

DEGRADACIÓN DE PLAGUICIDAS EN DISPOSITIVOS AMORTIGUADORES: BARRERAS DE HIERBA Y ZONAS ARBOLADAS: CASO DEL ISOPROTURON

PESTICIDE DEGRADATION IN VEGETATIVE BUFFER STRIPS: GRASSED AND TREE BARRIERS: CASE OF ISOPROTURON

Ismael Madrigal¹, Pierre Benoit¹, Enrique Barriuso¹, Benoît Réal², Alain Dutertre², Michel Moquet², María Trejo³ y Laura Ortiz³

¹INRA. Unité Environnement et Grandes Cultures. 78850. Thiverval-Grignon. Francia. (i.madrigal@unesco.org). ²ARVALIS. Service Techniques de Production. 80200 Estrées-Mons. Francia. ³CIEB. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Avenida Universidad Núm. 1001. Colonia Chamilpa. 62210. Cuernavaca, Morelos. México.

RESUMEN

La instalación de zonas amortiguadoras es una de las soluciones propuestas para combatir la contaminación de aguas superficiales por plaguicidas. Estas zonas son eficaces para detener los plaguicidas transportados en las escorrentías pero no hay mucha información sobre el devenir de las moléculas interceptadas. En este trabajo se evaluó la degradación de un herbicida, el isoproturon (IPU) [3-(4-isopropilfenil)-1, 1-dimetilurea], en suelos provenientes de barreras de hierba, zonas arboladas y parcelas de cultivo del sitio experimental de ARVALIS en la Jaillière, Francia. Los experimentos de degradación se realizaron en laboratorio utilizando el isoproturon marcado con ¹⁴C en el anillo bencénico. La mineralización del IPU fue especialmente importante en los horizontes superficiales de los suelos de las barreras de hierba y la zona arbolada. La formación de residuos no extraíbles es decir, poco disponibles, fue particularmente importante en los horizontes donde la degradación es más activa. Así, la estabilización de los residuos de isoproturon es máxima en los horizontes superficiales de los dispositivos amortiguadores. La disipación rápida del IPU en los suelos de las zonas amortiguadoras indica una función de descontaminación interesante en comparación con un suelo agrícola, ya que la degradación y la mineralización del IPU aumentan. Sin embargo, el débil potencial de degradación de los horizontes 30-60 cm indica que la eficacia de estos sistemas vía procesos de degradación y estabilización de los productos interesados, es mucho más importante en los horizontes superficiales de suelo.

Palabras clave: Agua, contaminación, materia orgánica, productos fitosanitarios, zonas amortiguadoras.

INTRODUCCIÓN

Los productos fitosanitarios utilizados en la agricultura están implicados en la contaminación de los recursos hídricos; se ha propuesto la

ABSTRACT

The installation of vegetative buffer strips is one of the solutions proposed to combat pesticide pollution of surface water. These zones are effective in removing pesticides transported by runoff, but there is little information on what happens to the intercepted molecules. In this study, degradation of the herbicide isoproturon (IPU) [3-(4-isopropylphenyl)-1, 1-dimethylurea] in soils from grassed strip, treed zones, and farm plots at the ARVALIS experimental site in La Jaillière, France was assessed. The degradation experiments were conducted in laboratory using isoproturon marked with ¹⁴C in the benzene ring. Mineralization of IPU was especially important in the surface horizons of the soils from grassed strip and the treed zone. The formation of non-extractable, or low available residues was particularly important in the horizons where degradation is more active. Thus, the stabilization of isoproturon residues is highest in the topsoil horizons of the buffer strips. The rapid dissipation of IPU in the soils of the buffer zones indicates an interesting de-polluting function compared with agricultural soil since degradation and mineralization of IPU increase in the buffer zone soils. However, the weak degrading potential of the 30-60 cm horizons indicates that the effectiveness of these systems via degradation and stabilization processes of the products of interest is much more important in the topsoil horizons.

Key words: Water, pollution, organic matter, phytosanitary products, vegetation buffer strips.

INTRODUCTION

Phytosanitary products used in agriculture are implicated in pollution of water resources. The use of natural or artificial buffer zones has been proposed to reduce runoff volume and speed and limit the transport of phytosanitary products toward bodies of water (Patty, 1997). The term buffer zones groups the grassed strip, wetlands, treed zones, etc. Of these, grassed strips are those most studied; more than 70% of the soluble and insoluble pesticides transported in runoff can be retained by these barriers (Patty, 1997).

Recibido: Enero, 2006. Aprobado: Enero 2007.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 41: 205-217. 2007.

utilización de las zonas amortiguadoras naturales o artificiales para reducir el volumen y la velocidad de las escorrentías y limitar el transporte de los productos fitosanitarios hacia los cuerpos de agua (Patty, 1997). El término zonas amortiguadoras reagrupa las barreras de hierba, los humedales, las zonas arboladas, etc., y las barreras de hierba son los dispositivos más estudiados; más de 70% de los plaguicidas solubles e insolubles transportados en los escorrentías, pueden ser retenidos por estos dispositivos (Patty, 1997). La eficiencia de las barreras de hierba obliga a cuestionarse sobre los riesgos de contaminación del manto freático por las escorrentías que pueden infiltrarse a través de estas zonas y sobre el devenir de los productos interceptados. Los resultados obtenidos por Soullier *et al.* (2002) de una simulación de escorrentías en una barrera de hierbas del sitio experimental de La Jaillière, Francia, confirman resultados previos en el mismo sitio (Patty, 1997) de que la infiltración es uno de los principales factores que contribuyen a la disipación de plaguicidas en estos dispositivos. Sin embargo no hay mucha información sobre la función de otros mecanismos implicados, como la retención en los horizontes de suelo atravesados por las escorrentías y la degradación biológica de los productos retenidos. Asimismo, no se ha cuantificado la participación relativa de cada mecanismo. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue caracterizar las capacidades de depuración del herbicida isoproturon, en los suelos de diferentes barreras de hierba y de una zona arbolada, principalmente respecto a su degradación. El comportamiento del isoproturon en las zonas amortiguadoras se comparó con el observado en los suelos de la parcela de cultivo usado como suelo testigo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Características de los suelos y el plaguicida estudiado

Los suelos usados en el estudio provienen del sitio experimental de ARVALIS de La Jaillière, al oeste de Francia. Los dispositivos experimentales fueron barreras de hierba (BE), una zona arbolada (ZB) y parcelas de cultivo (PC). Las BE formadas de ballico (*Lolium perenne*), tienen diferentes longitudes y fueron instaladas en la parte inferior de parcelas de cultivo (Patty *et al.*, 1997; Real *et al.*, 1997); las PC se utilizan con una rotación de cultivo maíz-trigo; la ZB tiene principalmente castaños. Las muestras se recolectaron a diferentes profundidades para diferenciar los horizontes afectados por el trabajo del suelo o por la instalación de una cubierta vegetal permanente: 1) dos horizontes superficiales orgánicos 0-2 y 2-10 cm de la ZB; 2) cuatro niveles de profundidad (0-2, 2-13, 13-30, 30-60 cm) de las BE, sobre la base de criterios morfológicos de color relacionado con el contenido de materia orgánica (MO), densidad y profundidad de las raíces; 3) de la PC se recolectaron del horizonte

The efficiency of grassed strips leads us to question the risks of polluting groundwater by runoff than can filter through these zones and to study what happens to the intercepted products. The results obtained by Soullier *et al.* (2002) in a simulation of runoff in a grassed strip at the experimental site of La Jaillière, France, confirm previous results at the same site (Patty, 1997) that infiltration is one of the main factors that contributes to the dissipation of pesticides from these zones. However, there is not much information on the function of other implicated mechanisms, such as retention in soil horizons through which runoff passes and biodegradation of the retained products. Also, the relative participation of each mechanism has still not been quantified. Therefore, the objective of this study was to characterize the capacity of different grassed strips and treed zones to eliminate the herbicide isoproturon, mainly in terms of its degradation. The behavior of isoproturon in the buffer zones was compared with that observed in soil of a farm plot, which was used as the check.

MATERIALS AND METHODS

Characteristics of the soils and pesticide studied

The soils used in the study were from the ARVALIS experimental site at La Jaillière, in western France. The experimental devices were grassed strips (BE), a treed zone (ZB) and cropped plots (PC). The BE made up of rye grass (*Lolium perenne*) have different lengths and were set up at the bottom of the farm plots (Patty *et al.*, 1997; Real *et al.*, 1997); in the cropped plots corn and wheat are rotated; and the ZB are mainly chestnuts. Samples were collected at different depths in order to differentiate the horizons affected by cultivation or by the installation of a permanent plant cover: 1) two organic topsoil horizons 0-2 and 2-19 cm of the ZB; 2) four depths (0.2, 2-13, 13-30, 30-60 cm) of the BE, on the basis of morphological color criteria related to the content of organic matter (OM), density and root depth; 3) from the PC, samples were collected from the cultivated horizon (0-30 cm) and from the underlying horizon (30-60 cm). The main characteristics of the soils studied are shown in Table 1.

The soils used are brown hydromorphs of silty-clay texture, 22% clay, 46% silt and 32% sand. The major difference among them is the content of OM, which is higher in the soil from BE and ZB. The top horizons of BE and ZB have a higher OM content and a more important presence of OM slightly humidified (high value of the indicator of the degree of OM evolution, C/N). The quantity of OM and the C/N value decrease classically with depth in the soils, particularly in those of BE.

Herbicide

Isoproturon (IPU) [3-(4-isopropylphenyl)-1, 1-dimethylurea] is a selective systemic herbicide of the family of the substituted

de trabajo (0-30 cm) y del horizonte subyacente (30-60 cm). Las principales características de los suelos estudiados se muestran en el Cuadro 1.

Los suelos utilizados son cafés hidromorfos de textura limoarcillosa, 22% arcilla, 46% limo y 32% arena. La diferencia más importante entre ellos es la MO que es más alta en los suelos de la BE y la ZB. Los horizontes superficiales de la BE y la ZB tienen el mayor contenido de MO y una presencia más importante de MO poco humificada (elevado valor del indicador del grado de evolución de la MO, C/N). La cantidad de MO y el valor de C/N disminuyen de manera clásica, con la profundidad de los suelos, particularmente los de la BE.

Herbicida

El isoproturon (IPU) [3-(4-isopropilfenil)-1, 1-dimetilurea], es un herbicida selectivo sistemático de la familia de las fenilureas sustituidas. El IPU es absorbido por las raíces y por las hojas e inhibe la fotosíntesis; se usa en los cultivos de trigo y cebada para el tratamiento pre y pos-cosecha de control de gramíneas anuales (Tomlin, 1994). A pesar de una persistencia relativamente débil en el suelo (vida media 12-32 d), el IPU se retiene poco en el suelo ($K_{oc}=120 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) por lo que puede migrar rápidamente hacia las aguas superficiales y subterráneas en un periodo relativamente corto después de su aplicación (Beck *et al.*, 1995). La molécula utilizada en este estudio fue el IPU uniformemente marcado al ^{14}C en el anillo bencénico; su pureza radioactiva es superior a 95% y la actividad específica de la fuente es $2660 \text{ Mbq mmol}^{-1}$ (Amersham, Les Ulis, Francia).

Estudio de la degradación

Incubación

El protocolo experimental se muestra en la Figura 1. Se agregó 1 mL de una solución acuosa de IPU ($0.66 \mu\text{g L}^{-1}$ y 8500 Bq mL^{-1}) a 5 g de suelo tamizado a 5 mm. Cada muestra se colocó en un bocal

phenylureas. IPU is absorbed by the roots and leaves and inhibits photosynthesis. It is used in wheat and barley in the pre- and post-harvest treatment for control of annual grasses (Tomlin, 1994). In spite of the relatively weak persistence in the soil (half-life 12-32 d), little IPU is retained in the soil ($K_{oc}=120 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$), and so it can migrate rapidly toward surface and groundwater in a relatively short time after application (Beck *et al.*, 1995). The molecule used in this study was IPU uniformly marked with ^{14}C in the benzene ring; its radioactive purity is above 95% and specific activity of the source is $2660 \text{ Mbq mmol}^{-1}$ (Amersham, Le Ulis, France).

Degradation study

Incubation

The experimental protocol is shown in Figure 1. One mL of an aqueous IPU solution ($0.66 \mu\text{g L}^{-1}$ and 8500 Bq mL^{-1}) was added to 5 g of soil sifted through a 5 mm mesh. Each sample was placed in a 500 mL hermetically sealed recipient in which a pillbox containing 5 mL of NaOH at 0.5M had been deposited in order to capture the CO_2 produced by soil respiration. The recipients were placed in an incubator at 18 °C. During incubation data were taken five times on days 0, 3, 7, 15, and 30, and on each date three samples were taken to quantify the IPU residue. Parallel to this, the NaOH solutions were replaced on days 1, 3, 7, 15, 22, and 30, to analyze their content of $^{14}\text{C-CO}_2$ and total CO_2 .

Extractions

Each sample was subjected to extraction with CaCl_2 0.01M and to three extractions with methanol. The soil samples were shaken at 23 ± 1 °C for 24 h with 10 mL of CaCl_2 or methanol. A 0.5 mL sample was taken from each extraction to quantify radioactivity. The aqueous and methanol extractions were recovered and conserved for the chromatographic analysis. The soil samples were immediately dried at room temperature, homogenized by grinding, and conserved to measure non-extractable radioactivity.

Cuadro 1. Principales características de los suelos estudiados.

Table 1. Main characteristics of the studied soils.

Dispositivo Profundidad (cm)	pH agua	C	N	C/N	Arena gruesa	Arena fina	Limo grueso	Limo fino	Arcilla
g kg ⁻¹					g kg ⁻¹				
Parcela de cultivo									
PC 0-30	6.4	14.3	1.4	9.9	332	104	151	204	209
PC 30-60	6.7	8.0	0.9	8.5	231	142	158	233	236
Barrera de hierba									
BE 0-2	6.1	37.8	3.3	11.5	184	132	195	239	250
BE 2-13	6.3	18.9	1.8	10.5	246	117	180	224	233
BE 13-30	6.6	13.9	1.5	9.3	253	123	172	224	228
BE 30-60	6.5	10.9	1.3	8.4	293	104	145	203	255
Zona de bosque									
ZB 0-2	5.3	71.1	4.2	16.9	182	92	216	281	228
ZB 2-10	5.0	52.4	3.5	14.8	178	97	212	297	216

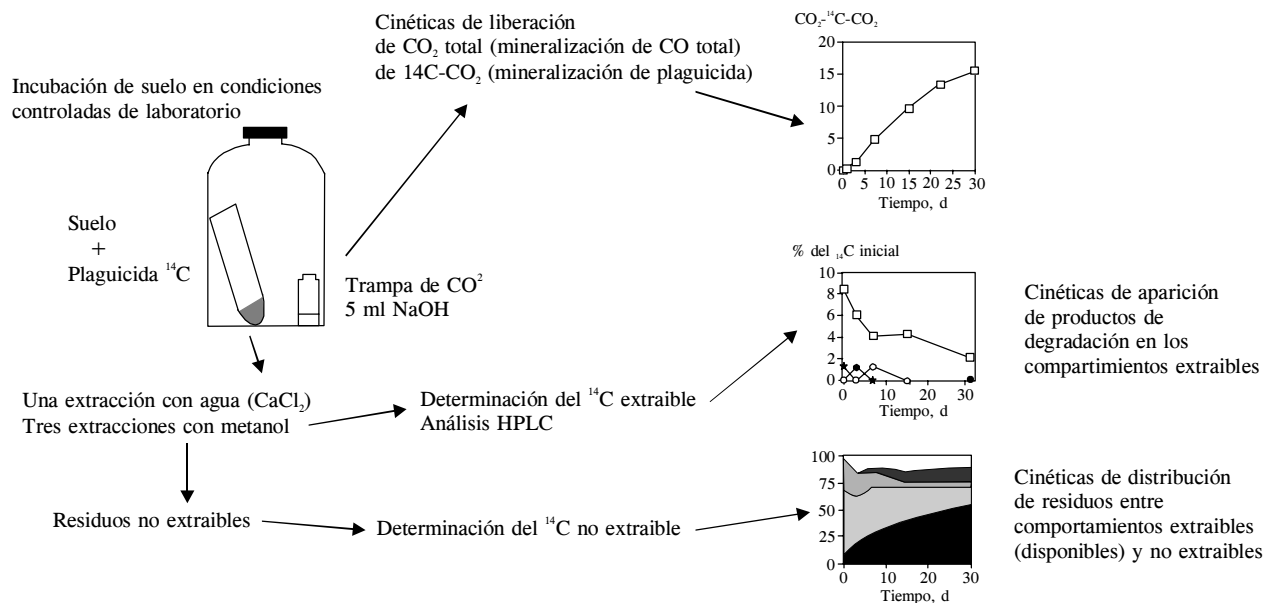


Figura 1. Protocolo experimental de incubación utilizado.
Figure 1. Experimental protocol of incubation used.

de 500 mL herméticamente cerrado, en el cual se había depositado un pildorero que contenía 5 mL de NaOH a 0.5M para capturar el CO_2 producto de la respiración del suelo. Los frascos se colocaron en una incubadora a 18 °C; durante la incubación se realizaron cinco levantamientos en los días 0, 3, 7, 15 y 30, y en cada fecha se tomaron tres muestras para cuantificar los residuos de IPU. Paralelamente, las soluciones de NaOH fueron reemplazadas en los días 1, 3, 7, 15, 22 y 30, para analizar su contenido de ^{14}C - CO_2 y CO_2 total.

Extracciones

Cada muestra fue sometida a una extracción con CaCl_2 0.01M y a tres extracciones con metanol. Las muestras de suelo se agitaron a 23 ± 1 °C, por 24 h con 10 mL de CaCl_2 o metanol, y en cada extracción se tomó una muestra de 0.5 mL para cuantificar la radioactividad. Los extractos acuosos y metanólicos se recuperaron y conservaron para el análisis cromatográfico. Las muestras de suelo fueron enseguida secadas a temperatura ambiente, homogeneizadas por molienda y conservadas para medir la radioactividad no extraíble.

Métodos de análisis

El contenido de CO_2 total recuperado en las trampas de NaOH se determinó usando un analizador colorimétrico de flujo continuo (Skalar, Breda). La radioactividad de ^{14}C - CO_2 producida por la mineralización del ciclo bencénico del IPU capturado en los 5 mL de NaOH, se midió con un contador de centelleo en medio líquido (Tri-carb 2100 TR. Packard Instrument). La radioactividad de las soluciones acuosas y metanólicas, y de los residuos de ^{14}C -IPU no

Methods of analysis

Content of total CO_2 recovered in the NaOH traps was determined using a continuous flow colorimeter analyzer (Skalar, Breda). Radioactivity of ^{14}C - CO_2 produced by mineralization of the IPU benzene cycle captured in the 5 mL of NaOH was measured with a scintillation counter in a liquid medium (Tri-carb 2100 TR, Packard Instrument) a liquid medium. Radioactivity of the aqueous and methanol solutions, and of the ^{14}C -IPU non-extractable residues, was determined in the same way. Analysis of the water and methanol extracts was performed with high performance liquid chromatography (HPLC Water).

RESULTS AND DISCUSSION

Characterization of overall microbial activity

The kinetics of total organic carbon (COT) mineralization enables comparison of the different soil samples from the perspective of the activity of its total microflora; the results are presented in Figure 2. Mineralization of COT is stronger in the topsoil horizons of the BE and ZB soils than in PC soils. This is due to the presence of fresh, easily assimilable OM (plant residues, root secretions) and to the presence of an abundant microbial biomass (effect of the rhizosphere) (Whitehead *et al.*, 1979; Merckx *et al.*, 1985).

The strong mineralization of organic carbon of the ZB soils is related to its higher content of total organic carbon (Figure 2), but this mineralization does not account for more than 0.9% of the COT in the 2-10 cm horizon. The OM contained in the 0-2 cm top horizon

extraíbles, se determinó de manera idéntica. El análisis de los extractos de agua y metanol se realizó con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC Water).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la actividad microbiana global

Las cinéticas de mineralización del carbono orgánico total (COT) permiten comparar las diferentes muestras de suelo desde el punto de vista de la actividad de su microflora total, y los resultados se presentan en la Figura 2. La mineralización del COT es más fuerte en los horizontes superficiales de los suelos de la BE y la ZB que en los de la PC. Esto se debe a la presencia de MO fresca fácilmente asimilable (residuos vegetales, secreciones de raíces) y a la presencia de una biomasa microbiana abundante (efecto de la rizósfera) (Whitehead *et al.*, 1979; Merckx *et al.*, 1985).

La fuerte mineralización del carbono orgánico de los suelos de la ZB está relacionada con su mayor contenido de carbono orgánico total (Figura 2), pero

of ZB is, therefore, more degradable because of the low degree of decomposition of the plant residues. Comparing the 2-13 cm horizon of BE and the 2-10 cm horizon of ZB, it is observed that the OM in the BE soil is more easily degradable.

For the three types of soil used, respiration decreases with depth (Figure 2). For BE soils there is a more progressive decrease in organic carbon mineralization since the proportion of mineralized carbon in the 2-13, 13-30 and 30-60 cm horizons is between 0.8 and 1.8% of the carbon present.

Isoproturon mineralization

Parallel to overall respiration, particularly important IPU mineralization was observed in the top horizons of BE and ZB (Figure 2) where on day 30 of incubation mineralization reached 13 to 16% of the IPU initially applied (Table 2). In the deeper horizons (30-60 cm) of BE and PC soils, the rates of IPU mineralization were 4 and 5% on day 30 of incubation (Table 2). Similar to that observed for total organic carbon mineralization, IPU mineralization decreases with depth

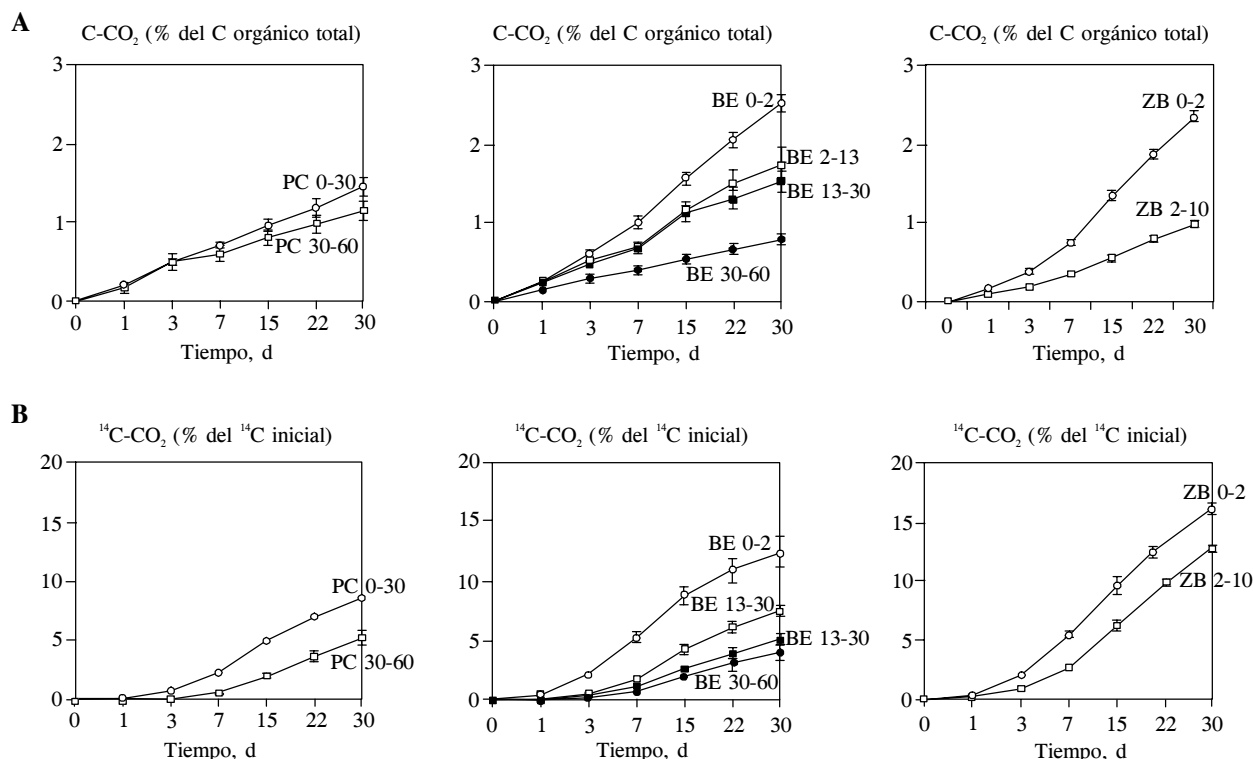


Figura 2. Cinéticas de mineralización del carbono orgánico total (A) y del ¹⁴C-isoproturon (B) en los diferentes horizontes de la parcela de cultivo (PC), la barrera de hierbas (BE) y la zona arbolada (ZB).

Figure 2. Kinetics of total organic carbon mineralization (A) and ¹⁴C-isoproturon (B) in different horizons of the cropped plot (PC), grassed strip (BE) and treed zone (ZB).

esta mineralización no representa más de 0.9% del COT en el horizonte 2-10 cm. La MO contenida en el horizonte superficial 0-2 cm de la ZB es por tanto más degradable a causa del débil grado de descomposición de los residuos vegetales. Comparando los horizontes 2-13 cm de la BE y 2-10 de la ZB, se observa que la MO en el suelo de la BE es más fácilmente degradable.

Para los tres tipos de uso de suelo, la respiración disminuye con la profundidad (Figura 2). Para los suelos de la BE hay una reducción más progresiva de la mineralización del carbono orgánico, ya que la proporción de carbono mineralizado en los horizontes 2-13, 13-30 y 30-60 cm es entre 0.8 y 1.8% del carbono presente.

Mineralización del isoproturon

Paralelamente a la respiración global, se observó una mineralización del IPU particularmente importante en los horizontes superficiales de la BE y la ZB (Figura 2), donde la mineralización fue 13 a 16% del IPU inicialmente aplicado al día 30 de incubación (Cuadro 2). En los horizontes más profundos (30-60 cm) de la BE y de la PC, las tasas de mineralización del IPU fueron 4 y 5% (Cuadro 2). De manera similar a lo observado para la mineralización del carbono orgánico total, la mineralización del IPU disminuye con la profundidad de todos los suelos. Esta reducción de la mineralización del IPU con la profundidad del suelo fue observada por Johnson *et al.* (1998) y Kristensen *et al.* (2001). Además, Larsen *et al.* (2000) constataron una disminución de la mineralización del IPU en sedimentos arenosos tomados a diferentes profundidades. En el presente estudio, la mineralización superior del carbono orgánico total y del IPU observadas en los horizontes superficiales de suelo, se explica por un mayor contenido de carbono orgánico, que mantiene una población microbiana más activa en comparación con la de los horizontes más profundos.

La comparación de las cinéticas mostró un desfase en el inicio de la incubación del IPU, particularmente en los horizontes profundos de los suelos de la BE y la ZB. En efecto, hubo una fase de latencia de 2 a 3 d en las cinéticas de mineralización del IPU que corresponde al crecimiento de las poblaciones microbianas específicas responsables de la degradación del compuesto (Kubiak *et al.*, 1995; Perrin-Ganier y Schiavon, 1995), pero no está presente en las cinéticas de mineralización del carbono orgánico total. A pesar de esta ligera diferencia en las cinéticas, hubo una relación general entre la actividad de la microflora total y la mineralización del IPU.

in all of the soils. This reduction in IPU mineralization with soil depth has been observed by Johnson *et al.* (1998) and Kristensen *et al.* (2001). Also, Larsen *et al.* (2000) found a reduction in IPU mineralization in sandy sediments taken at different depths. In our case, the higher mineralization of total organic carbon and of IPU observed in the topsoil horizons is explained by a higher content of organic carbon which supports a more active microbial population than in the deeper horizons.

Comparison of the kinetics showed a gap at the beginning of IPU incubation, particularly in the deep horizons of the BE and ZB soils. Indeed, there was a 2 to 3 d lag phase in the IPU mineralization kinetics which corresponds to growth of the microbial population specifically responsible for degrading the compound (Kubiak *et al.*, 1995; Perrin-Ganier and Schiavon, 1995), but is not present in the kinetics of total organic carbon mineralization. In spite of this slight difference in the kinetics, there was a general relationship between the activity of the total microflora and IPU mineralization.

Degradation of ¹⁴C-isoproturon and identification of its principal metabolites

The results of ¹⁴C-IPU degradation in the different soil horizons (Figures 3 and 4) show the distribution of IPU and its principal metabolites detected in the CaCl₂ and methanol extracts: monodimethyl-isoproturon, Isopropylanilin and didemethyl-isoproturon (Mudd *et al.*, 1983; Pantani *et al.*, 1997).

Monodimethyl-isoproturon

The main metabolite detected in the CaCl₂ and methanol extracts was monodimethyl-isoproturon, which

Cuadro 2. Porcentaje de carbono orgánico mineralizado (C-CO₂) y porcentaje del IPU mineralizado (¹⁴C-CO₂), al día 30 de incubación.

Table 2. Percentage of mineralized organic carbon (C-CO₂) and percentage of mineralized IPU (¹⁴C-CO₂) on day 30 of incubation.

Dispositivo Horizontes	C-CO ₂ % del C orgánico total	¹⁴ C - CO ₂ % del ¹⁴ C inicial
Parcela de cultivo		
PC 0-30	1.4 ± 0.1	6.5 ± 3.7
PC 30-60	1.1 ± 0.1	5.3 ± 0.8
Barrera de hierba		
BE 0-2	2.5 ± 0.1	12.7 ± 1.7
BE 2-13	1.8 ± 0.2	7.5 ± 0.5
BE 13-30	1.5 ± 0.1	5.2 ± 0.6
BE 30-60	0.8 ± 0.1	4.1 ± 1.0
Zona arbolada		
ZB 0-2	2.1 ± 0.1	15.6 ± 0.9
ZB 2-10	0.9 ± 0.0	12.9 ± 0.2

Degradación del ¹⁴C-isoproturon e identificación de sus principales metabolitos

Los resultados de la degradación del ¹⁴C-IPU en los diferentes horizontes de suelo (Figuras 3 y 4) muestran la repartición del IPU y de sus principales metabolitos detectados en los extractos de CaCl₂ y de metanol; monodimetil-isoproturon, isopropilammina y

is the principal metabolite of IPU in numerous soil types (Johnson *et al.*, 2000; Perrin-Ganier *et al.*, 2001). In the CaCl₂ extracts, monodimethyl-isoproturon generally appears between day 3 and day 7 of incubation in the topsoil horizons under the three types of use. After 15 d of incubation, this becomes the principal metabolite in the CaCl₂ extracts of the topsoil samples (0-2 cm) of the BE soils (67% of the extracted ¹⁴C). In

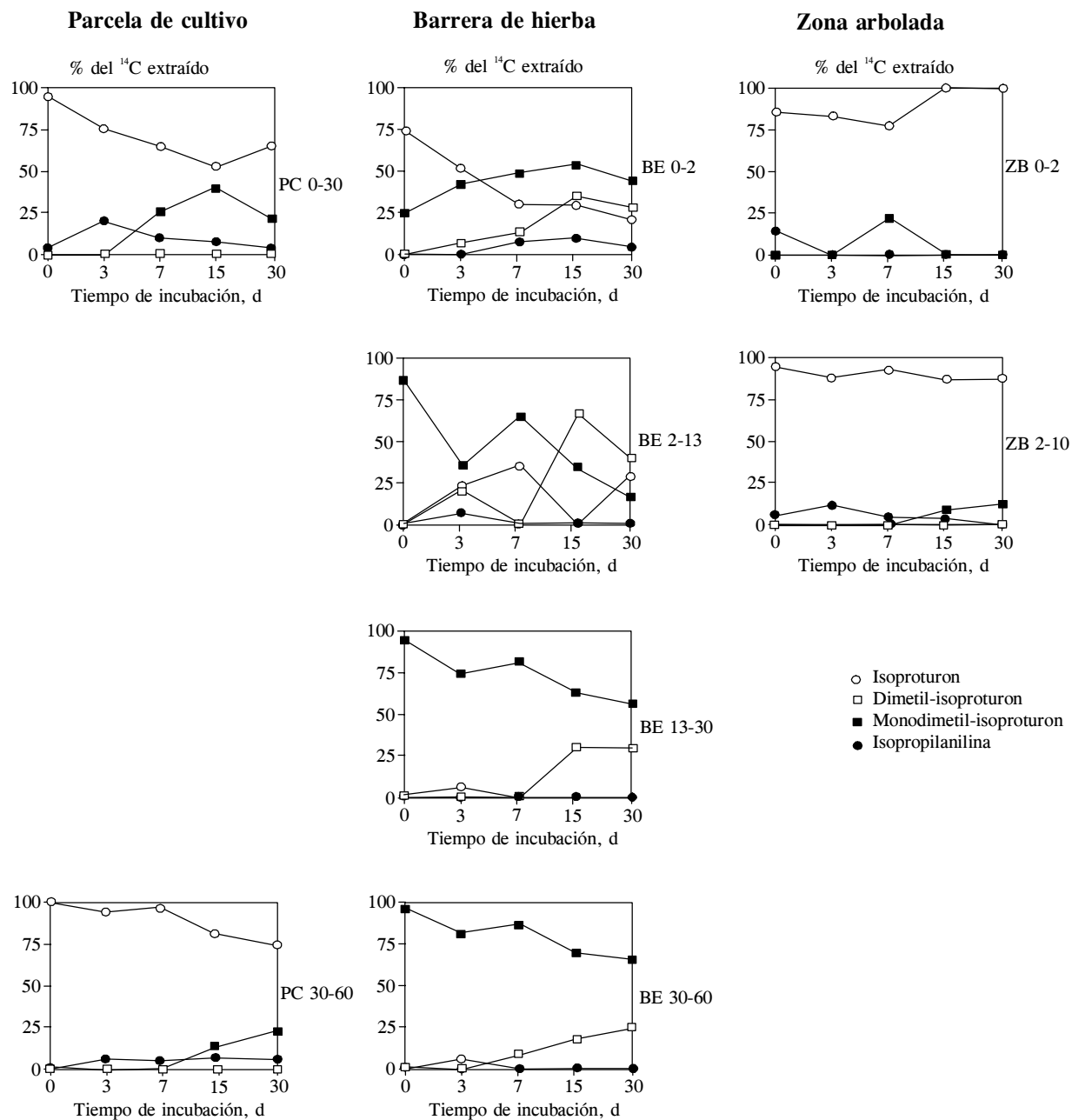


Figura 3. Cinéticas de distribución del IPU y de sus principales metabolitos en los extractos de CaCl₂ para los diferentes horizontes de suelo de la parcela de cultivo (PC), de la barrera de hierbas (BE) y de la zona arbolada (ZB).

Figure 3. Kinetics of distribution of IPU and its principal metabolites in CaCl₂ extracts for the different soil horizons from the cropped plot (PC), from the grassed strip (BE), and from the treed zone (ZB).

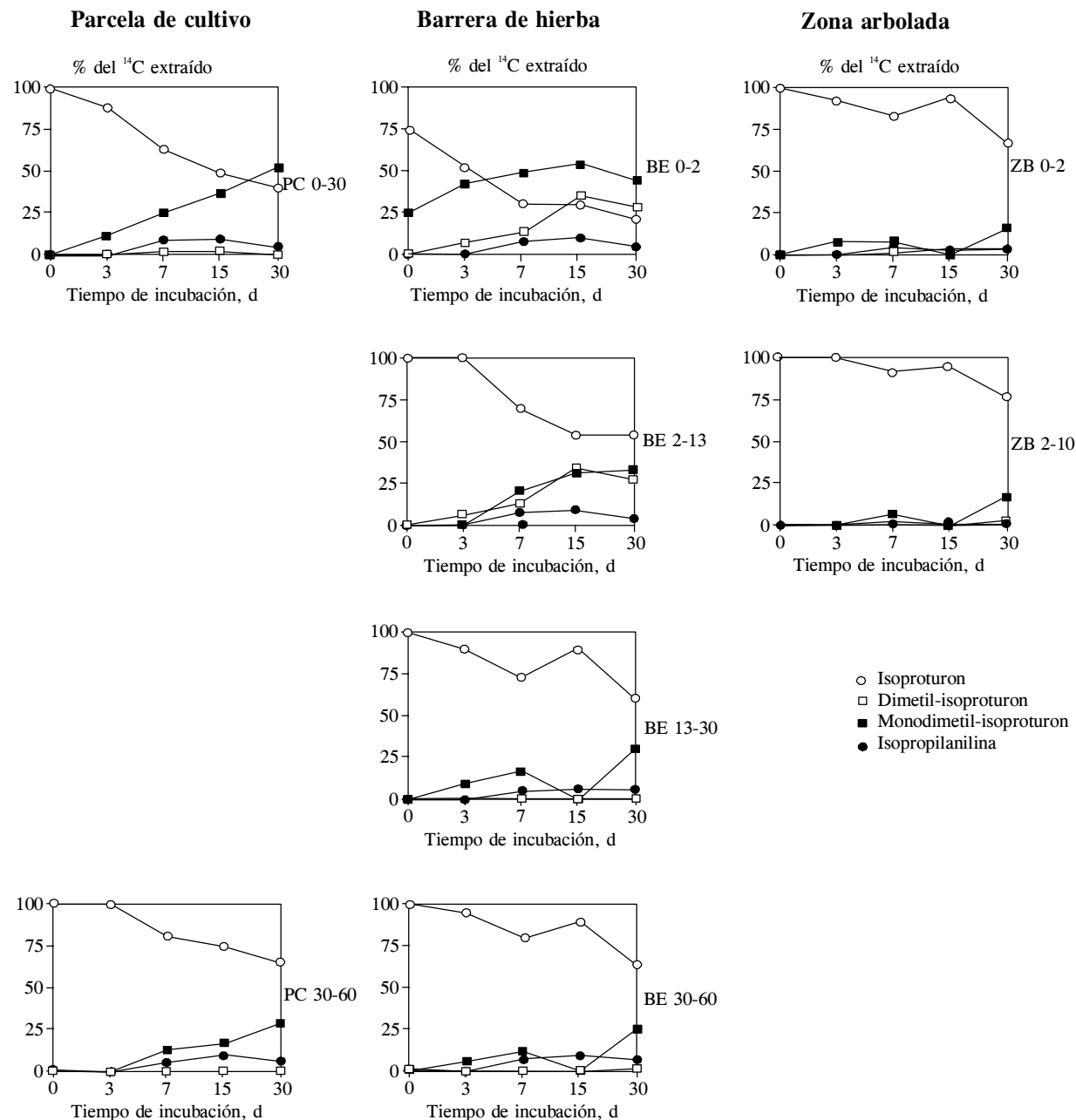


Figura 4. Cinéticas de distribución del IPU y de sus principales metabolitos en los extractos de metanol para los diferentes horizontes de suelo de la parcela de cultivo (PC), de la barrera de hierbas (BE) y de la zona arbolada (ZB).
Figure 4. Kinetics of distribution of IPU and its principal metabolites in methanol extracts for the different soil horizons from the cropped plot (PC), from the grassed strip (BE), and from the treed zone (ZB).

didimetil-isoproturon (Mudd *et al.*, 1983; Pantani *et al.*, 1997).

Monodimetil-isoproturon

El principal metabolito detectado en los extractos de CaCl₂ y de metanol es el monodimetil-isoproturon, que es el principal metabolito del IPU en numerosos

contrast, IPU is the main compound detected in the cultivated horizon (0-30 cm) of PC after 30 d of incubation (65% of the extracted ¹⁴C). In the PC soils the proportion of monodimethyl-isoproturon in the CaCl₂ extracts decreases with soil depth. Finally, in the top horizons (0.2 cm) of the ZB soils, IPU makes up the bulk of the CaCl₂ extracts. Indeed, monodimethyl-isoproturon does not peak above 1% of

tipos de suelos (Johnson *et al.*, 2000; Perrin-Ganier *et al.*, 2001). En los extractos de CaCl₂, el monodimetil-isoproturon aparece generalmente entre el día 3 y 7 de incubación en los horizontes superficiales de los tres tipos de uso de suelo. Después de 15 d de incubación, este metabolito llega a ser el principal en los extractos de CaCl₂ de las muestras superficiales (0-2 cm) de los suelos de la BE (67% del ¹⁴C extraído). Por el contrario, el IPU es el principal compuesto detectado en el horizonte de trabajo (0-30 cm) de la PC después de 30 d de incubación (65% del ¹⁴C extraído). En los suelos de la PC la proporción de monodimetil-isoproturon en los extractos de CaCl₂ disminuye con la profundidad de los mismos. Finalmente, en los horizontes superficiales (0-2 cm) de los suelos de la ZB, el IPU es mayoritario en los extractos de CaCl₂. En efecto, el monodimetil-isoproturon alcanza un máximo que no sobrepasa 1% del ¹⁴C inicial en las primeras semanas de incubación. En los extractos de metanol, el monodimetil-isoproturon aparece entre el día 3 y 7 de incubación pero en cantidades mayores que en los extractos de CaCl₂ (Figuras 3 y 4). Las proporciones más elevadas se observaron en los horizontes superficiales de la BE en el día 15 de incubación (55% del ¹⁴C extraído) y en el horizonte 0-30 cm de la PC al día 30 (52% del ¹⁴C extraído). En los horizontes superficiales de la ZB, este metabolito aparece en cantidades mucho más pequeñas y sólo al inicio de la incubación. Opuesto a los suelos de la BE y la ZB, las cantidades de monodimetil-isoproturon aumentan progresivamente en los horizontes de los suelos de la PC, para alcanzar el máximo al final de la incubación (Figura 3).

Isopropilánilina

El segundo metabolito detectado fue la isopropilánilina; en los extractos de CaCl₂ aparece durante la primera semana de incubación y los porcentajes más elevados estuvieron en los horizontes superficiales: BE 0-2, BE 2-13, ZB 0-2, ZB 2-10 y PC 0-30, representando 4 a 23% del ¹⁴C extraído (Figura 3). En los extractos de metanol, la isopropilánilina aparece generalmente hasta el día 7 de incubación, en ligera diferencia con lo observado en los extractos de CaCl₂. La máxima cantidad de isopropilánilina ocurrió en los días 7 y 15 de incubación y después disminuyó (Figura 4). Los niveles superficiales de los suelos de la PC, BE y ZB, presentan de nuevo los valores mayores que corresponde de 2 a 10% del ¹⁴C extraído.

Didimetil-isoproturon

Didimetil-isoproturon fue el tercer metabolito detectado. En los extractos de metanol aparece al día 3

the initial ¹⁴C in the first weeks of incubation. In the methanol extracts, monodimethyl-isoproturon appears between day 3 and day 7 of incubation, but in larger quantities than in the CaCl₂ extracts (Figures 3 and 4). The highest proportions were observed in the BE topsoil horizons on incubation day 15 (55% of the extracted ¹⁴C), and in the PC 0-30 cm horizon on day 30 (52% of the extracted ¹⁴C). In the ZB topsoil horizons, this metabolite appears in much smaller quantities and only at the beginning of incubation. Contrasting with the BE and ZB soils, the quantities of monodimethyl-isoproturon increase progressively in the horizons of the PC soils, peaking at the end of incubation (Figure 3).

Isopropilánilín

The second metabolite detected was isopropylanilin. In the CaCl₂ extracts it appears during the first week of incubation and the highest percentages were in the topsoil horizons: BE 0-2, BE 2-13, ZB 0-2, ZB 2-10, and PC 0-30, accounting for 4 to 23% of the extracted ¹⁴C (Figure 3). In the methanol extracts, isopropylanilin does not generally appear until day 7 of incubation, with slight differences from what was observed in the CaCl₂ extracts. The highest quantity of isopropylanilin occurred on days 7 and 15 of incubation; after that it decreased (Figure 4). The top layers of the PC, BE and ZB soils again exhibited the highest values, accounting for 2 to 10% of the extracted ¹⁴C.

Didimetil-isoproturon

Didemethyl-isoproturon was the third metabolite detected. In the methanol extracts it appears on day 3 of incubation in the BE 0-2 cm horizon (6% of the extracted ¹⁴C) and on day 7 in the PC 0-30 cm horizon. Didemethyl-isoproturon was not detected in the CaCl₂ extracts (Figure 3). Besides these three main metabolites, others were observed that appear sporadically in the CaCl₂ and methanol extracts, but these could not be identified with HPLC.

Summarizing, IPU degradation is much more intense in the topsoil horizons, and in particular in the first few centimeters of BE soils. This degradation was observed through the decrease in the proportion of IPU in the extracts and the concomitant appearance of metabolites such as monodimethyl-isoproturon and isopropylanilin. While degradation in the cultivated PC horizon (0-30 cm) is important, it is nevertheless slower and more progressive than that in the BE and ZB soils. The different levels of extraction of the two principal metabolites in CaCl₂ and methanol indicate that the metabolites formed during degradation are

de incubación en el horizonte 0-2 cm de la BE (6% del ^{14}C extraído) y al día 7 en el horizonte 0-30 cm de la PC. El didimetil-isoproturon no se detectó en los extractos de CaCl_2 (Figura 3). Aparte de estos tres principales metabolitos, se observaron otros que aparecen esporádicamente en los extractos de CaCl_2 y metanol, pero no fue posible identificarlos con el HPLC.

En resumen, la degradación del IPU es mucho más intensa en los horizontes superficiales y en particular en los primeros centímetros de los suelos de la BE. Esta degradación se observó a través de la disminución de la proporción de IPU en los extractos y de la aparición concomitante de metabolitos como el monodimetil-isoproturon y la isopropilaminilina. Si bien la degradación en el horizonte de trabajo (0-30 cm) de la PC es importante, es sin embargo más lenta y progresiva que la de la BE y la ZB. Los diferentes niveles de extracción en CaCl_2 y metanol de los dos principales metabolitos indican que los metabolitos formados durante la degradación son cada vez más retenidos por el suelo. Una diferencia bastante marcada aparece igualmente entre los horizontes superficiales de la BE y la ZB, con una degradación menos rápida en la ZB.

Disponibilidad del isoproturon y de sus residuos en el tiempo

La cuantificación de los residuos extraíbles del IPU permitió conocer la evolución de la extractabilidad de los residuos del IPU en el curso de las incubaciones. Los resultados (Figura 5) muestran una diferencia importante de comportamiento del IPU en los suelos de la PC y los de la BE y la ZB. En todos los casos, la extractibilidad de los residuos del IPU disminuye rápidamente en el tiempo, traduciendo una disminución rápida de la disponibilidad de estos residuos.

La reducción de la cantidad de residuos extraíbles en el CaCl_2 es tan rápida en los suelos superficiales (0-2 cm) de la BE como en el horizonte 0-30 cm de la PC. Después 30 d de incubación, la proporción de estos residuos extraíbles en el CaCl_2 es débil para todas las muestras superficiales. En una profundidad de 30-60 cm, la proporción de residuos extraíbles en el CaCl_2 representa entre 12 y 28% del ^{14}C inicial.

Las cantidades de residuos de ^{14}C -IPU extraídas con metanol disminuyen de manera menos rápida que los residuos extraídos con CaCl_2 en todos los suelos estudiados. La reducción más marcada concierne a los horizontes superficiales de los suelos de la BE y la PC. Después de 30 d, las proporciones de ^{14}C -IPU extraídas por el metanol no sobrepasan 15 y 17% del ^{14}C inicialmente aportado a los horizontes 0-2 cm de la BE y 0-30 cm de la PC, contra el 21% para el horizonte 0-2 cm de la ZB (Figura 5).

increasingly retained by the soil. A well-marked difference likewise appears between the topsoil horizons of BE and ZB, with slower degradation in ZB.

Availability of isoproturon and its residues over time

Quantification of the extractable IPU residues enabled observation of the evolution of extractable IPU residues during the course of the incubations. The results (Figure 5) show a major difference in behavior of IPU in PC from that in BE and ZB. In all of the cases, extractability of IPU residues decreases rapidly over time, translating into a rapid decrease in the availability of these residues.

The decrease in the quantity of extractable residues in CaCl_2 is as fast in the BE topsoils (0-2 cm) as in the PC 0-30 cm horizon. After 30 d of incubation, the proportion of these residues extractable in CaCl_2 is weak for all of the topsoil samples. At a depth of 30-60 cm, the proportion of residues extractable in CaCl_2 accounts for between 12 and 28% of the initial ^{14}C .

The quantities of residues of ^{14}C -IPU extracted with methanol decrease less rapidly than the residues extracted with CaCl_2 in all of the soils studied. The most marked reductions were observed in the top horizons of the BE and PC soils. After 30 d, the proportions of ^{14}C -IPU extracted by methanol did not exceed 15 and 17% of the ^{14}C initially supplied to the BE 0-2 cm and PC 0-30 cm horizons, compared with 21% in the ZB 0-2 cm horizon (Figure 5).

Kinetics of non-extractable residue formation-residue stabilization

Parallel to the decrease in extractability of the residues and to the mineralization of IPU, an increasing proportion of IPU residues is found in non-extractable form. For all of the soils studied, this proportion increases rapidly in the first few days of incubation (Figure 5). The reduction in residue extractability is more marked in the topsoil horizons, particularly those of BE and ZB. Comparing the top horizon (0-2 cm) of BE with that of ZB, however, a stronger trend to form non-extractable residues in the former is observed, a trend that likewise decreases with depth. The formation of non-extractable residues is more important in the upper 0-30 cm horizons of PC (64% of the initial ^{14}C) than in the 0-2 cm horizons of BE (49% of the initial ^{14}C) and ZB (47% of the initial ^{14}C). This result is surprising and contradicts those obtained previously in this La Jailleire site (Vidon, 1997).

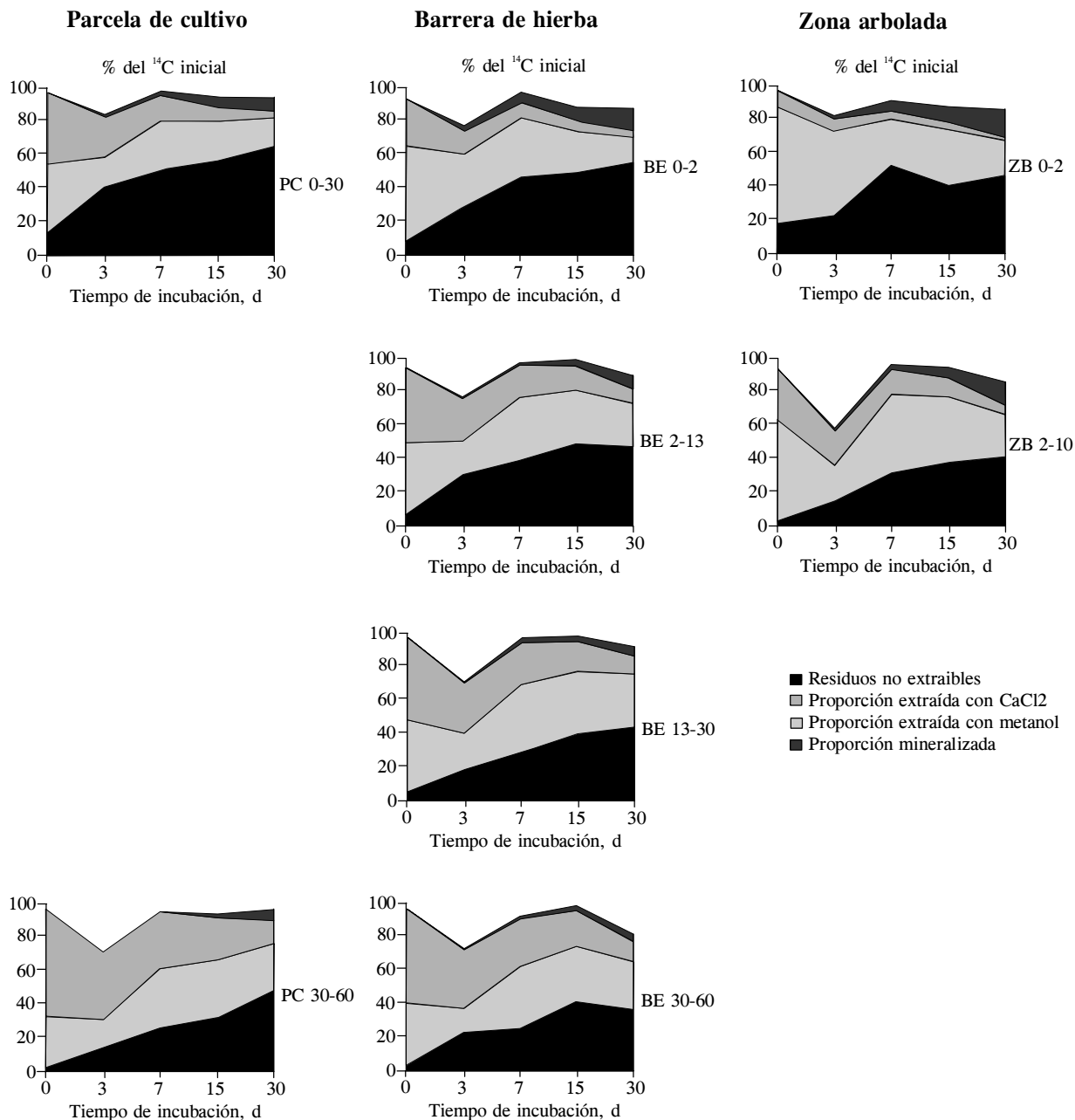


Figura 5. Cinéticas de distribución del ^{14}C entre los residuos mineralizados extraídos con CaCl_2 , extraídos con metanol y no extraíbles para los diferentes horizontes de la parcela de cultivo (PC), la barrera de hierbas (BE) y de la zona arbolada (ZB).
 Figure 5. Kinetics of distribution of ^{14}C among the mineralized residues extracted with CaCl_2 , extracted with methanol, and non-extractable residues for the different soil horizons from the cropped plot (PC), from the grassed strip (BE), and from the treed zone (ZB).

Cinéticas de formación de los residuos no extraíbles - estabilización de los residuos

De manera paralela a la disminución de la extractibilidad de los residuos y a la mineralización del IPU, una proporción creciente de residuos de IPU se encuentra en forma no extraíble. Para todos los suelos

CONCLUSIONS

IPU mineralization was especially important in the topsoils of BE and ZB. Under conditions of incubation, after 30 d this mineralization can reach as high as 16% of the IPU applied. There is also a relationship between the activity of microflora and IPU mineralization. For

estudiados, esta proporción aumenta rápidamente en los primeros días de incubación (Figura 5). La disminución de la extractibilidad de los residuos es más marcada en los horizontes superficiales de los suelos, particularmente en los de la BE y la ZB. La comparación de los horizontes superficiales (0-2 cm) de los suelos de la BE y la ZB muestra sin embargo una tendencia más fuerte a formar residuos no extraíbles para los primeros, tendencia que disminuye igualmente con la profundidad. La formación de residuos no extraíbles es más importante en los horizontes superficiales 0-30 cm de la PC (64% del ^{14}C inicial), que en los horizontes 0-2 cm de la BE (49% del ^{14}C inicial) y de la ZB (47% del ^{14}C inicial). Este resultado es sorprendente y contradictorio con los obtenidos anteriormente en este sitio de La Jaillière (Vidon, 1997).

CONCLUSIONES

La mineralización del IPU fue especialmente importante en los horizontes superficiales de suelos de la BE y la ZB. En las condiciones de incubación, esta mineralización puede alcanzar hasta 16% del IPU aplicado después de 30 d; además hay una relación entre la actividad de la microflora y la mineralización del IPU. Para los suelos de la BE y la ZB, ésto significa un potencial más fuerte de mineralización del IPU en los primeros centímetros de suelo. Hubo una reducción de la mineralización del IPU con la profundidad de la misma manera que disminuye la mineralización del carbono orgánico total.

La formación de residuos no extraíbles, es decir, poco disponibles, es particularmente importante en los horizontes donde la degradación es la más activa. Así, la estabilización de los residuos de IPU es máxima en la BE y netamente más importante que en los horizontes superficiales de la ZB. La ausencia de isopropilamina, en particular después de dos semanas de incubación, en los suelos donde la degradación es la más intensa, se podría explicar por una retención irreversible de este metabolito, a medida que se forma. Esta formación de residuos no extraíbles aparece como una de las principales vías de la disipación del IPU en los suelos con hierbas y arbolados así como en los suelos de la parcela de cultivo.

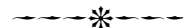
La disipación rápida del IPU en los suelos de la BE y la ZB indica una función de descontaminación interesante en comparación con un suelo agrícola, ya que la degradación y la mineralización del IPU aumentan. Sin embargo, el débil potencial de degradación de los horizontes 30-60 cm indica que la eficacia de los sistemas amortiguadores a través de los procesos de degradación y estabilización de los productos interesadas,

BE and ZB soils, this means a greater potential for IPU mineralization in the uppermost centimeters of soil. There was a decrease in IPU mineralization with depth in the same manner in which total organic carbon mineralization decreased.

The formation of non-extractable, or non-available, residues is particularly important in the horizons in which degradation is the most active. Thus, stabilization of the IPU residues is highest in BE and is, overall, more important in the topsoil horizons of ZB. The absence of isopropylamine, especially after two weeks of incubation, in soils where degradation is most intense could be explained by an irreversible retention of this metabolite in the measure that it is formed. This formation of non-extractable residues appears as one of the principal ways by which IPU dissipates in the soils of plant and tree barriers as well as in the soils of the farm plot.

Rapid dissipation of IPU in the BE and ZB soils indicates an interesting de-polluting function compared with agricultural soil since IPU degradation and mineralization increase. However, the weak degradation potential of the 30-60 cm horizons indicates that the effectiveness of the buffer systems through the processes of degradation and stabilization of the products of interest is much more important in the topsoil horizons.

—End of the English version—



es mucho más importante en los horizontes superficiales de suelo.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se realizó dentro del marco de cooperación ECOS-NORD (Acción M01A03) entre en la *Unité Mixte de Recherche INRA-INA-PG "Environnement et Grandes Cultures"* y el Centro de Investigación en Biotecnología (CIEB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM). Los autores agradecen al Comité ECOS por su apoyo financiero.

LITERATURA CITADA

- Beck A. J., V. Lam, D. E. Henderson, K. J. Beven, G. L. Harris, K. R. Howse, A. E. Johnston, and K. C. Jones. 1995. Movement of water and the herbicides atrazine and isoproturon through a large structured clay soil core. *J. Contam. Hydrol.* 19:237-260.
- Johnson A. C., C. D. Hughes, R. J. Williams, and P. J. Chilton. 1998. Potential for aerobic isoproturon biodegradation and sorption in the unsaturated and saturated zones of a chalk aquifers. *J. Cont. Hydrol.* 30: 281-297.
- Johnson A. C., C. White, and C. L. Bhardwaj. 2000. Potential for isoproturon, atrazine, and mecoprop to be degraded within a chalk aquifer system. *J. Cont. Hydrol.* 44: 1-18.

- Kristensen G. B., S. R. Sorensen, and J. Aamand. 2001. Mineralisation of 2,4-D, mecoprop, isoproturon and terbutylazine in a chalk aquifer. *Pest. Manag. Sci.* 57: 531-536.
- Kubiak R., H. Ellssel, M. Lambert, and K. W. Eichhorn. 1995. Degradation of isoproturon in soil in relation to changes of microbial biomass and activity in small-scale laboratory and outdoors studies. *Int. J. Anal. Chem.* 59: 123-132.
- Larsen L., S. R. Sorensen, and J. Aamand. 2000. Mecoprop, isoproturon, and atrazine in and above a sandy aquifer: vertical distribution of mineralisation potential. *Environ. Sci. Technol.* 34: 2426-2430.
- Merckx R., and J. Den Hartog, Van Veen. 1985. Turnover of root-derived material and related biomass formation in soils of different texture. *Soil Biol. Biochem.* 17: 565-569.
- Mudd P. J., R-J. Hance, and S. Wright. 1983. The persistence and metabolism of isoproturon in soil. *Weed Res.* 23: 239-246.
- Pantani O. L., S. Dousset, M. Schiavon, and P. Fusi. 1997. Adsorption of isoproturon on homoionic clays. *Chemosphere* 35: 2619-2626.
- Patty L. 1997. Limitation du transfert par ruissellement vers les eaux superficielles de deux herbicides (isoproturon et diflufenicanil). *Méthodologie analytique et étude de l'efficacité des bandes enherbées*. Thèse de Doctorat de l'Université Joseph-Fourier Grenoble, France. 217 p.
- Patty L., B. Réal, and J. Gril. 1997. The use of grassed buffer strips to remove pesticides, nitrate and soluble phosphorus compounds from runoff water. *Pestic. Sci.* 49: 243-251.
- Perrin-Ganier C., and M. Schiavon. 1995. Dégradation de l'isoproturon et disponibilité de ses résidus dans le sol. *Weed Res.* 35: 257-263.
- Perrin-Ganier C., F. Schiavon, J. L. Morel, and M. Schiavon. 2001. Effect of sludge-amendment of nutrient addition on the biodegradation of the herbicide isoproturon in soil. *Chemosphere* 44: 887-892.
- Real B., L. Patty, and E. Masson. 1997. Bandes enherbées: un frein au ruissellement des produits phytos. *Perspectives Agric.* 221: 40-43.
- Souiller C., Y. Coquet Y., V. Pot, P. Benoit, B. Réal, C. Margoum, B. Laillet, C. Labat, P. Vachier, and A. Dutertre. 2002. Dissipation des produits phytosanitaires à travers un dispositif enherbé: mise en évidence des processus mis en jeu par simulation de ruissellement et infiltrométrie (Capacités de stockage et d'épuration des sols de dispositifs enherbés vis-à-vis des produits phytosanitaires. *Parie 1*). *Étude et Gestion des Sols.* 9:4, 269-285.
- Tomlin, C. 1994. *The Pesticide Manual (A world compendium)*, 10th ed. Crop Protection Publications. 1341 p.
- Whitehead D., H. Buchan H., and R. Hartley. 1979. Composition and decomposition of roots of ryegrass and red clover. *Soil Biol. Biochem.* 11:619-628.