

KDAJ SO PODATKI DOLOČANJA DEPOZITA FITOFARMACEVTSKEGA SREDSTVA RES POVEDNI?

Milica KAČ¹, Simona GOLHLEB², Iztok Jože KOŠIR³

¹ Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, Žalec
^{1,2,3} Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, Ljubljana

IZVLEČEK

Prispevek kritično ocenjuje različne tehnike določanja depozita, njihove prednosti in slabosti ter poglobljeno predvsem natančnost končnega rezultata, ki jo določajo negotovosti v vsaki fazi postopka določanja depozita. Določanje depozita z dodajanjem tracerja v pršilno brozgo je po kemijski analizi enostavno, ne daje pa podatkov o obstojnosti nanosa. Direktno določanje aktivne snovi je tako po določanju nanosa kot glede podatkov o njegovi obstojnosti zadovoljivo, je pa praviloma tehnično zahtevnejše in zaradi velikega števila potrebnih meritev precej drago.

Ključne besede: depozit fitofarmaceutska sredstva, vrednotenje določanja depozita, negotovost meritve, negotovost rezultata, sledilec

ABSTRACT

POWER AND PITFALLS OF DEPOSIT MEASUREMENTS OF PHYTOPHARMACEUTICALS

The contribution gives a critical overview of various techniques for measuring the deposit of phytopharmaceutically active substances, their advantages and disadvantages as well as an in depth analysis about the (un)certainity of the final result, which is determined by the errors committed in each step of the procedure performed. Determining the deposit by adding a tracer to the spraying broth is chemically relatively simple, but gives no results on the deposit stability. Direct determination of the active substance gives reliable results on deposit as well as on its stability but, on the other hand, it is technically more demanding and becomes rather expensive as many measurements are required to give satisfactory final results.

Key words: deposit of phytopharmaceuticals, evaluation of deposit determination, uncertainty of measurements, uncertainty of results, tracer

1 UVOD

Vrednost izmerjenega podatka ni samo rezultat meritve sam po sebi, ampak tudi poznavanje negotovosti, s katero moramo računati, ko določeno vrednost interpretiramo. Zavestno upoštevanje tega dejstva je še posebno pomembno pri obravnavanju rezultatov meritev, ki so odvisni od mnogih dejavnikov, o katerih pogosto ni mogoče imeti natančne kvantitativne predstave.

V praksi se pogosto srečujemo s problemi neučinkovitega varstva rastlin, ki ga kar prehitro pripišemo bodisi slabi izbiri fitofarmaceutskega sredstva, odpornosti povzročitelja boleznih in/ali škodljivca na uporabljeno fitofarmaceutsko sredstvo, le redko pa se kritično vprašamo o ustreznosti aplikacije in o optimalni uporabi fitofarmaceutskega sredstva.

Da bi lahko optimalno ocenili nanos fitofarmaceutskega sredstva glede na tehnične parametre aplikacije in na stanje v nasadu, je pogosto nujno določiti depozit

¹ doc. dr.

² univ. dipl. inž. agr.

³ dr.

fitofarmacevtskega sredstva, torej količino nanesenega fitofarmacevtskega sredstva na površinsko enoto tretirane rastline. Pri tem so glede na predmet raziskave, kakor tudi glede na razpoložljiva sredstva in čas na voljo najrazličnejše metode (Salyani, 2000). Uporabljamo predvsem različne dovolj občutljive načine kemijskega določanje aktivne snovi v fitofarmacevtskem sredstvu oziroma sledilca, ki smo ga primešali škropilni (pršilni) brozgi. Naneseno količino teh snovi določimo posredno z merjenjem koncentracije aktivne snovi ali sledilca v ekstraktih fitofarmacevtskega sredstva s primernih kolektorjev. Kolektorji so lahko naravni (listi rastlin) ali umetni (papirnati lističi, površine iz umetnih mas), analizirana spojina v ekstraktu pa je lahko direktno aktivna snov oziroma kakšna druga sestavina fitofarmacevtskega sredstva ali pa sledilec (tracer), ki smo ga posebej za analizo primešali pršilni brozgi (fluorescentno barvilo, kelati kovinskih ionov) (Murray *et al.*, 2000).

Pri omenjenih določitvah nas zanima predvsem količina aktivne snovi oziroma fitofarmacevtskega pripravka na enoto površine tretirane rastline, pogosto pa je pomembna tudi pokrovnost nanosa, tj. delež površine, ki smo jo pri tretiranju prekrili oz. omočili s pršilno brozgo. Pri študiju tega parametra pa so image analysis (analiza slike, slikovna analiza) aplikacije na umetnih kolektorjih, ki so občutljivi za vodo (water sensitive papers) (Chiu-Hsiang *et al.*, 1999) in druge oroševalne tehnike umetnih kolektorjev z barvnimi reagenti (Kohlmann in Heindl, 1977) gotovo "methods of choice".

2 MATERIALI IN METODE

2.1 Semikvantitativna določitev depozita (bakrovi ioni) po oroševanju kolektorjev z barvnim reagentom (Kohlmann in Heindl, 1977 in tam citirana literatura)

Na testne rastline ali na druge površine, kjer hočemo določati depozit, pritrdimo primerno velike lističe kromatografskega, filtrirnega ali drugačnega papirja, ki dobro vpija tekočino. Po pršenju posušene liste orosimo z oroševalnim reagentom, v primeru fitofarmacevtskih sredstev, ki vsebujejo bakrove spojine, lahko uporabimo 0,5 % etanolno raztopino rubeana. Depozit na lističih semikvantitativno ocenimo s pomočjo skale po Kohlmannu.

2.2 Kvantitativna določitev depozita z atomsko absorpcijsko spektroskopijo (Kohlmann in Heindl, 1977 in tam citirana literatura)

Testne rastline ali druge površine, kjer hočemo določati depozit, opremimo s papirnimi lističi kot pri semikvantitativnem določanju (2.1.). Po pršenju s posušeni kolektorjev kvantitativno speremo bakrove ione z 0,05 molarno raztopino natrijeve soli etilendiamintetraocetne kisline (EDTA) in njihovo koncentracijo določimo z atomsko absorpcijsko spektrometrijo. Podobno kot pri fluorofotometričnem določanju depozita (2.3) lahko z atomsko absorpcijo določamo depozit tudi na listih tretiranih rastlin.

2.3 Fluorofotometrična kvantitativna določitev depozita (helios kot sledilec) (Ciba-Geigy, 1986)

Škropilni brozgi primešamo uvitex (10 % komercialno dostopna raztopina heliosa). Po pršenju vzorčimo liste tretiranih rastlin. Ti se morajo pred vzorčenjem posušiti, do meritev jih spravimo v neprozornih vrečah. Tracer kvantitativno speremo z listov s tetraklorometanom in v ekstraktu fluorofotometrično določimo koncentracijo heliosa. Podobno kot pri kvantitativnem določevanju bakra z atomsko absorpcijo (2.2) lahko fluorofotometrično določamo depozit tudi na umetnih kolektorjih.

2.4 Določanje listne površine

Površino določene mase listov ugotavljamo po metodi listnih kontur na dovolj velikem reprezentativnem vzorcu zelenih listov. Pri hmelju se je izkazalo, da dajo ponovljive rezultate šele vzorci, ki zajemajo več kot 500 listov.

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Če kratko povzamemo nekatere najočitnejše tehnične in praktične prednosti in slabosti posameznih metod (Kač, 1993), ugotavljamo, da imajo načini, pri katerih določamo depozit neposredno z listov rastlin to prednost, da so praviloma manj zamudni, saj se izognemo tako pripravi kolektorjev, kot nameščanju le-teh po tretirani površini. Tudi vzorčenje po aplikaciji je enostavnejše. Predvsem pa moramo upoštevati, da je depozit na takih naravnih kolektorjih, ki pršilne brozge ne vpijajo, po definiciji enak kot na tretirani rastlini. Na umetnih kolektorjih pa lahko ostane tudi več brozge kot na enaki površini zelenega lista, odvisno od vremenskih razmer in predvsem od uporabljene količine vode (Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec, še neobjavljeni rezultati).

Uporaba umetnih kolektorjev ima to prednost, da je površina, na kateri določamo depozit točno znana in definirana. Če namreč določamo to površino posredno iz mase listov, je površina določene mase listov zelo odvisna od razvojnega stadija listov in (ne)reprezentativnost vzorca listov, iz katerega smo določili površino, lahko pomeni levji delež pri merilni negotovosti končnega rezultata (Kač, 1993; Kač in Kač 1993).

Semikvantitativno ocenjevanje depozita na umetnih kolektorjih po oroševanju z barvnim reagentom je glede na laboratorijski del analize enostavno in priročno, rezultati so zelo nazorni. Ocenjevanje pa je subjektivno in razlike v intenzivnosti obarvanja v primerih, ko je obarvana celotna površina lista, so majhne, če jih primerjamo s kvantitativnimi metodami (Kač, 1982). Metoda je nazorna in uporabna predvsem tedaj, ko bi radi hitro ocenili, če smo s pršenjem dosegli tudi bolj oddaljene dele rastlin.

Ponovljivost posameznih faz fluorofotometrične določitve depozita je zelo različna in temu primerno različne faze dela prispevajo različno pomemben delež pri končni merilni negotovosti (Kač in Kač, 1993). Tako smo določili, da je pri terenskem delu ponovljivost meritev s prenosnim fluorofotometrom $\pm 2,5\%$, nelinearnost odvisnosti signala od koncentracije tracerja pomeni dodatnih $\pm 10\%$ pri merilni negotovosti končnega rezultata, določitve koncentracije vzorcev z zelo majhno vsebnostjo heliosa (ekstrapolacija daleč od priporočenih koncentracijskih območij) pa da lahko tudi dvakrat prevelik rezultat (relativna napaka do 200%). Ponovljivost določitve depozita znotraj homogenega vzorca je ob primerni velikosti vzorca $\pm 10\%$. Torej lahko povzamemo, da moramo celo ob zelo pazljivem delu in ob številnih ponovitvah računati z napako določitve $\pm 15\%$, pri običajnem rutinskem delu pa se le-ta lahko poveča tudi do $\pm 25\%$.

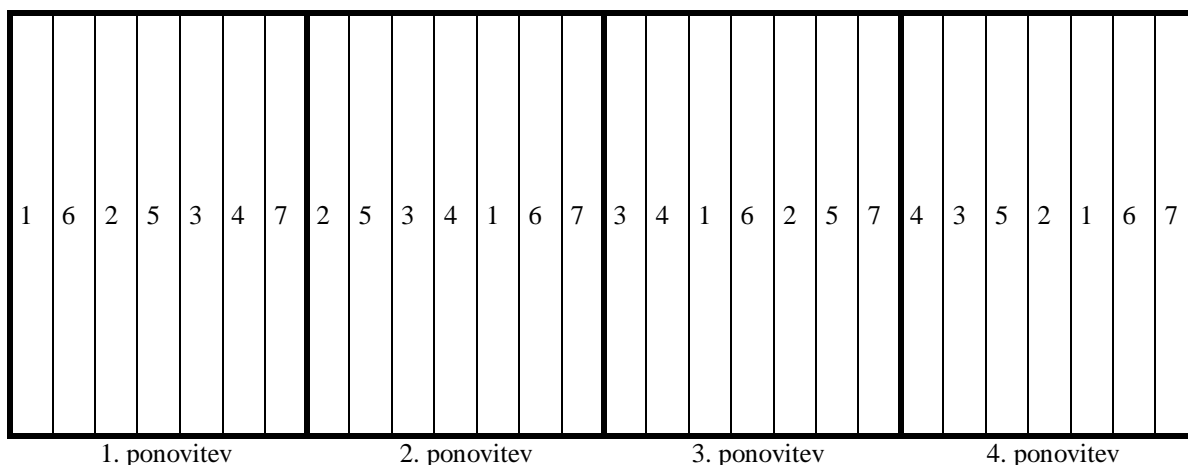
Očitno je, da so merilne negotovosti glede na naravo vzorcev precejšnje. Navidezno jasne razlike med obravnavanji so torej lahko v marsikaterem primeru kljub jasnim trendom statistično nesignifikantne.

Na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo Žalec se z vprašanji optimalne aplikacije fitofarmacevstkih sredstev ukvarjamo že vse od ustanovitve Inštituta, predvsem v okviru Oddelka za varstvo rastlin, zadnjih dvajset let pa se posvečamo tudi nekaterim bolj

teoretičnim vprašanjem v zvezi s primerljivostjo rezultatov različnih metod in z merilnimi negotovostmi določanje depozitafitofarmacevtskih sredstev.

Poleti leta 2002 smo na 3,5 ha vinograda opravili makroposkus z bločno zasnovo v štirih ponovitvah (slika 1), v katerem smo primerjali depozit različnih bakrovih pripravkov na listih vinske trte po tretiranjih proti peronospori vinske trte. V poskus je bilo vključenih sedem različnih obravnavanj v štirih ponovitvah (podrobnosti so razvidne iz slike 1). Za komentiranje rezultatov v smislu tega prispevka ni pomembno niti to, katera sredstva so bila uporabljena, niti to, v čem se posamezna obravnavanja razlikovala, zato poskus v tem smislu ni opisan. Preglednica 1 podaja rezultate določanja depozita na listih vinske trte neposredno pred vsakim od treh tretiranj in neposredno po vsakem tretiranju. Merili smo vsebnost bakrovih ionov v raztopini, ki smo jo dobili s spiranjem fitofarmacevtskega sredstva z zelenih listov, podobno kot je opisano v razdelku 2.2.

Rezultati so pregledno podani na sliki 2, za katero bi na prvi pogled rekli, da jasno kaže razlike med obravnavanji. Če pa natančneje pogledamo še sliko 3, kjer so podane le vrednosti za obravnavanji, ki se najbolj razlikujeta, vendar to pot tudi z intervalom merilne negotovosti vred, postane takoj jasno, da brez temeljite statistične analize rezultatov ne bo mogoče oceniti kot statistično signifikantno različne.



Slika 1: Shema makroposkusa, sedmih obravnavanj v štirih ponovitvah
Figure 1: The scheme of the field trial, seven treatments in four repetitions

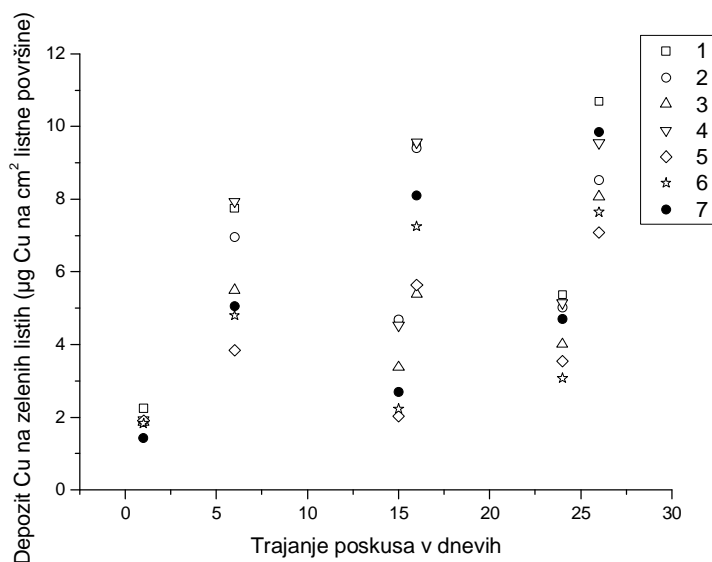
Preglednica 1: Depozit bakrovih ionov na listih vinske trte ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ površine) pred vsakim tretiranjem in po njem

Table 1: Deposit of Cu ions on the vine leaves ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ of leaf surface) before and after each treatment

Obravnavanje	1. tretiranje ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ površine)		2. tretiranje ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ površine)		3. tretiranje ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ površine)	
	pred	po	pred	po	pred	po
1	2,25±1,03	7,75±1,50	4,65±1,15	9,50±2,11	5,37±1,17	10,69±2,28
2	1,86±0,74	6,95±1,46	4,68±1,13	9,40±2,36	5,02±1,42	8,53±1,97
3	1,86±0,65	5,49±1,05	3,37±0,80	5,39±1,12	4,01±1,04	8,06±1,69
4	1,93±0,46	7,94±1,77	4,53±1,32	9,57±2,18	5,15±1,26	9,55±2,32
5	1,90±0,58	3,84±0,81	2,03±0,40	5,64±1,24	3,54±0,92	7,08±1,40
6	1,83±0,49	4,80±0,93	2,23±0,42	7,25±1,58	3,07±0,76	7,64±1,61
7	1,42±0,28	5,05±1,65	2,70±0,69	8,09±1,76	4,70±1,38	9,85±1,89

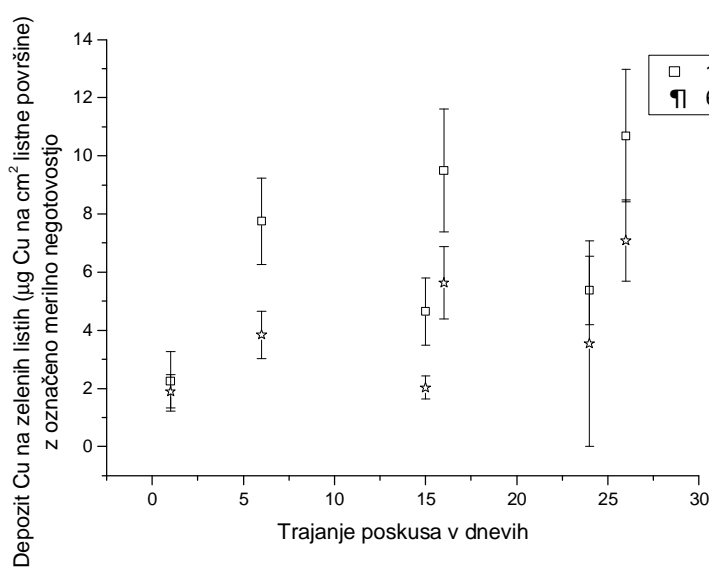
4 SKLEPI

Praviloma sta posamezna raziskava oziroma posamezen poljski poskus določanja depozita zasnovana tako, da dasta čim boljši in čim bolj nedvoumen odgovor na aktualno, dobro definirano praktično vprašanje. Katero sredstvo se rastlin bolje oprime? Pri katerem načinu aplikacije je nanos sredstva boljši? Manj pozornosti posvečajo take strogo usmerjene strokovne študije vprašanjem primerljivosti metod in smiselni povezavi rezultatov različnih študij.



Slika 2: Depozit bakrovih ionov na listih vinske trte ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ površine) pred vsakim tretiranjem in po njem (časovna os so dnevi od začetka poskusa).

Figure 2: Deposit of Cu ions on the vine leaves ($\mu\text{g Cu} / \text{cm}^2$ of leaf surface) before and after each treatment (time is given as days from the beginning of the field trial).



Slika 3: Ekstremne vrednosti obravnavanj na sliki 2, dodane so vrednosti za merilne negotovosti.

Figure 3: Minima and maxima of the treatments given in Fig. 2, data for the uncertainties of each value are added

Za realno oceno vsake metode bi morali v čim bolj enakih razmerah v nekajkratnih ponovitvah določiti depozit na različne načine in potem opazovanja primerjati še z različnimi drugimi – tudi biotičnimi – poskusi. Tako obsežne študije so tehnično in časovno zelo zahtevne, zato je toliko bolj pomembno, da so tudi tisti poljski poskusi, s katerimi rešujemo aktualna strokovna vprašanja izvedeni metodološko kar se da neoporečno in čim natančneje dokumentirani, da jih je mogoče vsaj referenčno in primerjalno vključiti v druge sorodne raziskave. V tej zvezi ima upoštevanje merilne negotovosti in s tem realistične napake vsake posamezne meritve in končnega rezultata gotovo pomembno mesto.

5 ZAHVALA

Prispevek zajema raziskovalno in strokovno delo, ki na Inštitutu za hmeljarstvo in pivovarstvo v Žalcu poteka že kar nekaj let. V raziskave je bilo zajetih več projektov, ki so jih finančno podprla različna ministrstva in druge vladne ustanove. Sodelovali smo tudi z mnogimi naročniki iz gospodarstva, v zvezi z omenjenim poskusom predvsem s Syngento AG (Basel) in Cinkarno Celje. Posebna zahvala gre posestvu Zlati grič iz Slovenskih Konjic, kjer so nam omogočili izvedbo poskusa. Prisrčna hvala tudi vsem vsem, ki so nam pri izvedbi poskusa kakorkoli pomagali.

6 LITERATURA

- Chiu-Hsiang, W., Lee-Fang, F., Liang-Lien, S., Chiu, H. W., Lee, F. F., Liang, L. S. 1999. Using image processing technique to measure spray coverage. *Journal of Agricultural Research of China*, 48, 4:96-110.
- Ciba-Geigy, 1986. The portable fluorometer PFM 2 and the fluorescent tracer method for quick determination of the spray deposits. Recommendations for application.
- Kač, M. 1982. Dejavniki, ki vplivajo na količino in razporeditev depozita fitofarmacevtskih sredstev na hmeljnih rastlinah pri pršenju. V. Jugoslovanski simpozij za hmeljarstvo, Žalec, 1982: 287-308.
- Kač, M. 1993. Comparison of various methods for determination of the deposit of pesticides on leaves of the treated plants. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani*, 61, 199-204.
- Kač, M., Kač, M. 1993. Über Wiederholbarkeit und Genauigkeit einzelner Phasen der fluorophotometrischen Belagsbestimmung der Pflanzenschutzmittel an Hopfenpflanzen, *Gesunde Pflanzen*, 45, 21-25.
- Kohlmann, J., Heindl., M. 1977. Einfluß der Applikationstechnik auf Qualität und Quantität der Spritzbeläge am Hopfen. XXV. Internationaler Hopfenbaukongress, Yakima, August 1977, 69-85.
- Murray, R. A., Cross, J. V., Ridout, M. S. 2000. The measurement of multiple spray deposits by sequential application of metal chelate tracers. *Annals of Applied Biology*, 137, 3: 245-252.
- Salyani, M. 2000. Methodologies for assessment of spray deposition in orchard applications. 2000 ASAE Annual International Meeting, Milwaukee, Wisconsin, USA, 9.-12. julij 2000, 1-11, ASAE Paper No. 001031.