

ARTYKUŁ ORYGINALNY

Wpływ mikroorganizmów i olejku tatarakowego (*Acorus calamus* L.) na zachowanie izofetamidu w sałacie (*Lactuca sativa* L.)

The influence of microorganisms and calamus oil (*Acorus calamus* L.) on the behavior of isofetamid in lettuce (*Lactuca sativa* L.)

Weronika Piątek*

Streszczenie

Celem badania było określenie wpływu czynników biologicznych – mikroorganizmów (bakterii *Pseudomonas* spp. i drożdży *Saccharomyces cerevisiae*) oraz tatarakowego olejku eterycznego (*Acorus calamus* L.), stosowanych łącznie lub oddzielnie, na zachowanie się izofetamidu w sałacie (*Lactuca sativa* L.). Sałatę poddano działaniu fungicydu zawierającego izofetamid (3,6 mg/roślina), a po upływie 2 godzin przeprowadzono zabiegi: wariant 1 – olejek tatarakowy (12%), wariant 2 – olejek tatarakowy (12%) + *Pseudomonas* (10^6 jtk/ml), wariant 3 – olejek tatarakowy (12%) + *Saccharomyces cerevisiae* (10^6 jtk/ml). Grupę kontrolną stanowiły rośliny sałaty poddane jedynie działaniu izofetamidu. Po aplikacji izofetamidu, oznaczono jego stężenie za pomocą chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) i wyznaczono dynamiki zanikania tego związku w liściach sałaty. Analiza wykładniczych modeli rozkładu potwierdziła wpływ czynników biologicznych na tempo degradacji izofetamidu, przy wysokim dopasowaniu danych ($R^2 = 0,8629\text{--}0,9749$). W kontroli czas połowicznego rozkładu izofetamidu wyniósł $DT_{50} = 13,2$ dnia. Najszybszy rozkład obserwowano w wariacie łączącym olejek tatarakowy z *Pseudomonas* ($DT_{50} = 7,4$ dnia). Wyniki badań wskazują, że czynniki biologiczne stosowane łącznie z izofetamidem wpływają na zachowanie izofetamidu w liściach sałaty.

Słowa kluczowe: sałata, mikroorganizmy, fungicyd, olejek tatarakowy, degradacja izofetamidu

Abstract

The aim of the study was to determine the effect of biological factors – microorganisms (*Pseudomonas* spp. and *Saccharomyces cerevisiae*) and calamus essential oil (*Acorus calamus* L.), used combined or separately, on the behavior of isofetamid in lettuce (*Lactuca sativa* L.). The lettuce was exposed to fungicide containing isofetamid (3.6 mg/plant), and after 2 hours, the following treatments were carried out: variant 1 – calamus oil (12%), variant 2 – calamus oil (12%) + *Pseudomonas* (10^6 CFU/ml), variant 3 – calamus oil (12%) + *Saccharomyces cerevisiae* (10^6 CFU/ml). The control group included lettuce plants treated only with isofetamid. After the application of isofetamid, its concentration was determined by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) the dynamics of the compound's loss in lettuce leaves were determined. Analysis of exponential degradation models confirmed the influence of biological factors on the rate of isofetamid degradation, with a high data fit ($R^2 = 0.8629\text{--}0.9749$). In the control group, the half-life of isofetamid was $DT_{50} = 13.2$ days. The fastest degradation was observed in the variant combining calamus oil with *Pseudomonas* ($DT_{50} = 7.4$ days). The results of the study indicate that biological agents used in combination with isofetamid affect the behavior of the isofetamid in lettuce leaves.

Keywords: lettuce, microorganisms, fungicide, calamus essential oil, isofetamid degradation

Wstęp / Introduction

Salata (*Lactuca sativa* L.) jest jednym z najbardziej popularnych warzyw liściastych spożywanych na całym świecie. Stanowi źródło wielu składników odżywczych, takich jak błonnik pokarmowy, żelazo, kwas foliowy oraz witaminy z grupy B oraz A, C i K (Yang i wsp. 2022; Cignola i wsp. 2024). Ponadto zawiera liczne związki bioaktywne, takie jak polifenole (np. kwas kawowy, kwas chlorogenowy), karotenoidy (β -karoten, luteina), chlorofil oraz laktony seskwiterpenowe, które wykazują działanie przeciwutleniające, przeciwzapalne i wspomagające funkcjonowanie układu krążenia (Yang i wsp. 2022).

W nowoczesnym rolnictwie szczególną uwagę zwraca się na innowacyjne substancje czynne (s.c.z.), które łączą wysoką skuteczność z selektywnym działaniem wobec patogenów. Przykładem jest zarejestrowany w 2014 roku w Kanadzie związek izofetamid, wykazujący działanie fungistatyczne (Nishimi i wsp. 2024). Substancja ta należy do inhibitorów dehydrogenazy bursztynianowej (SDHI), które zakłócają proces oddychania komórkowego patogenów poprzez hamowanie enzymów kompleksu II łańcucha oddechowego (Zhou i wsp. 2024). Izofetamid znalazł zastosowanie w ochronie wielu upraw warzywnych, w tym sałaty. Jest skuteczny wobec patogenów z gromady workowców (*Ascomycota*), powodujących choroby, takie jak: szara pleśń (*Botrytis cinerea*), mączniak prawdziwy (*Erysiphe cichoracearum*), parch jabłoni (*Venturia inaequalis*), fuzarioza (*Fusarium* spp.) (Nishimi i wsp. 2024).

Nadmierne i długotrwałe stosowanie agrochemikaliów stanowi istotne zagrożenie dla środowiska naturalnego (Yin i wsp. 2023; Sarker i wsp. 2024; Elumalai i wsp. 2025; Parven i wsp. 2025). W związku z tym rośnie zainteresowanie alternatywnymi, naturalnymi metodami ochrony roślin, takimi jak biopreparaty, cechującymi się zwiększonym bezpieczeństwem dla agroekosystemów. Biopreparaty jako biologiczne środki ochrony roślin (ś.o.r.) mogą zawierać żywe mikroorganizmy (np. bakterie, grzyby) lub substancje pochodzenia biologicznego (np. olejki eteryczne), które wspomagają naturalne mechanizmy odporności roślin oraz ograniczają rozwój patogenów. Zdolność do degradacji ś.o.r. u bakterii i drożdży wynika z ich szerokich możliwości metabolicznych i zróżnicowanych szlaków katabolicznych (Gilani i wsp. 2016). Wykazano, że bakterie *Pseudomonas* spp. mogą wspomagać rozkład chloropirifosu (Gilani i wsp. 2016), glifosatu (Kaczyński i wsp. 2020), sulfosulfuronu (Łozowicka i wsp. 2021), izofetamidu (Wydro i wsp. 2024) oraz diflufenikanu (Książek-Trela i wsp. 2025) w glebie. Natomiast drożdże, dzięki zdolności do produkcji enzymów, sorpcji zanieczyszczeń oraz wykorzystywania niektórych związków chemicznych – jak bifentryna – jako jedynego źródła węgla, mogą aktywnie uczestniczyć w ich biodegradacji (Chen i wsp. 2012).

Preparaty na bazie substancji naturalnych, takich jak olejki eteryczne, stanowią innowacyjne rozwiązanie w rolnictwie. Dowiedzono, że olejek tymiankowy (*Thymus vulgaris* L.) wykazuje silne działanie przeciwwgrzybicze wobec *Fusarium* spp. (Qi i wsp. 2023), natomiast olejki neem (margosa; *Azadirachta indica*), eukaliptusowy (*Eucalyptus camaldulensis*) i laurowy (*Laurus nobilis* L.) mają właściwości owadobójcze względem mszycy ogórkowej (*Aphis gossypii*) (Ebrahimi i wsp. 2013). Olejek eteryczny z kłaczy tataraku zwyczajnego (*Acorus calamus* L.), dzięki swoim wielokierunkowym właściwościom, w tym działaniu przeciwbakteryjnemu i przeciwwgrzybicznemu (Miao i wsp. 2016), jest obiecującym rozwiązaniem do zastosowań w praktyce rolniczej, zarówno jako naturalny fungicyd, jak i środek wspomagający biodegradację pozostałości ś.o.r. Dodatkowo, olejek tatarakowy wykazuje właściwości konserwujące i odstraszaające owady (de Carvalho Brito i wsp. 2022; Wijerathna i wsp. 2023) oraz charakteryzuje się potencjałem bioherbicydowym (Wróblewski i wsp. 2025). Jednak brak jest badań dotyczących wpływu olejków eterycznych na zanikanie ś.o.r., co podkreśla nowatorski charakter tej pracy.

Zgodnie z europejskimi tendencjami zmierzającymi do ograniczania chemizacji rolnictwa poszukuje się alternatywnych rozwiązań w ochronie roślin. Zastosowanie komponentów biologicznych w połączeniu z pestycydami może być zasadne ze względu na ich potencjalny wpływ na tempo degradacji s.c.z., co jest istotne z punktu widzenia wyznaczania okresów karencji. Takie podejście może także wspierać rozwój zrównoważonych strategii ochrony roślin, łącząc skuteczność chemiczną z elementami biologicznymi.

Celem niniejszej pracy była ocena wpływu czynników biologicznych – bakterii *Pseudomonas* spp. i drożdży *Saccharomyces cerevisiae* oraz tatarakowego olejku eterycznego (*A. calamus*), stosowanych łącznie lub oddzielnie w roślinach sałaty (*L. sativa*) poprzez wyznaczenie czasu rozkładu izofetamidu potrzebnego do degradacji 50%, 90% i 99% początkowego depozytu tego związku.

Materiały i metody / Materials and methods

Doświadczenie przeprowadzono w warunkach kontrolowanych komory fitotronowej (Pol-Eko KK 1450 TCP+), a szczegóły eksperymentu opisano we wcześniejszej pracy (Iwaniuk i Łozowicka 2022). Na tacach o wymiarach 40 × 60 cm wysiano 200 nasion sałaty. Po osiągnięciu fazy 3 liścia (BBCH 13), rośliny zostały przesadzone do donic (10 × 10 cm) wypełnionych glebą o następujących parametrach: 0,5 mg/g P_2O_5 , 0,061 mg/g K_2O , 0,084 mg/g Mg, pH 7,2. Donice umieszczono na półkach fitotronu w odstępach 20 cm, w następujących warunkach: temperatura 16/12°C (dzień/noc), fotoperiod 12/12 godzin (dzień/

noc), średnia wilgotność 60%. Łącznie przygotowano 120 donic. Wszystkie rośliny podlewano dwa razy w tygodniu, po 100 ml wody na donicę.

W fazie BBCH 43 rośliny poddano działaniu fungicydu Kenja 400 SC (400 g/l s.c. w stężeniu 36,36%), zgodnie z etykietą ś.o.r. Środek w dawce 1,0 l/ha zaaplikowano przy użyciu plecakowego opryskiwacza pneumatycznego z dwoma dyszami (XR Tee Jet 110 02 XR) przy wydajności cieczy 100 l/ha. Po upływie dwóch godzin, rośliny rozdzielono losowo na cztery grupy po 15 sztuk, wyodrębniając kontrolę (K) oraz trzy warianty doświadczenia (W1, W2, W3). Kontrolę stanowiły rośliny sałaty poddane jedynie działaniu izofetamidu. Na roślinach z wariantu W1 zaaplikowano zemulgowany roztwór olejku tatarakowego w wodzie (12%), W2 – zemulgowany roztwór olejku tatarakowego w wodzie (12%) oraz zawiesinę bakterii *Pseudomonas* w pożywce płynnej King B (10^6 jtk/ml), natomiast w W3 – zemulgowany roztwór olejku tatarakowego w wodzie (12%) oraz zawiesinę drożdży *S. cerevisiae* w pożywce YPD (10^6 jtk/ml).

Z losowo wybranych trzech roślin z kontroli i każdego wariantu pobierano podpróbki liści po 24 godzinach (D1) oraz po 3 (D3), 6 (D6), 8 (D8), 11 (D11), 14 (D14), 17 (D17), 20 (D20), 23 (D23) i 26 (D26) dniach od aplikacji mikroorganizmów i olejku tatarakowego. Podpróbki oczyszczano z resztek gleby, łączono aby uzyskać próbki reprezentatywne dla każdego terminu pobierania i wariantu, a następnie homogenizowano. Do czasu analizy próbki przechowywano w zamkniętych pojemnikach w temperaturze -20°C .

Izofetamid ekstrahowano z próbek sałaty zgodnie z wcześniej opracowaną metodą (Kaczyński i wsp. 2024). Z każdej próbki liści sałaty przygotowano naważkę o masie 10 g, umieszczając ją w probówkach polipropylenowych o pojemności 50 ml. Następnie dodano 100 μl roztworu wzorca wewnętrznego izoproturonu- d_6 (0,5 $\mu\text{g/ml}$) oraz 10 ml 1% kwasu mrówkowego w acetonitrylu. Całość energicznie wytrząsano 1 minutę, po czym dodano mieszaninę soli buforującej składającą się z 4 g MgSO_4 (bezwodny siarczan magnezu), 1 g NaCl (chlorek sodu), 1 g $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (uwodniony cytrynian trisodu) oraz 0,5 g $\text{Na}_2\text{HC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}$ (uwodniony wodorocytrynian disodu). Mieszaninę ponownie wytrząsano przez 1 minutę, a następnie wirowano przez 5 minut z prędkością 4500 obr./min. Po wirowaniu, 6 ml ekstraktu przeniesiono do 15 ml probówek polipropylenowych, po czym oczyszczono metodą dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej (d-SPE – dispersive solid phase extraction). W tym celu zastosowano mieszaninę zawierającą 150 mg MgSO_4 , 25 mg PSA (pierwszodrugorzędowa amina – primary-secondary amine) oraz 2,5 mg GCB (czarny węgiel grafityzowany – graphitized carbon black). Całość wytrząsano, po czym odwirowano, oddzielając warstwę organiczną, którą przefiltrowano przez filtr strzykawkowy PTFE o średnicy porów 0,45 μm , a następnie przeniesiono do fiolek chromatograficznych.

Oznaczenie ilościowe izofetamidu przeprowadzono techniką chromatografii cieczowej sprzężonej z tandemową

spektrometrią mas (LC-MS/MS; Eksigent Ultra LC-100, Eksigent Technologies, Dublin, Kalifornia, USA, sprzężony z systemem 6500 QTRAP AB, Sciex Instruments, Foster City, Kalifornia, USA). Separację analitu przeprowadzono na kolumnie Kinetex C18, utrzymywanej w temperaturze 40°C . Objętość wstrzykiwanej próbki wynosiła 10 μl . Faza ruchoma składała się z 0,5% roztworu kwasu mrówkowego z dodatkiem 2 mmol mrówczanu amonu w wodzie (faza A) i metanolu (faza B). Elucję gradientową przeprowadzono przy natężeniu przepływu fazy ruchomej 0,50 ml/min. Proces jonizacji przeprowadzono za pomocą elektrorozpraszania (ESI – electro spray ionization) w trybie tworzenia jonów dodatnich, przy następujących parametrach: napięcie przyłożone do igły 5000 V, temperatura źródła 400°C , ciśnienie gazów: wspomagającego rozpylania 60 psi, pomocniczego 50 psi, osłonowego 30 psi. Jako gaz rozpraszający i kolizyjny wykorzystano azot.

Walidację metody przeprowadzono w oparciu o kryteria określone w przewodniku Komisji Europejskiej SANTE (SANTE/11312/2021), wyznaczając następujące parametry: odzysk, liniowość, precyzję, granicę oznaczalności (LOQ – limit of quantification) oraz wykrywalności (LOD – limit of detection). Liniowość oceniano na podstawie pięciu poziomów wzbogacania (0,001–1,0 $\mu\text{g/ml}$) przygotowanych w ekstraktach matrycowych. Precyzję określano jako względne odchylenie standardowe (RSD% – relative standard deviation) dla każdego poziomu wzbogacania. Granicę oznaczalności (LOQ) ustalono jako najniższe stężenie, przy którym odzysk wynosił 70–120%, a $\text{RSD} \leq 20\%$. Granicę wykrywalności (LOD) określono na podstawie stosunku sygnału do szumu ($\text{S/N} = 3$).

Na podstawie pomiarów stężenia substancji w funkcji czasu sporządzono krzywe rozkładu. Zastosowano oprogramowanie statystyczne umożliwiające dobranie równań z najwyższym współczynnikiem determinacji R^2 . Najlepsze dopasowanie uzyskano dla modelu reakcji pierwszego rzędu. Zanikanie izofetamidu w sałacie opisano równaniem, które uwzględnia początkowy depozyt tej substancji w liściach sałaty oraz jej stężenie końcowe. Obliczono czas połowicznego zaniku DT_{50} oraz czasy potrzebne do spadku stężenia izofetamidu do poziomów 10% (DT_{90}) i 1% (DT_{99}) wartości początkowej.

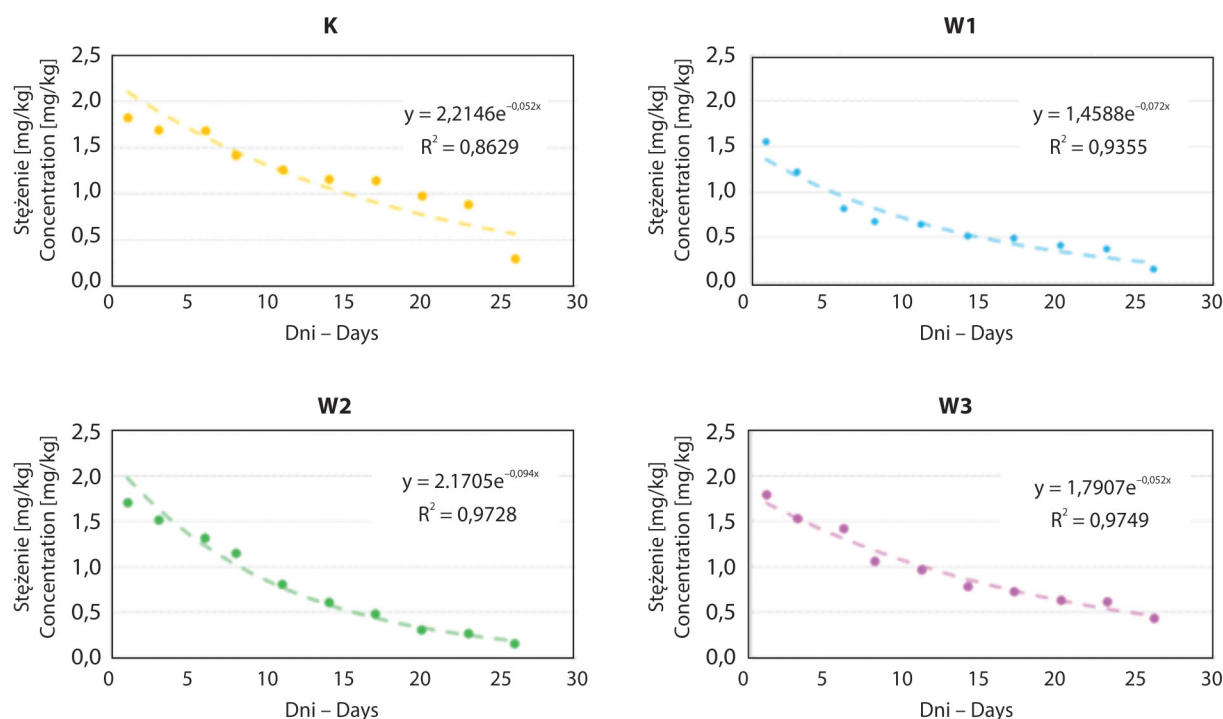
Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Opracowana metoda do oznaczania izofetamidu wykazała zadowalające parametry walidacyjne. Krzywe kalibracyjne wykazywały wysoką liniowość w zakresie 0,001–1,0 mg/kg, z wartościami współczynnika determinacji $R^2 > 0,998$ dla wszystkich wariantów. Precyzja, wyrażona jako względne odchylenie standardowe (RSD%), mieściła się w przedziale od 2,3% do 9,6%. Granica oznaczalności LOQ została określona na poziomie 0,005 mg/kg, natomiast granica wykrywalności LOD wynosiła 0,0008 mg/kg. Od-

zysk izofetamidu przy poziomie wzbogacenia 0,005 mg/kg mieścił się w akceptowalnym zakresie i wynosił odpowiednio 94,1%, 88,3%, 91,7% i 96,6% dla W1, W2, W3 oraz K.

Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowane czynniki biologiczne wpływały na zanikanie izofetamidu w sałacie. Już w pierwszych dniach doświadczenia obserwowano wyraźny spadek stężenia fungicydu, a tempo degradacji różniło się w zależności od wariantu zabiegów (rys. 1). W wariantcie z olejkiem tatarakowym (W1) odnotowano stężenie izofetamidu wynoszące 0,82 mg/kg po 6 dniach (D6) i 0,52 mg/kg po 14 dniach (D14). Jedno-

czesna obecność mikroorganizmów i olejku eterycznego powodowała także szybszą degradację izofetamidu w porównaniu do grupy kontrolnej – w wariantcie W2 stężenie wynosiło 1,32 mg/kg w D6, a 0,61 mg/kg w D14, natomiast w W3 odpowiednio 1,42 mg/kg i 0,79 mg/kg, w K – 1,69 mg/kg oraz 1,16 mg/kg. Stężenia izofetamidu w sałacie w ostatnim dniu eksperymentu (D26) wynosiły 0,30 mg/kg, 0,15 mg/kg, 0,16 mg/kg oraz 0,44 mg/kg odpowiednio dla K, W1, W2 i W3, co odpowiada redukcji izofetamidu w stosunku do stężenia początkowego o 83,5%, 90,1%, 90,6% oraz 59,1% (tab. 1).



Rys. 1. Zmiany stężenia izofetamidu w sałacie w czasie oraz modele jego zanikania w wariantach doświadczenia (K – kontrola, W1 – olejek tatarakowy, W2 – olejek tatarakowy + *Pseudomonas*, W3 – olejek tatarakowy + *Saccharomyces cerevisiae*)

Fig. 1. Changes in the concentration of isofetamid in lettuce over time and patterns of its disappearance in individual variants (K – control, W1 – calamus oil, W2 – calamus oil + *Pseudomonas*, W3 – calamus oil + *Saccharomyces cerevisiae*)

Tabela 1. Degradacja izofetamidu w kolejnych dniach eksperymentu

Table 1. Isofetamid degradation on subsequent days of the experiment

Wariant eksperymentu Experiment variant	Degradacja – Degradation [%]									
	D1	D3	D6	D8	D11	D14	D17	D20	D23	D26
K	–	7,3	7,6	22,1	31,0	36,4	37,1	46,2	51,3	83,5
W1	–	21,3	47,4	56,6	58,6	66,8	67,9	73,3	75,5	90,1
W2	–	11,1	22,8	32,7	52,6	64,1	71,6	81,8	84,0	90,6
W3	–	14,5	21,1	40,8	46,0	56,1	59,1	64,4	65,7	75,7

K – kontrola; W1 – olejek tatarakowy; W2 – olejek tatarakowy + *Pseudomonas*; W3 – olejek tatarakowy + *Saccharomyces cerevisiae*; D1, D3 ... D26 – kolejne dni, w których określono stężenie izofetamidu w sałacie, od dnia aplikacji

K – control; W1 – calamus oil; W2 – calamus oil + *Pseudomonas*; W3 – calamus oil + *Saccharomyces cerevisiae*; D1, D3 ... D26 – subsequent days on which the concentration of isofetamid in lettuce was determined, from the day of application

Analiza modeli wykładniczych potwierdziła powyższe obserwacje. Porównanie wartości stałej szybkości rozkładu k w poszczególnych równaniach wskazuje, że degradacja izofetamidu zachodziła najszybciej w wariancie W2, łączącym działanie olejku tatarakowego i *Pseudomonas* ($k = 0,094$), następnie w wariancie W1 ($k = 0,072$), gdzie zastosowano jedynie olejek tatarakowy. W kontroli i w wariancie z drożdżami i olejkiem tatarakowym tempo rozkładu było wolniejsze (odpowiednio $k = 0,052$ i $k = 0,052$). Wyższe wartości współczynnika determinacji R^2 dla wszystkich wariantów (0,8629–0,9749), wskazują na dobre dopasowanie modeli wykładniczych do danych empirycznych. Uzyskane wyniki są zgodne z wcześniejszymi doniesieniami literaturowymi, gdzie na przykładzie sałaty lodowej wykazano, że rozkład pozostałości pestycydów przebiega najczęściej zgodnie z kinetyką pierwszego rzędu (Schusterova i wsp. 2025). Horská i wsp. (2020) analizując trzydzieści dwie s.cz. wykazali, że większość z nich charakteryzuje się wykładniczym profilem spadku stężenia w czasie.

Różnice między wariantami potwierdziła również analiza czasu połowicznego rozkładu DT_{50} oraz czasów potrzebnych do obniżenia stężenia do 10% i 1% depozytu początkowego (DT_{90} i DT_{99}). W wariancie kontrolnym czas DT_{50} wynosił 13,21 dni, a osiągnięcie poziomu 10% i 1% następowało odpowiednio po 59,0 i 102,9 dniach. Zastosowanie jedynie olejku tatarakowego (W1) skróciło czas połowicznego rozkładu do 9,6 dni, a wartości DT_{90} i DT_{99} wynosiły odpowiednio 37,3 i 69,3 dnia. Wartości DT_{90} i DT_{99} potwierdziły przewagę wariantu W2, w którym całkowita degradacja izofetamidu następowała średnio o 30 dni szybciej niż w kontroli (tab. 2). Wariant W3 charakteryzował się najwolniejszym rozkładem, z czasem DT_{50} równym 13,27 dnia oraz wartościami DT_{90} i DT_{99} wynoszącymi 55,2 i 99,2 dnia (tab. 2). Horská i wsp. (2020) odnotowali niższe wartości parametru DT_{50} dla pestycydów w sałacie, wahające się od 0,86 dnia dla dimetomorfu do 2,65 dnia dla tiametoksamu, natomiast Lu i wsp. (2014) określili czas półtrwania chlorpiryfosu w tym warzywie na 3,92 dnia. Według badań Kabira i wsp. (2016), metafenon

w sałacie, w zależności od dawki i warunków sezonowych miał obserwowane okresy półtrwania od 2,2 do 5 dni. Metaanaliza Fantke i Juraske (2013) wskazała, iż dla większości pestycydów stosowanych na roślinach, okresy półtrwania mieszczą się w zakresie od około godziny do nawet 918 dni, przy czym dla 95% przypadków wynosi on 0,6 dnia do około 29 dni, a kierunek i tempo rozpadu są silnie zmienne w zależności od rodzaju rośliny i właściwości molekuly, oraz że modelowanie rozpadu w roślinach obarczone jest dużą niepewnością.

Uzyskane wyniki można powiązać z aktywnością bakterii *Pseudomonas*, które wytwarzają biosurfaktanty, takie jak ramnolipidy. Związki te obniżają napięcie powierzchniowe i zwiększają biodostępność s.cz., ułatwiając ich transport do komórek i wykorzystanie jako źródła węgla i energii (Markam i wsp. 2024). Mechanizm ten może tłumaczyć wyraźne skrócenie DT_{50} w wariancie W2.

Dodatkowo olejek tatarakowy, bogaty w terpeny i fenylopropanoidy, mógł indukować mechanizmy obronne roślin i aktywować enzymy detoksykacyjne poprzez wywołanie stresu oksydacyjnego (Gupta i wsp. 2023; Wróblewski i wsp. 2025). Efekt ten sprzyjał szybszej degradacji s.cz., co potwierdziły wyniki wariantu W1. Jednocześnie należy uwzględnić fakt, że olejek może również ograniczać aktywność bakterii poprzez destabilizację ich błon komórkowych, co częściowo tłumaczy słabszy efekt w wariancie W3, gdzie zastosowano go łącznie z drożdżami. Należy podkreślić również, że różne kombinacje czynników biologicznych mogą działać zarówno synergistycznie, jak i antagonistycznie, w nieoczekiwany sposób wpływając na los s.cz. w roślinie, na przykład poprzez modyfikację tempa jej degradacji. Podobne zjawiska obserwowano wcześniej w przypadku różnych mieszanin chemicznych s.o.r. (Iwaniuk i wsp. 2022). Dodatkowo inne niż s.cz. składniki s.o.r., na przykład surfaktanty czy środki przeciwpieniące mogą wpływać na jego trwałość (Swarcewicz i Gregorczyk 2013; Mesnage i Antoniou 2018; Jing i wsp. 2023).

Podobne obserwacje opisano wcześniej dla innych s.cz. *Pseudomonas* skutecznie degradowe chlorpiryfos i diflufenikan (Gilani i wsp. 2016; Książek-Trela i wsp. 2025), *Arthrobacter* rozkłada herbicydy triazynowe (Guo i wsp. 2019), a *Bacillus* – β -cypermetrynę (Narayanan i wsp. 2020). Wskazuje to na znaczący wpływ mikroorganizmów w procesie degradacji s.o.r., którego potwierdzeniem są także wyniki badań własnych. Zastosowanie mikrobiologicznych biostymulatorów może zwiększać szybkość rozkładu pestycydów poprzez aktywację metabolizmu roślinnego i stymulację mikroflory ryzosfery, co z kolei sprzyja procesom transformacji s.cz. do mniej toksycznych metabolitów (Kumari i wsp. 2022).

Na tempo rozkładu wpływają również właściwości anatomiczne roślin. Liściasta budowa sałaty, charakteryzująca się dużą powierzchnią asymilacyjną i wysokim stosunkiem powierzchni liści do masy, sprzyja akumulacji substancji

Tabela 2. Wartości DT izofetamidu w sałacie dla różnych wariantów eksperymentu

Table 2. DT values of isofetamid in lettuce for different experimental variants

Wariant eksperymentu Experiment variant	DT_{50} [dni – days]	DT_{90} [dni – days]	DT_{99} [dni – days]
K	13,2	59,0	102,9
W1	9,6	37,3	69,3
W2	7,4	32,8	57,4
W3	13,2	55,2	99,2

K – kontrola, W1 – olejek tatarakowy, W2 – olejek tatarakowy + *Pseudomonas*, W3 – olejek tatarakowy + *Saccharomyces cerevisiae*

K – control, W1 – calamus oil, W2 – calamus oil + *Pseudomonas*, W3 – calamus oil + *Saccharomyces cerevisiae*

chemicznych. Lu i wsp. (2014) wskazują na przykładzie s.c.z. chlorpiryfos i warzyw, takich jak papryka, bakłażan, seler czy sałata, że początkowy depozyt s.c.z. jest wprost proporcjonalny do powierzchni liści i odwrotnie proporcjonalny do biomasy całej rośliny. Badania przeprowadzone przez Djouaka i wsp. (2018) oraz Horská i wsp. (2020) potwierdziły, że niektóre s.c.z. w sałacie ulegają degradacji szybciej niż w warzywach kapustnych czy korzeniowych.

Wnioski / Conclusions

1. Izofetamid ulegał sukcesywnie degradacji w sałacie we wszystkich wariantach doświadczenia, a tempo jego zanikania zależało od obecności zastosowanych czynników biologicznych.

2. Analiza przebiegu rozkładu izofetamidu potwierdziła, że zastosowane czynniki biologiczne znacząco modyfikują dynamikę procesów degradacyjnych izofetamidu w liściach sałaty.
3. Najszybszą degradację izofetamidu zaobserwowano w wariantcie łączącym działanie olejku tatarakowego i *Pseudomonas* ($DT_{99} = 57,4$ dnia), natomiast najwolniej rozkład s.c.z. przebiegał w wariantcie kontrolnym ($DT_{99} = 102,9$ dnia).
4. Stosowanie kombinacji chemicznych ś.o.r. i preparatów biologicznych powinno zostać poprzedzone oceną ich wzajemnego oddziaływania, wpływu na roślinę oraz skuteczności i bezpieczeństwa zabiegu.

Literatura / References

- Chen S., Luo J., Hu M., Geng P., Zhang Y. 2012. Microbial detoxification of bifenthrin by a novel yeast and its potential for contaminated soils treatment. PLoS ONE 7 (2): e30862. DOI: 10.1371/journal.pone.0030862
- Cignola R., Carminati G., Natolino A., Di Francesco A. 2024. Effects of bioformulation prototype and bioactive extracts from *Agaricus bisporus* spent mushroom substrate on controlling *Rhizoctonia solani* of *Lactuca sativa* L. Frontiers in Plant Science 15: 1466956. DOI: 10.3389/fpls.2024.1466956
- de Carvalho Brito R., da Silva Fontes L., da Silva P.H.S., de Sousa Santana C., Barbosa D.R.S. 2022. Essential oils from *Betula lenta*, *Cinnamomum cassia*, *Citrus aurantium* var. *Amara* and *Acorus calamus* as biopesticides against cowpea weevil. International Journal of Tropical Insect Science 42 (1): 261–268. DOI: 10.1007/S42690-021-00541-4
- Djouaka R., Soglo M.F., Kusimo M.O., Adéoti R., Talom A., Zeukeng F., Paraíso A., Afari-Sefa V., Saethre M.G., Manyong V., Tamò M., Waage J., Lines J., Mahuku G. 2018. The rapid degradation of lambda-cyhalothrin makes treated vegetables relatively safe for consumption. International Journal of Environmental Research and Public Health 15 (7): 1536. DOI: 10.3390/IJERPH15071536
- Ebrahimi M., Safaralizade M.H., Valizadegan O. 2013. Contact toxicity of *Azadirachta indica* (Adr. Juss.), *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn.) and *Laurus nobilis* (L.) essential oils on mortality cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Hem.: Aphididae). Archives of Phytopathology and Plant Protection 46 (18): 2153–2162. DOI: 10.1080/03235408.2013.774526
- Elumalai P., Gao X., Parthipan P., Luo J., Cui J. 2025. Agrochemical pollution: A serious threat to environmental health. Current Opinion in Environmental Science & Health 43: 100597. DOI: 10.1016/j.coesh.2025.100597
- Fantke P., Juraske R. 2013. Variability of pesticide dissipation half-lives in plants. Environmental Science & Technology 47 (8): 3548–3562. DOI: 10.1021/es303525x
- Gilani R.A., Rafique M., Rehman A., Munis M.F.H., Rehman S., Chaudhary H.J. 2016. Biodegradation of chlorpyrifos by bacterial genus *Pseudomonas*. Journal of Basic Microbiology 56 (2): 105–119. DOI: 10.1002/JOBM.201500336
- Guo X., Xie C., Wang L., Li Q., Wang Y. 2019. Biodegradation of persistent environmental pollutants by *Arthrobacter* sp. Environmental Science and Pollution Research 26 (9): 8429–8443. DOI: 10.1007/S11356-019-04358-0
- Gupta I., Singh R., Muthusamy S., Sharma M., Grewal K., Singh H.P., Batish D.R. 2023. Plant essential oils as biopesticides: applications, mechanisms, innovations, and constraints. Plants 12 (16): 2916. DOI: 10.3390/PLANTS12162916
- Horská T., Kocourek F., Stará J., Holý K., Mráz P., Krátký F., Kocourek V., Hajšlová J. 2020. Evaluation of pesticide residue dynamics in lettuce, onion, leek, carrot and parsley. Foods 9 (5): 680. DOI: 10.3390/FOODS9050680
- Iwaniuk P., Borusiewicz A., Łozowicka B. 2022. Fluazinam and its mixtures induce diversified changes of crucial biochemical and antioxidant profile in leafy vegetable. Scientia Horticulturae 298: 110988. DOI: 10.1016/j.scienta.2022.110988
- Iwaniuk P., Łozowicka B. 2022. Biochemical compounds and stress markers in lettuce upon exposure to pathogenic and fungicides inhibiting oxidative phosphorylation. Planta 255: 61. DOI: 10.1007/s00425-022-03838-x
- Jing J., Zhou Y., Zhang Z., Wu L., Zhang H. 2023. Effect of tank-mixed adjuvant on the behavior of chlorantraniliprole and difenoconazole in soil. Heliyon 9 (1): e12658. DOI: 10.1016/j.heliyon.2022.e12658
- Kabir M.H., El-Aty A.M.A., Im S.J., Rahman M.M., Kim S.-W., Farha W., Choi J.-H., Jung D.-I., Lee Y.-J., Lieu T., Shin H.-C., Im G.-J., Hong S.-M., Shim J.-H. 2016. Determination of residual levels of metrafenone in lettuce grown under greenhouse conditions using gas chromatography with a micro-electron capture detector. Applied Biological Chemistry 59: 43–49. DOI: 10.1007/s13765-015-0126-7
- Kaczyński P., Iwaniuk P., Jankowska M., Orywał K., Socha K., Perkowski M., Farhan J.A., Łozowicka B. 2024. Pesticide residues in common and herbal teas combined with risk assessment and transfer to the infusion. Chemosphere 367: 143550. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2024.143550

- Kaczyński P., Łozowicka B., Wołejko E., Iwaniuk P., Konecki R., Dragowski W., Łozowicki J., Amanbek N., Rusiłowska J., Pietraszko A. 2020. Complex study of glyphosate and metabolites influence on enzymatic activity and microorganisms association in soil enriched with *Pseudomonas fluorescens* and sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* 393: 122443. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.122443
- Książek-Trela P., Potocki L., Szpyrka E. 2025. The impact of novel bacterial strains and their consortium on diflufenican degradation in the mineral medium and soil. *Scientific Reports* 15 (1): 1–13. DOI: 10.1038/S41598-025-02696-3
- Kumari M., Swarupa P., Kesari K.K., Kumar A. 2022. Microbial inoculants as plant biostimulants: a review on risk status. *Life* 12 (1): 12. DOI: 10.3390/life13010012
- Lu M.-X., Jiang W.W., Wang J.-L., Jian Q., Shen Y., Liu X.-J., Yu X.-Y. 2014. Persistence and dissipation of chlorpyrifos in brassica chinensis, lettuce, celery, asparagus lettuce, eggplant, and pepper in a greenhouse. *PLoS ONE* 9 (6): e100556. DOI: 10.1371/journal.pone.0100556
- Łozowicka B., Wołejko E., Kaczyński P., Konecki R., Iwaniuk P., Dragowski W., Łozowicki J., Tujtebajeva G., Wydro U., Jabłońska-Trypuć A. 2021. Effect of microorganism on behaviour of two commonly used herbicides in wheat/soil system. *Applied Soil Ecology* 162: 103879. DOI: 10.1016/j.apsoil.2020.103879
- Markam S.S., Raj A., Kumar A., Khan M.L. 2024. Microbial biosurfactants: Green alternatives and sustainable solution for augmenting pesticide remediation and management of organic waste. *Current Research in Microbial Sciences* 7: 100266. DOI: 10.1016/J.CRMICR.2024.100266
- Mesnage R., Antoniou M.N. 2018. Ignoring adjuvant toxicity falsifies the safety profile of commercial pesticides. *Frontiers in Public Health* 5: 361. DOI: 10.3389/fpubh.2017.00361
- Miao J.K., Shi R.H., Li C., Li X.W., Chen Q.X. 2016. Sweet flag (*Acorus calamus*) oils. *Essential oils in food preservation*. s. 775–782. W: *Flavor and Safety* (V. Preedy, red.). Academic Press, London, UK, 1120 ss. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00088-2
- Narayanan M., Kumarasamy S., Ranganathan M., Kandasamy S., Kandasamy G., Gnanavel K. 2020. Enzyme and metabolites attained in degradation of chemical pesticides β Cypermethrin by *Bacillus cereus*. *Materials Today: Proceedings* 33 (Part 7): 3640–3645. DOI: 10.1016/J.MATPR.2020.05.722
- Nishimi S., Abe Y., Kuwahara N., Nishimura A., Tsukuda S., Araki S., Tsunematsu K., Fukumori Y., Ogawa M., Suzuki K., Mitani S. 2024. Advantageous properties of a new fungicide, isofetamid. *Journal of Pesticide Science* 49 (2): 130–134. DOI: 10.1584/JPESTICS.D23-067
- Parven A., Md Meftaul I., Venkateswarlu K., Megharaj M. 2025. Herbicides in modern sustainable agriculture: environmental fate, ecological implications, and human health concerns. *International Journal of Environmental Science and Technology* 22: 1181–1202. DOI: 10.1007/s13762-024-05818-y
- Qi X., Zhong S., Schwarz P., Chen B., Rao J. 2023. Mechanisms of antifungal and mycotoxin inhibitory properties of *Thymus vulgaris* L. essential oil and their major chemical constituents in emulsion-based delivery system. *Industrial Crops and Products* 197: 116575. DOI: 10.1016/J.INDCROP.2023.116575
- SANTE 11312/2021 v2 – Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. Version 2 implemented by 1 January 2024.
- Sarker A., Kim D., Jeong W.-T. 2024. Environmental fate and sustainable management of pesticides in soils: a critical review focusing on sustainable agriculture. *Sustainability* 16 (23): 10741. DOI: 10.3390/su162310741
- Schusterova D., Han J., Gomersall V., Jursik M., Horska T., Kosek V., Kocourek F., Kocourek V., Hajslova J. 2025. Optimized methods for the investigation of changes in levels of pesticide residues and their transformation products in iceberg lettuce. *Food Research International* 202: 115625. DOI: 10.1016/j.foodres.2024.115625
- Swarcewicz M.K., Gregorczyk A. 2013. Atrazine degradation in soil: effects of adjuvants and a comparison of three mathematical models. *Pest Management Science* 69 (12): 1346–1350. DOI: 10.1002/ps.3510
- Wijerathna S.S., Perera A.G.W.U., Chinthaka S.D.M. 2023. Chemical composition and biological efficacy of *Acorus calamus* (L.) rhizome essential oil on *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhyzopertha dominica* (F.), and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) as stored-grain protectants. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 54: 102931. DOI: 10.1016/J.BCAB.2023.102931
- Wróblewski M., Piotrowska-Niczyporuk A., Ciereszko I., Gocek N., Żabka A., Szczeblewski P., Sobiech Ł., Saja-Garbarz D., Polit J.T. 2025. Phytotoxicity and bioherbicidal potential of sweet flag (*Acorus calamus* L.) essential oil on *Fabaceae* and *Brassicaceae* species. *Scientia Horticulturae* 347: 114180. DOI: 10.1016/J.SCIENTA.2025.114180
- Wydro U., Jabłońska-Trypuć A., Medo J., Borowski G., Kaczyński P., Łozowicka B., Wołejko E. 2024. Effect of *Pseudomonas fluorescens* on isofetamid dissipation and soil microbial activity. *Applied Sciences* 14 (23): 10901. DOI: 10.3390/app142310901
- Yang X., Gil M.I., Yang Q., Tomás-Barberán F.A. 2022. Bioactive compounds in lettuce: Highlighting the benefits to human health and impacts of preharvest and postharvest practices. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 21 (1): 4–45. DOI: 10.1111/1541-4337.12877
- Yin Y., Miao J., Shao W., Liu X., Zhao Y., Ma Z. 2023. Fungicide resistance: progress in understanding mechanism, monitoring, and management. *Phytopathology* 113 (4): 707–718. DOI: 10.1094/PHYTO-10-22-0370-KD
- Zhou L., Liu Y., Kong F., Jia S., Wang Q., Wang Z., Zhang H., Huang X. 2024. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from vineyards to boscalid, isofetamid, and pydiflumetofen in Shandong Province, China. *Phytopathology* 114 (5): 1068–1074. DOI: 10.1094/PHYTO-10-23-0369-KC