożywkach z różnymi s-triazynami jako źródłem węgla.

Hauck i Stephenson (49) przypuszczają, że na różnice w stopniu rozkładu s-triazyn ma wpływ symetria ich cząsteczek. Asymetryczne chloro-s-triazyny były szybciej rozkładane niż symetryczne.

Stwierdzono ponadto, że chemiczna struktura cząsteczki s-triazyn wpływa na nasilenie nitryfikacji azotu s-triazynowych związków (49).

Mechanizm rozkładu s-triazyn w glebie

Badaczy interesuje obecnie nie tylko to, czy dany preparat zanika w środowisku glebowym, lecz również istotny jest dla nich mechanizm tego procesu oraz powstające przy tym produkty rozpadu.

Wiadomo jest, że substancja aktywna stosowanego preparatu może ulec w sensie biologicznym uaktywnieniu lub rozkładowi, względnie powiązaniu ze związkami występującymi w środowisku. Dlatego też istotne jest badanie nie tylko niezmiennych pozostałości preparatu ale również produktów pochodnych (35).

Wg Kaufmana i Kearneya (61) jedne mechanizmy powodować mogą rozkład herbicydu z całkowitą jego detoksykacją, podczas gdy inne powodują aktywację i toksykację początkowo nietoksycznych cząsteczek. Jeszcze inny mechanizm prowadzi może do przekształcenia toksycznej cząsteczki w produkt, który wywiera dodatni wpływ na rośliny wyższe, faunę glebową oraz mikroflorę.

Eberle (30) stwierdził, że rozpad cząsteczki simazyny zarówno w wyniku reakcji czysto chemicznych jak i pod wpływem drobnoustrojów powoduje często powstawanie identycznych produktów.

Do niedawna produkty przemian herbicydów pod wpływem drobnoustrojów były zupełnie nie znane. Obecnie podejmowane są liczne badania zmierzające do wyodrębnienia i identyfikacji tych związków. Wyniki badań w tym zakresie nie zawsze są ze sobą zgodne. Spośród herbicydów s-triazynowych najwięcej uwagi poświęcono chloro-s-triazynom.

Rozkład chloro-s-triazyn

Hydroksylacja i dealkylacja

W roku 1960 Gysin i Knuesli (40) zaproponowali hipotetyczny schemat rozkładu simazyny w roślinach, wg którego była ona najpierw przekształcana w 2-hydroksy-4,6-dwu(etyloamino)-s-triazynę czyli hydroksysimazynę. Następnie przez pęknięcie pierścienia triazynowego tworzyłyby się związki typu dwuguanidyny z wydzieleniem CO_2 .

Wyniki doświadczeń z C^{14} w pierścieniu simazyny wykazały, że hydroksysimazyna jest wczesnym produktem rozkładu simazyny w roślinach wyższych, a przechodzenie simazyny w hydroksysimazynę jest reakcją nieenzymatyczną (41).

Przechodzenie s-triazyn w 2-hydroksy-pochodne potwierdziły również wyniki badań nad rozkładem atrazyny i simazyny w glebie, uzyskane przez Harrisa (43, 44) oraz Armstronga i Harrisa (6). Ponieważ 2-hydroksy-triazyny są związkami nie toksycznymi dla roślin ich powstawaniem wg

tych badaczy można tłumaczyć zjawisko detoksykacji środowiska. Harris nie obserwował w glebie procesu dealkilacji s-triazyn, stwierdził natomiast możliwość dealkilacji hydroksy-pochodnych triazyn.

Hydroksylacja chloro-s-triazyn jest uważana za początkową reakcję w mikrobiologicznym rozkładzie tych związków. O szybkiej przemianie atrazyny do hydroksyatrazyny, następującej pod wpływem grzybów glebowych (*Fusarium roseum*) donoszą Couch, Gramlich, Davis i Funderburk (24).

Stwierdzono szybsze wytwarzanie $^{14}\text{CO}_2$ z gleby traktowanej hydroksyatrazyną ze znacznym ^{14}C w pierścieniu, niż z gleby z atrazyną znaczną ^{14}C (108, 109). Jednak wyniki uzyskane przez Kaufmana i Kearneya wskazują, że rozkład przez mikroorganizmy glebowe hydroksy-s-triazyn jest bardziej problematyczny niż rozkład chloro-s-triazyn.

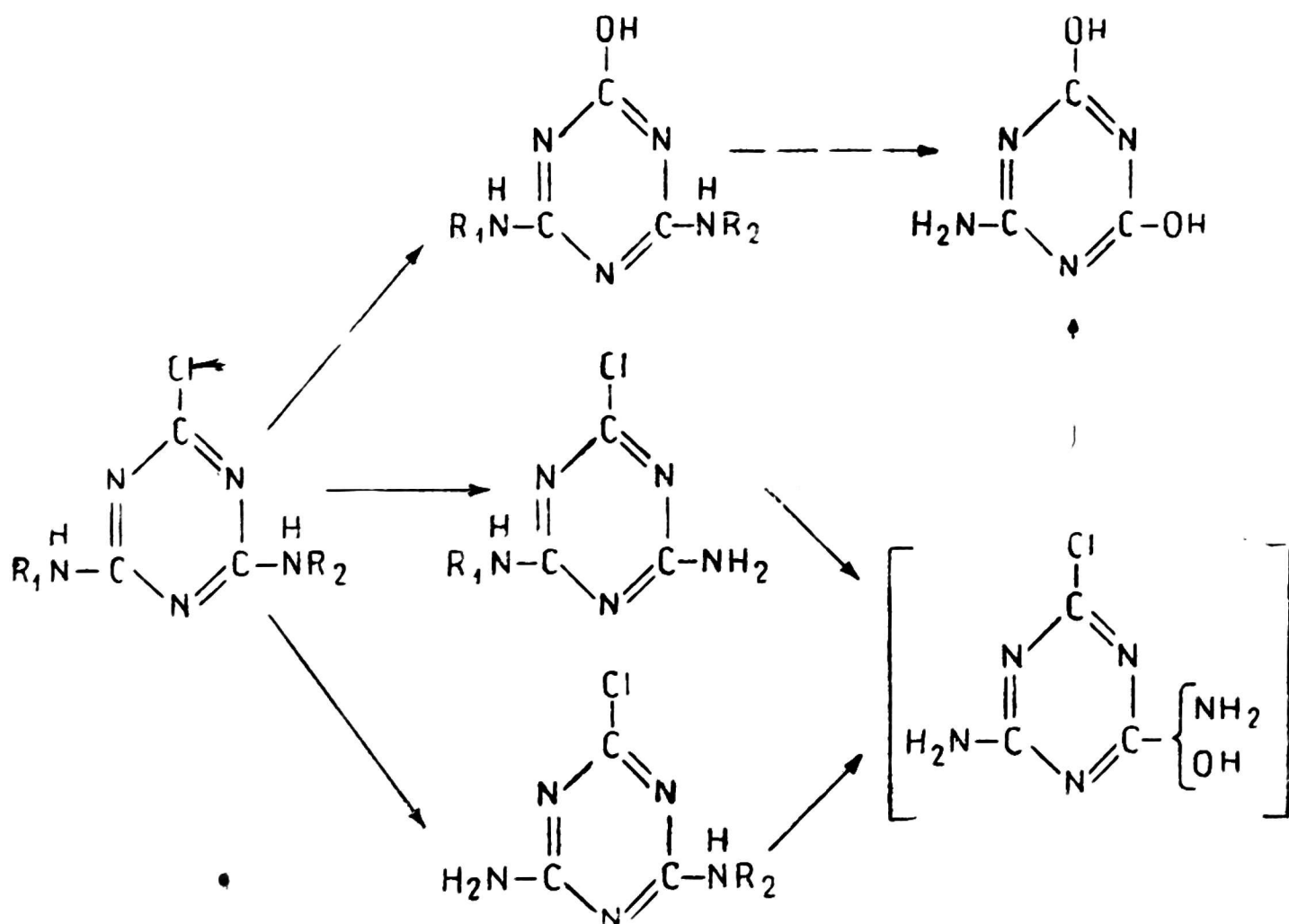
Dane uzyskane przez Kaufmana, Kearneya i Sheetsa (63, 66) wykazały, że rozkład cząsteczki simazyny przez *Aspergillus fumigatus* zachodzi poprzez jej dealkilację, dezaminację lub obydwie te procesy. Miejscem tych reakcji jest łańcuch boczny simazyny a hydroksysimazyna nie pośredniczy w tym procesie. W wyniku rozkładu simazyny przez *Aspergillus fumigatus* powstawała 2-chloro-4-amino-6-etylo-amino-s-triazyna. Drugim metabolitem był związek zawierający ^{36}Cl związany z nienaruszonym pierścieniem triazynowym, ale nie zawierającym dwu grup etylowych. Struktura tego metabolitu jest jeszcze nie znana. Badania chromatograficzne wykazały, że prawdopodobnie nie jest to 2-chloro-4,6-dwuamino-s-triazyna (63, 66). Natomiast atriazyna jest metabolizowana do 2-chloro-4-amino-etyloamino-s-triazyny i 2-chloro-4-amino-6-izopryloamino-s-triazyny (59, 61). Następnie z 2-chloro-4-amino-6-etyloamino-s-triazyny w wyniku dalszej dealkilacji lub dezaminacji lub obydwu procesów równocześnie oraz w wyniku dehalogenacji cząsteczki tworzy się ammelidyna (66).

Ammelidyna (2,4-dwuhydroksy-6-amino-s-triazyna) była identyfikowana chromatograficznie jako metabolit grzybów. Wykrycie tego związku przemawia za tym, że chloro-s-triazyny mogą być wykorzystane przez niektóre mikroorganizmy jako źródło N.

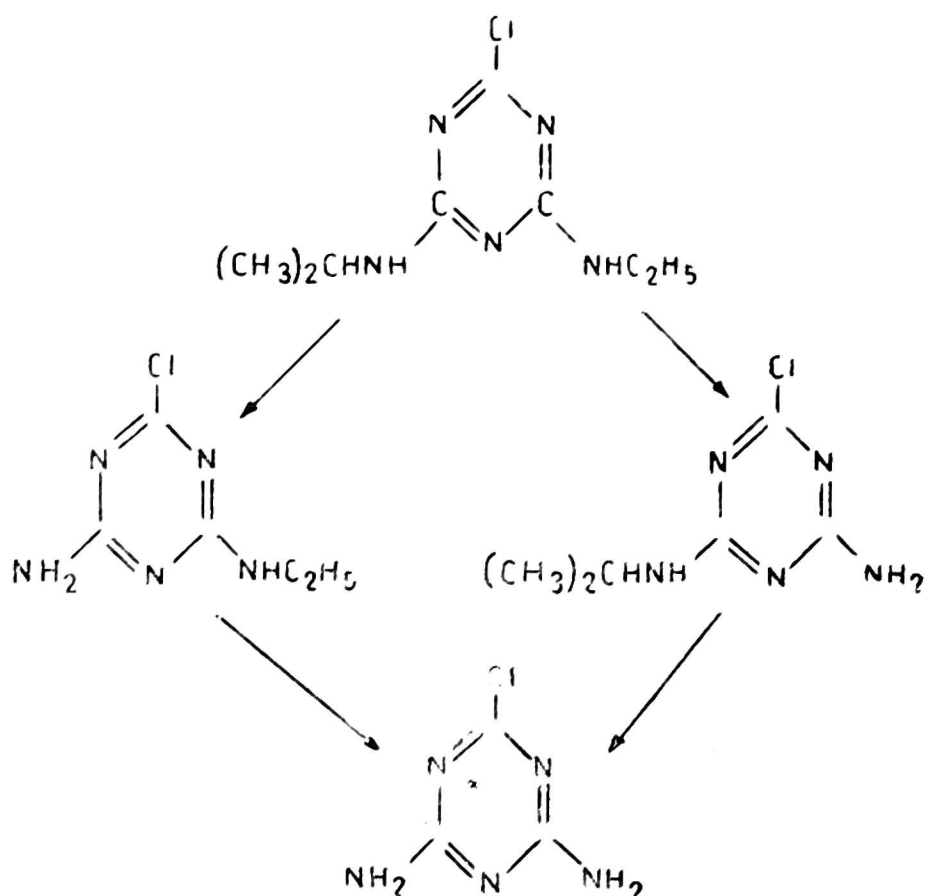
Na podstawie informacji uzyskanych z badań mikrobiologicznych Kaufman i Kearney (61) proponują następujące drogi rozkładu chloro-s-triazyn (rys. 4).

Plimmer i współpracownicy (87, 88, 89, 90) sądzą, że oksydatywną dealkilację poszczególnych herbicydów s-triazynowych można rozważać jako reakcję wolnych rodników w systemie modelowym. Reakcje te mogą być analogiczne do reakcji rozważanych w mikrobiologicznym systemie enzymatycznym. Na podstawie wyników reakcji przeprowadzonych z wol-

nymi rodnikami Plimner, Kearney i Rowands (89) proponują następujący przebieg dealkilacji atrazyny (rys. 5).



Rys. 4. Drogi mikrobiologicznego rozkładu chloro-s-triazyn wg Kaufman i Kearney (1970)



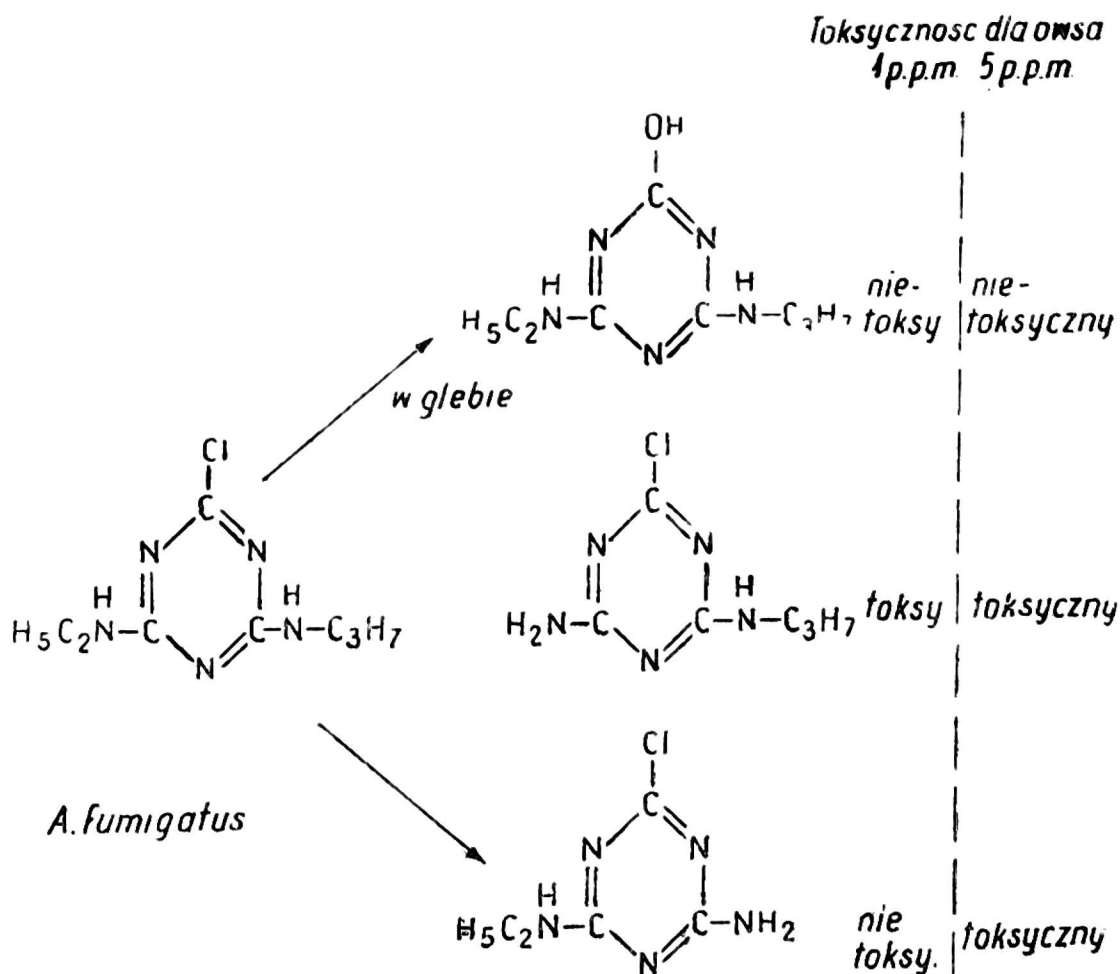
Rys. 5. Dealkilacja atrazyny w wyniku reakcji z wolnymi rodnikami wg Plimnera i in. (1971)

W wyniku dealkilacji simazyny powstawał tylko jeden produkt tj. 2-chloro-4,6-dwuamino-s-triazyna. Na podstawie zachodzących w systemie modelowym reakcji z wolnymi rodnikami stwierdzono, że szybciej utleniana jest grupa etylowa niż izopropylowa (87, 88, 89, 90). Wyniki te zgodne były z wynikami uzyskanymi *in vivo* przez Kaufmana i Blake (58, 59).

Reakcje dealkilacji atrazyny, simazyny i prometryny obserwowano również u wyższych roślin (104, 105, 106, 107).

Mechanizm N-dealkilacji nie jest jeszcze dokładnie poznany. Wg współczesnych teorii reakcja N-dealkilacji przebiega poprzez N-hydroksymetyl (35). W przypadku amin powstająca N-hydroksy-metyloamina jest nietrwała i dalej rozkłada się do zdealkilowanych amin i formaldehydu.

Dealkilacja herbicydów nie zawsze zapewnia ich detoksykację (61). Powstająca w wyniku dealkilacji atrazyny 2-chloro-4-amino-6-izopropylamino-s-triazyna i 2-chloro-4-etylamino-6-amino-s-triazyna były prawie tak samo toksyczne dla owsa jak sama atrazyna [58, (rys. 6)].



Rys. 6. Metabolizm atrazyny do toksycznych i nie toksycznych metabolitów wg Kaufman i Blake (1969)

Toksyczność metabolitów atrazyny potwierdzili również inni badacze (41, 59, 69, 104, 105, 106).

Powstawanie toksycznych metabolitów wyjaśnia fakt dlaczego niektórzy badacze (16, 17, 58, 61, 101) stosując biotesty nie obserwowali zanikania s-triazyn w płynach pochodzących z mikroorganizmów glebowych.

Wzrost fitotoksyczności obserwowany niekiedy po zastosowaniu niektórych herbicydów dwualkilo-s-triazynowych można tłumaczyć ich monodealkilacją (58, 61, 68, 101). I tak np. Sheets i wsp. (101) obserwowali wzrost toksyczności gleby traktowanej chlorazyną. Według Kaufmana (57) może to być wynikiem stopniowej dealkilacji chlorazyny do trietazyny a w końcowym efekcie do simazyny. Podobnie wzrost fitotoksyczności gleby po 80 dniach od zastosowania ipazyny może być spowodowany przejściem tego preparatu w atrazynę (67).

Pęknięcie pierścienia

Liczni badacze obserwowali wydzielanie się $^{14}\text{CO}_2$ z hodowli mikroorganizmów traktowanej s-triazynami z ^{14}C w pierścieniu (24, 41, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 76, 78, 91). Obserwacje te wskazują na możliwość pęknięcia pierścienia s-triazynowego, przy czym możliwości te są ograniczone. Świadczy o tym niski poziom $^{14}\text{CO}_2$ (0 do 4%) wydzielającego się podczas hodowli drobnoustrojów na pożywkach z dodatkiem s-triazyn znaczonej w pierścieniu. Na podstawie tych wyników można wnioskować, że struktura pierścienia s-triazynowego jest stosunkowo odporna na działanie mikroorganizmów.

Kaufman i Kearney (61) podali pewien hipotetyczny przebieg metabolizmu, prowadzący do pęknięcia pierścienia s-triazyn. Wg tych badaczy pęknięcie pierścienia następuje jedynie po uprzedniej hydroksylacji cząsteczki. Natomiast nie zostało jeszcze stwierdzone, czy pęknięcie pierścienia następuje w wyniku hydroksylacji cząsteczki, której towarzyszy uprzednia jej dechloracja, czy też do pęknięcia pierścienia wystarczy wcześniejsza hydroksylacja, która następuje po dezaminacji cząsteczki.

Pęknięcie pierścienia s-triazyn prowadzi do ich całkowitej mineralizacji. Na tej podstawie można by sądzić, że związki te mogą być wykorzystane jako źródło powoli uwalnianego się azotu (49, 70, 96).

Mechanizm biodegradacji metoksy-s-triazyn

Herbicydy z grupy 2-metoksy-s-triazyn są mało selektywne w stosunku do chwastów. Wynikiem tego jest ich ograniczone użycie a w związku z tym również niewielka ilość badań mających na celu prześledzenie dróg ich metabolizmu.

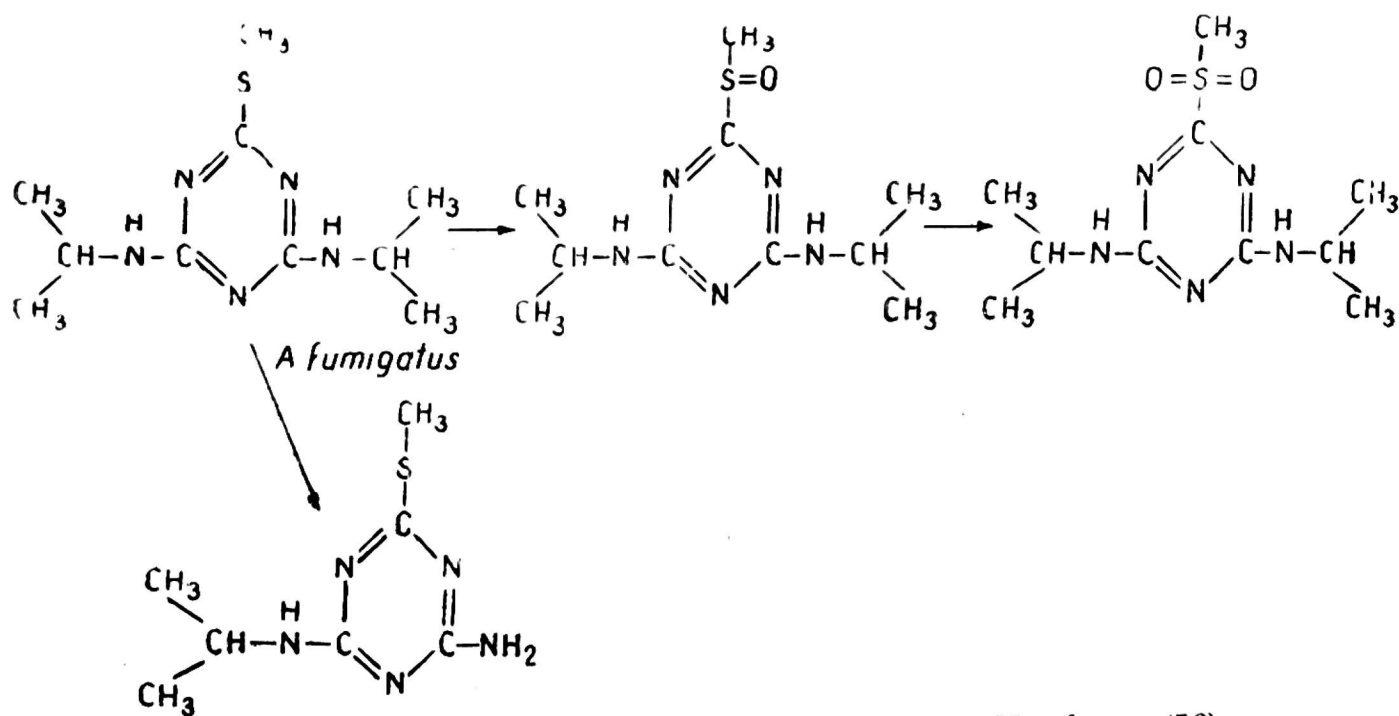
Gysin i Knuesli (40) oraz Mueller i Payot (80) obserwowali u roślin wyższych hydrolizę 2-metoksy-s-triazyn do składników hydroksylowych. Badania te wykazały, że metoksy-składniki są o wiele bardziej odporne na hydrolizę niż chloro-s-triazyny. Potwierdziły to również badania Kaufmana (56), który stwierdził, że metoksy-s-triazyny były bardziej odporne na rozkład przez grzyby niż chloro-s-triazyny.

Kearney i wsp. (64, 65) stwierdzili, że demetoksyłacja pestycydów zachodzi w wyniku działania na nie mikroorganizmów.

Bezkomórkowy wyciąg *Pseudomonas fluorescens* katalizował wg Cartwrighta i Buswella (21) oraz Cartwrighta i Smitha (22) oksydatywną demetylację i pękanie pierścienia wanilinowego. Reakcje demetylacji wymagały obecności zredukowanego glutationu (GSH) oraz NADHP. Grupy metylowe były usuwane jako formaldehyd i następnie utleniane do mrówczanu i CO₂.

Mechanizm biodegradacji metylo-tio-s-triazyn

Gysin (39) stwierdził, że prometryna była utleniana przez mikroorganizmy glebowe do sulfotlenków a następnie do sulfonów. Zarówno sulfotlenki jak i sulfony wyizolowano z gleby i zidentyfikowano (87). Obserwowano również procesy dealkilacji (87a).



Rys. 7. Utlenianie i dealkilacja prometryny wg Kaufman (56)

Kaufman (57) udowodnił jednak, że prometryna jest metabolizowana przez grzyby glebowe (*Aspergillus fumigatus*) do 2-metylo-tio-4-amino-6-izopropylamino-s-triazyn. Nie obserwował on tworzenia się sulfotlenków i sulfonów.

Z powyższego przeglądu badań wynika, że mimo licznych prac nad poznaniem mechanizmu rozkładu herbicydów istnieje jeszcze wiele zagadnień nie wyjaśnionych i kontrowersyjnych. Dlatego też konieczne jest dalsze kontynuowanie badań dotyczących tego problemu.

LITERATURA

1. Aelbers E., Homburg K.: Mededel. Landbouwhog. en Opzoekingsst. Staat Gent, 24, 893, 1959.
2. Agudis O.: Weed Abstr. 17, 238, 1968.
3. Alexander M., Aleem M.I.H.: J. Agr. Food Chem. 9, 44, 1961.
4. Armstrong D.E., Chesters G.: Environ. Sci. Technol. 2, 633, 1968.
5. Armstrong D.E., Chesters G.: Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 31, 61, 1967.
6. Armstrong D.E., Harris R.F.: Agron. Abstr. 57, 81, 1965.
7. Audus L.J.: Microbial breakdown of herbicides in soils. (w) E.K. Woodford, Sagar G.R., Herbicides and the soil, Oxford: Blackwell, 1960.
8. Bakalivanov D.: Poczwozn. i Agroch. 6, 111, 1969.
9. Bakalivanov D.: Mater. ot nauczna-konfier. 1971; Wlijanie na chemizacija w selskoto stopanctwo wrchu mikrobiologicznitje procesi w poczwata, Sofia, s. 60, 1972.
10. Bayer D.E.: Weeds 15, 249, 1967.
11. Becker H.G.: Albrecht Thaer Archiv 1, 1964.
12. Behrens R.: Residue Review 32, 355, 1970.
13. Bortels H., Fricke E., Schneider R.: Weed Abstr. 17, 238, 1968.
14. Bryant J.B.: Bacterial decomposition of some aromatic and aliphatic herbicides. Ph. D. Thesis, Penn. State Univ. 1963.
15. Buchholtz K.P.: Weeds 13, 362, 1965.
16. Burnside O.C.: The influence of environmental factors on the phytotoxicity and dissipation of simazine. Ph. D. Thesis, Univ. Minn. 1959.
17. Burnside O.C.: Behrens R. Weeds 9, 145, 1961.
18. Burnside O.C., Fenster C.R., Wicks G.A.: Weeds 11, 209, 1963.
19. Burnside O.C., Schmidt E.L., Behrens R.: Weeds 9, 477, 1961.
20. Burschel P.: Weed Res. 1, 131, 1961.
21. Cartwright N.J., Buswell J.A.: Bioch. J. 105, 769, 1967.
22. Cartwright N.J., Smith A.R.: Bioch. J. 102, 826, 1967.
23. Charpentier M., Pochon J.: Ann. Inst. Pasteur. 102, 501, 1962.
24. Couch R.W., Gramlich J.V., Davis D.E., Funderburk H.H.: Proc. S. Weed Conf. 18, 623, 1965.
25. Cruz M., White J.L., Russell J.D.: Israel J. Chem 6, 315, 1968.
26. Day B.E., Jordan L.S., Jolliffe V.A.: Weed Scien. 16, 209, 1968.
27. Delley R., Fridrich K., Karlhuber B., Szekely G., Stambach K.: Frens. Zeitschrift f. Anal. Chem., 228, 23, 1967.
28. Dubey H.D., Freeman J.F.: Soil Sci., 97, 334, 1964.
29. Duke W.B.: The decomposition of 2-chloro-4-ethylamino-6-isopropylamino s-triazine (atrazine) and related s-triazine herbicides by soil microorganisms., M.S. Thesis, Ore. State Univ., 1964.
30. Eberle D.: Biul. IOR, 50, 75, 1971.
31. Foy C.L.: Weeds 12, 103, 1964.

32. Frank R.: Weeds 14, 82, 1966.
33. Frissel M.J.: Versalg Landbouwk. Onderzoek, 76, 3, 1961.
34. Gast A.: Meded. Landb., Hogesch. Gent., 27, 1252, 1962.
35. Geissbühler H.: Biul. IOR., 44, 307, 1969.
36. Gorzelak A.: Prac. Nauk. Inst. Techn. Org. i Tworz. Sztucz. Pol. Wroc., 9, Ser. Studia i mat. 8, 85, 1972.
37. Guillemat J., Comptes Rendus Acad. Sci., Paris, 250, 1343, 1960.
38. Guillemat J.: Charpentier M., Tardieux P., Pochon J., Ann. Epiphyt., 11, 261, 1960.
39. Gysin H.: Chem. a Ind., London, 1193, 1962.
40. Gysin H.: Knuesli E., Adv. Pest. Control Research. 3, 289, 1960.
41. Hamilton R.H., Moreland D.E.: Weeds 11, 213, 1963.
42. Hance R. J.: Sci. Food Agric., 18, 544, 1967.
43. Harris C.I.: Weed Research, 5, 275, 1966.
44. Harris C.I.: J. Agr. Food Chem. 15, 157, 1967.
45. Harris C.I.: Weeds 15, 214, 1967.
46. Harris C.I., Sheets T.J.: Weeds 13, 215, 1965.
47. Harris C.I., Warren G.F.: Weeds 33, 612, 1964.
48. Harris C.I., Woolson E.A., Hummer B.E.: Weed Sci. 17, 27, 1969.
49. Hauck R.H., Stephenson H.F.: J. Agr. Food Chem. 12, 147, 1964.
50. Hilton H.W., Yuen Q.H.: J. Agr. Food Chem. 11, 230, 1963.
51. Hirsch P., Alexander M.: Can. J. Microbiol. 6, 241, 1960.
52. Holly K., Roberts H.A.: Weeds 12, 120, 1963.
53. Horowitz M.: Weed Res. 9, 314, 1969.
54. Jordan L.S., Day B.E., Clerx W.A.: Weeds 12, 5, 1964.
55. Kaufman D.D.: Wisc. Soil Sci. Soc. Amer. Inc. ASA Special Publ. 8, 85, 1960.
56. Kaufman D.D. wg Kaufman D.D., Kearney P.C.: Res. Rev. 32, 235, 1970.
57. Kaufman D.D.: Proc. of Symp. Michig. State Univ. 73, 1970.
58. Kaufman D.D., Blake J.: Weed Sci. Soc. Amer. Abstr. Nr 230, 1969.
59. Kaufman D.D., Blake J.: Soil Sci. Biol. Biochem. 2, 73, 1970.
60. Kaufman D.D., Kearney P.C.: Weed Soc. Amer. Abstr. 37, 1964.
61. Kaufman D.D., Kearney P.C.: Res. Rev. 32, 235, 1970.
62. Kaufman D.D., Kearney P.C., Sheets T.J.: Science 142, 405, 1963.
63. Kaufman D.D., Kearney P.C., Sheets T.J.: J. Agr. Food Chem. 13, 238, 1965.
64. Kearney P.C., Helling C.S.: Res. Rev. 25, 25, 1969.
65. Kearney P.C., Kaufman D.D., Alexander M.: Biochemistry of herbicide decomposition in soil. (w) Mc. Laren A.D., Peterson G.H., Soil biochemistry, Dekker, N. York, s. 318, 1967.
66. Kearney P.C., Kaufman D.D., Sheets T.J.: J. Agr. Food Chem. 13, 369, 1965.
67. Kearney P.C., Sheets T.J., Smith J.W.: Weeds 12, 83, 1964.
68. Klozowski T.T.: Nature 205, 104, 1965.
69. Knuesli E., Berrer D., Dupnis G., Esser H.: S-triazines. (w) Kearney P.C., Kaufman D.D. (eds) Degradation of herbicides, N. York: Dekker, 1969.
70. Konishi K., Imanishi A.: J. Sci. Soil Manure, Jap. 15, 564, 1941.
71. Kostowska B., Sadowski J., Witek S.: Prac. Nauk. Inst. Techn. Org. i Tworz. Sztucz. Pol. Wrocł. 9, Ser. Stud. i Mater. 8, 17, 1972.

72. Kozłowa E.N., Bielousowa A.A., Wandarjewa W.S.: *Agrobiol.* 2, 271, 1964.
73. Kuzjakina T.I., Raczinskii W.W., Nepomiłujew W.F.: *Izw. Timirjaz. Sel. Akad.* 6, 119, 1970.
74. Manorik A.W., Wasilczenko W.F., Mandrowskaja N.M., Maliczenko S.M.: *Agrochim.* 4, 123, 1968.
75. Mattson A.M., Kakrs R.A., Murphy R.T.: *Res. Rev.* 32, 371, 1970.
76. McCormick L.L., Hiltbold A.E.: *Weeds* 14, 77, 1966.
77. McGlamery M.D., Slife W.E.: *Weeds* 14, 237, 1966.
78. McRae I.A., Alexander M.: *J. Agr. Food Chem.*, 13, 72, 1965.
79. Mickovski M., Verona O.: *Agr. Ital. Pisa* 67, 67, 1967.
80. Mueller P.W., Payot P.H.: *Proc. I.A.E.A. symp. Isotopes in Weed research, Viena*, 61, 1966.
81. Murray D.S., Rieck W.L.: *Agron. Abstr.* 60, 95, 1968.
82. Nearpass D.C.: *Weeds* 13, 341, 1965.
83. Obien S.R., Green R.E.: *Weed Scien.* 17, 509, 1969.
84. Ostrowski J.: *Ochron. Rośl.* 6, 21, 1962.
85. Ostrowski J.: *Warszawa, rozpr. hab. SGGW*, 1971.
86. Pacewiczowa T.: *Zesz. Probl. Post. Roln.* 60, 165, 1966.
- 87a. Plimmer J.R., Kearney P.C.: *Abstr. ACS. 158-th Mtg, N.Y.*, 8, A, 30, 1970.
87. Plimmer J.R., Kearney P.C., Klingebiel U.I.: *Weed Sci. Soc. Amer. Abstr.* 202, 1969.
88. Plimmer J.R., Kearney P.C., Klingebiel U.I.: *J. Agr. Food Chem.* 19, 572, 1971.
89. Plimmer J.R., Kearney P.C., Rowlands J.R.: *Presented Amer. Chem. Soc., Atlantic City, N.Y.*, 1968.
90. Plimmer J.R., Rowlands J.R.: *156-th Meeting Amer. Chem. Soc. Abstr.* A-47, 1968.
91. Ragab M.T.H., McCollum J.P.: *Weeds* 9, 72, 1961.
92. Rodgers E.G.: *Weed Scien.* 16, 117, 1968.
93. Roeth F.W., Lavy T.L., Burnside O.C.: *Weed Scien.* 17, 202, 1969.
94. Russel J.D., Cruz M., White J.L., Bailey G.W., Payne W.R., Pope J.D., Teasley J.I.: *Science* 160, 1340, 1968.
95. Sadowski J., Kostowska B., Witek S.: *Prace Nauk. Inst. Techn. Org. i Tworz. Sztucz. Pol. Wrocł.* 9, Ser. *Studia i mater.* 8, 23, 1972.
96. Scholl W., Davis R.O.E., Brown B.E., Ried F.R.: *Ind. Eng. Chem.* 29, 202, 1937.
97. Scudder W.T. *Fla. Agr. Expt. Sta. Tech. Bull.* No 657, 1963.
98. Selman F.L.: *Weed Abstr.* 17, 236, 1968.
99. Sheets T.J.: *Proc. Weed Control Conf.* 18, 37, 1962.
100. Sheets T.J., Crafts A.S.: *Weeds* 5, 93, 1957.
101. Sheets T.J., Crafts A.S., Drever H.R.: *J. Agr. Food Chem.* 10, 458, 1962.
102. Sheets T.J., Danielson L.L.: *U.S. Departm. of Agric., ARS* 20, 170, 1960.
103. Sheets T.J., Shaw W.C.: *Weeds* 11, 15, 1963.
104. Shimabukuro R.H.: *152-d Meeting Amer. Chem. Soc. Abstr.* A-34, 1966.
105. Shimabukuro R.H., Kadunce R.E., Frear D.S.: *J. Agr. Food Chem.* 14, 392, 1966.
106. Shimabukuro R.H.: *J. Agr. Food Chem.* 15, 557, 1967.
107. Shimabukuro R.H., Swanson R.H.: *Weed Sci. Soc. Amer. Abstr.* 197, 1969.

108. Skipper H.D., Thesis M.S.: Ore. State Univ. 1966.
109. Skipper H.D., Gilmour C.M., Furtick W.R.: Proc. Soil Sci. Soc. Amer. 31, 653, 1967.
110. Sobieszczanski J.: Pr. Nauk. Inst. Techn. Org. i Tworz. Sztucz. Pol. Wrocl. 9, Ser. Studia i mater. 8, 89, 1972.
111. Strzelec A.: Pam. Puław 58, 233, 1973.
112. Świętochowski B., Żurawski H., Łoziuk W.: Biul. Inst. Ochr. Rośl. 32, 11, 1965.
113. Talbert R.T., Fletchall O.H.: Weeds 12, 33, 1964.
114. Talbert R.T., Fletchall O.H.: Weeds 13, 46, 1965.
115. Upchurch R.P., Mason D.D.: Weeds 10, 9, 1962.
116. Voinova G., Bakalivanov D.: Colloque Intern. Pochon. J., Voets J.P., 35, 839, 1970.
117. Waeffler R., Geigy J.R., Basle S.A., 1961.
118. Weber J.B., Weed S.A., Ward T.M.: Weed Science 17, 417, 1969.
119. Witek S., Kostowska B., Sadowski J.: Pr. Inst. Nauk. Techn. Org. i Tworz. Sztucz. Pol. Wrocl. 9, Ser. Studia i mater. 8, 5, 1972.
120. Żurawski H., Piss J.: Roczn. Gleb. 22, 127, 1971.