نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۷-۲۱۹

Journal of Plant Protection
Vol. 34, No. 2, Summer 2020, P. 219-227

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری‌بیوزین در خاک و تأثیر کود آلی بر نیمه عمر و تجزیه آن در شرایط کنترل شده

سیده فاطمه فخرراد[۱]- ابراهیم ایزدی دربندی[۲*]- محمد حسن راشد محصل[۳]- محمدحسن زاده خیاط[۴]- حوریه نصیرلی[۵]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۱۱

چکیده

به منظور بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری‌بیوزین در خاک و نقش کود دامی در روند تجزیه و نیمه‌عمر آن، آزمایشی در شرایط کنترل‌شده در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل نوع خاک در دو سطح (سترون‌شده و غیرسترون)، مقدار کود دامی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰درصد وزنی خاک) و زمان برداشت نمونه‌ها از داخل انکوباتور، در ۷ سطح (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز) بودند. بر اساس نتایج آزمایش، روند تجزیه در خاک غیرسترون سریع تر از خاک سترون‌شده بود، بطوریکه باقیمانده متری‌بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از نگهداری در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و۲۸/۵۵ درصد و در خاک سترون‌شده ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه‌عمر متری‌بیوزین از ۸۵/۵۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸۰، ۵۷/۲۸، ۳۸/۰۸ روز شد و در خاک سترون‌شده از ۸۳/۵۱ روز به ۹۱/۰۳، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳۴ روز شد. بر مبنای این آزمایش اضافه‌کردن کود گاوی می تواند تجزیه متری بیوزین را در خاک افزایش و نیمه‌عمر آن را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: خاک سترون‌شده، خاک غیرسترون‌شده، ماندگاری

مقدمه

ماندگاری علف‌کش‌ها در محیط از مهم‌ترین تبعات رهاشدن، آن ها در خاک است (۴). این مساله، ضمن اثرات زیان بار بر فعالیت ریزموجودات و پایداری اکوسیستم خاک، خسارت به محصولات تناوبی را نیز بدنبال خواهد داشت. از سوی دیگر، آبشویی تدریجی و رواناب آن‌ها تهدیدی جدی برای آلودگی آب‌های زیرزمینی و جاری خواهد بود (۴ و ۱۵). این مهم به ویژه در علف‌کش‌های خاک مصرفی از قبیل تریازین‌ها وتریازینون‌ها که خاک مخزن اصلی ذخیره و نگهداری آن‌ها است اهمیت بیشتری دارد (۶). در بین این علف‌کش‌ها، متری‌بیوزین از مهم‌ترین علف‌کش‌های گروه تریازینون‌ها و ازبازدارندگان فتوسیستم Π می باشد که به طور گسترده‌ای در کنترل علف های هرز پهن‌برگ و باریک‌برگ بسیاری از محصولات زراعی از جمله سیب زمینی، گوجه فرنگی و گندم به کار می‌رود. بر اساس اطلاعات موجود، این علف‌کش جزء علف‌کش‌های با ماندگاری متوسط و بالا در خاک محسوب می شود و از پتانسیل بالایی در آلودگی منابع آب‌های زیرزمینی و نیز آسیب به گیاهان زراعی موجود در تناوب برخوردار است (۱۶ و ۱۸). از اینرو ارائه راهکارهایی در جهت کاهش اثرات زیان‌بار آن ضروری است. در این راستا توجه به عوامل موثر در سرنوشت علف‌کش‌ها در خاک از جمله تبخیر، تصعید، آبشویی، رواناب سطحی، جذب توسط ذرات خاک و گیاه، مهم و بویژه نقش تجزیه شیمیایی (در خاک‌های استریل و عاری از میکروارگانیسم) و تجزیه زیستی (توسط میکروارگانیسم‌های خاک) در سرنوشت آفت‌کش‌ها، نقش مهمی در مدیریت ماندگاری و بقایای آن‌ها دارد. بر اساس گزارش‌های موجود از بین تمام عوامل موثر بر سرنوشت علف کش‌ها در محیط نقش تجزیه شیمیایی و زیستی مهم‌تر است (۱۴) از اینرو درک و شناخت میزان تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی در هر یک از علف‌کش‌ها نقش مهمی در شناخت سرنوشت محیطی آنها دارد. در این ارتباط عوامل مختلفی از جمله محتوای رطوبت خاک، جمعیت و فعالیت ریزجانداران تجزیه کننده علف‌کش و نیز عوامل موثر بر فعالیت آنها بر تجزیه شمیایی و

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی دکتری شناسایی و مبارزه با علف‌های هرز، دانشیار و استاد دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: Email: e-izadi@um.ac.ir)
۴- استاد دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۵- مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
DOI: 10.22067/jpp.v34i2.31780

بیولوژیکی علف کش‌ها در خاک دخیل هستند (۱۴). هیزاک وزیمدال (۱۰) بیان کردند که تجزیه غیر زیستی متری بیوزین در خاک‌های لومی شنی مهم ترین عامل تجزیه این علف‌کش می باشد. خوری و همکاران (۱۴) و هنریکسون و همکاران (۸) نیز در مطالعات خود به اهمیت تجزیه شیمیایی متری‌بیوزین اشاره کرده‌اند. هرچند بر اساس مطالعات انجام‌شده تجزیه شیمیایی متری بیوزین از عوامل مهم در تجزیه‌ی آن به شمار می رود. اما بر اساس گزارش‌های انجام‌شده، تجزیه زیستی نقش مهم‌تری را در سرنوشت این علف کش دارد. اکسینلی و همکاران (۱) در آزمایشی که به منظور بررسی تجزیه آترازین و متولاکلر در خاک سترون‌شده و غیرسترون و در اعماق سطحی و عمیق خاک و در شرایط هوازی و غیر هوازی انجام دادند، گزارش کردند که تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی در علف کش آترازین هر دو در سرنوشت آن دخیل هستند. حال اینکه در علف‌کش متری بیوزین تجزیه شیمیایی نقشی در سرنوشت آن ندارد و تجزیه آن فقط به روش بیولوژیکی صورت می گیرد. بااین وجود، از آنجا که که روند تجزیه علف کش ها در مناطق مختلف، متفاوت است بررسی تجزیه شیمیایی این علف کش در آب و هوای ایران نیز ضروری است. اعتقاد بر این است که محتوی مواد آلی خاک از مهمترین عوامل موثر بر سرعت تجزیه علف‌کش‌ها است که با تاثیر بر محتوی رطوبت قابل دسترس خاک و فراهمی منابع غذایی و انرژی برای ریزجانداران خاک، نقش مهمی بر تجزیه شیمیایی و زیستی علف‌کش‌ها دارند (۲). در آزمایشی که به منظور بررسی نقش مواد آلی در تجزیه علف‌کش 2,4-D انجام شد، مشاهده شد که افزایش مواد آلی خاک از ۰/۹ درصد به ۲/۹ درصد وزنی خاک منجر به افزایش فعالیت میکروبی خاک شد، اما به دلیل جذب سطحی علف‌کش به مواد آلی خاک و کاهش فراهمی زیستی آن برای ریزموجودات خاک، تجزیه آن در خاک کاهش یافت (۷). کادین و همکاران (۱۲) با افزایش کود آلی، کمپوست قارچ و پساب به خاک آلوده‌شده با آترازین، دریافتند که این مواد، تجزیه آترازین را از طریق تحریک ریزجانداران تجزیه‌کننده آن، افزایش دادند. بر اساس گزارش نامبردگان، درصد تجزیه آترازین نسبت به شاهد در سه تیمار مذکور به ترتیب ۲۲/۰۷، ۲۹/۷، ۳۴/۱۷ درصد بود. ایزدی و همکاران (۱۱) نیز در بررسی تجزیه آترازین در شرایط مزرعه‌ای، ماندگاری بیشتری با افزایش میزان کاربرد علف‌کش و هم چنین افزایش مقدار کود آلی نتیجه گرفتند بطوری‌که در آزمایش آنها بیشترین نیمه‌عمر (۱۲/۹۲ روز) در تیمار مربوط به ۵۰ تن کود آلی و ۴ کیلوگرم آترازین در هکتار و کمترین نیمه‌عمر آن (۳/۶۴ روز) در کاربرد ۲ کیلوگرم آترازین و بدون کاربرد کود آلی مشاهده شد. با توجه به اینکه که متری‌بیوزین از علف‌کش‌های مهمی است که در کنترل علف‌های هرز مزارع سیب‌زمینی، گندم، جو و سویا کاربرد دارد (۲۰) و از آنجا که مطالعاتی در ارتباط با روند تجزیه شیمیایی و زیستی این علف‌کش در کشور انجام نشده است، این مطالعه با هدف بررسی روند تجزیه زیستی و شیمیایی آن و نقش افزودن کود گاوی در خاک در تجزیه و نیمه‌عمر آن در شرایط کنترل‌شده انجام شد. نتایج حاصل از این بررسی می تواند در جهت کاهش اثرات زیست محیطی و باقیمانده آن بر محصولات زراعی تناوبی مفید باشد.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار در شرایط کنترل‌شده در آزمایشگاه تحقیقاتی علف‌های‌هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، انجام شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل نوع خاک (سترون‌شده و غیرسترون)، مقدار کود آلی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد وزنی خاک) و زمان برداشت نمونه‌ها در ۸ سطح (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز پس از نگهداری نمونه‌ها در انکوباتوردر دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد بودند (این دما، دمای مطلوب برای فعالیت اغلب میکروارگانیسم‌ها بوده و برای جلوگیری از نوسانات دما در طول آزمایش از انکوباتور استفاده شد). برای انجام آزمایش، پس از تهیه خاکی از عمق ۰ تا ۱۰ سانتی‌متری مزرعه‌ای که حداقل تا ۵ سال قبل هیچ‌گونه آفت کش و کود دامی در آن استفاده نشده بود و انتقال آن به آزمایشگاه و تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و درصد رطوبت زراعی آن، بقایای گیاهی آن توسط الک ۲ میلی‌متری جدا شدند. برای سترون‌کردن خاک، نمونه‌های خاک تهیه شده در دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱/۲ بار به مدت ۴۵ دقیقه داخل اتوکلاو قرار داده و این عمل سه بار تکرار شد (۱۳). برای آلوده‌کردن خاک‌ها به متری بیوزین، پس از تهیه خاک‌های موردنظر در سطوح مختلف کود آلی (با احتساب ۵۰ گرم خاک خشک)، در درون شیشه‌های ۱۵۰ میلی‌لیتری دربدار قرارداده شدند و به نسبت ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (که معادل ۲۵/. میلی‌گرم متری‌بیوزین در ۵۰گرم خاک می باشد)، با علف‌کش متری‌بیوزین آلوده شدند. برای این منظور پس از اضافه‌کردن یک گرم متری‌بیوزین (با در نظرگرفتن درجه خلوص آن، ۷۰ درصد پودر وتابل) در ۱۰۰۰ سی‌سی متانول تجاری و تهیه محلول ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام، و سپس رقیق‌سازی این محلول به ۱۰۰ پی‌پی‌ام، ۲/۵ سی‌سی از این محلول را با استفاده از پیپت سرنگی روی خاک مخلوط شده با نسبت‌های مختلف کود آلی ریخته شد، پس از تبخیر کامل متانول از سطح خاک داخل شیشه‌ها، درب آن‌ها را بسته و آن‌ها را به شدت تکان داده تا علف‌کش به طور یکنواخت با خاک و کود دامی ترکیب شود، سپس به تمام نمونه‌ها آب استریل‌شده در حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبتی که میکروارگانیسم بتوانند به خوبی رشد کنند) به خاک اضافه کرده و درب شیشه‌ها را با کاغذ آلومینیوم منفذدار بسته و در شرایط تاریکی و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد (هوگ، ۲۰۰۵) به مدت ۹۰ روز در داخل انکوباتور، نگهداری شدند. (انتخاب

۹۰ روز برای انجام زمان نمونه برداری به این خاطر بود که بر اساس اطلاعات موجود نیمه عمر متری‌بیوزن در شرایط مخلف از ۳۰ روز تا ۷۰ روز گزارش شده است. از طرفی باتوجه به اینکه بر اساس معادله سینتیک درجه اول وجود حداقل ۶ نقطه برای برازش داده‌ها به معادله مذکور لازم است، لذا زمان بندی نمونه گیری ها با توجه به این دو مهم انجام شد).در طول آزمایش با توزین شیشه‌ها، رطوبت خاک‌ها در حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبتی که میکروارگانیسم‌ها به خوبی فعالیت کنند)، حفظ شدند. پس از خروج نمونه‌های خاک در دوره‌های زمانی معین، برای تعیین غلظت باقیمانده متری بیوزین، نمونه‌ها تا مرحله استخراج متری بیوزین از خاک در دمای ۲۵- درجه سانتی‌گراد و در داخل فریزر نگهداری شدند (۱۳). استاندارد شیمیایی متری‌بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد از شرکت آلمانی بایر کراپ ساینس و با همکاری بخش علف های هرز موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد، (در مورد علت استفاده از استاندارد متری بیوزین باید اشاره کرد که در آزمایشات مربوط به بررسی تجزیه آفت‌کش‌ها، قبل از تزریق نمونه‌های استخراج‌شده‌ی آزمایش به دستگاه HPLC ، با تهیه محلول‌هایی با غلظت مشخص از استاندارد آفت‌کش مورد نظر و تزریق آن‌ها به دستگاه HPLC می توانیم معادله‌ای به دست آوریم که بر اساس این معادله، غلظت باقیمانده آفت کش استخراج شده از نمونه های خاک بدست می آید). متری‌بیوزین تجاری نیز با خلوص ۷۵ درصد به صورت پودر وتابل، از موسسه مذکور تهیه شد. به منظور استخراج متری‌بیوزین از نمونه‌های آزمایش، ۱۰ گرم از خاک مربوط به هر تیمار را درون فالکون‌های۵۰ سی‌سی منتقل و ۲۰ سی‌سی متانول با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد به آن‌ها اضافه شد و پس از تکان‌دادن آن‌ها به مدت ۱/۵ ساعت توسط دستگاه شیکر، با استفاده از دستگاه سانتریفیو ژ با دور۳۵۰۰ و به مدت ۱۰دقیقه عملیات سانتریفیوژ انجام تا فازمایع (متانول) از فاز جامد (خاک) جدا شود، سپس فاز مایع توسط کاغذ صافی واتمن شماره ی ۴۲ درون ارلن شیشه‌ای صاف شد. مراحل مذکور برای خاک باقی مانده داخل فالکون، مجددا تکرار شد و محلول صاف‌شده از دو مرحله را درون ارلن‌هایی به حجم ۱۰۰ سی‌سی ریخته و برای ممانعت از تبخیر حلال درب آنها توسط پارافیلم بسته و در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای تزریق به دستگاه HPLC، برای تغلیظ باقیمانده‌ی متری بیوزین در محلول جمع آوری شده، با استفاده از دستگاه روتاری اواپراتورو[1] در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم آن، حلال متانول به طور کامل تبخیر و پس از آن، با استفاده از پیپت سرنگی، ۵ میلی لیتر متانول به باقیمانده متری‌بیوزین موجود در بالون روتاری اواپراتور اضافه و جهت تحلیل نتایج، محلول حاصل پس از انتقال در ظروف شیشه‌ای به حجم ۱۰ سی‌سی، تا زمان تزریق به دستگاه HPLC، در یخچال و در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد (۱۱). دستگاه HPLC مورد استفاده در این آزمایش مدل شیمادزو[2] مجهز به آشکارساز Spectrophotometric Uv-Vis و طول موج ۲۹۰ نانومتر و یک ستون فاز معکوس C18 (به طول ۲۵ و قطر۴/۵ سانتی متر) بود. فاز متحرک با نسبت ۸۰ به ۲۰ متانول (HPLC Grade) به آب دیونایز و با سرعت جریان ۰/۵ میلی لیتر در دقیقه تنظیم شد. حجم نمونه‌ی تزریق شده به HPLC نیز برابر ۲۵ میکرولیتر بود.برای واسنجی دستگاه HPLC پیش از تزریق نمونه‌های مورد آزمایش، محلول‌های استاندارد با غلظت‌های مشخص تهیه و منحنی استاندارد آنها ترسیم شد (شکل ۱). برای این منظور، محلول‌های ۰/۵، ۱،۲، ۳ ، ۴ و ۵ پی پی‌ام متری‌بیوزین از محلول استوک ۶۰ میلی‌گرم در لیتر متری‌بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد در متانول با خلوص ۹۹/۹ درصد تهیه شد و به وسیله سرنگ همیلتون با سه تکرار به دستگاه HPLC تزریق شدند و زمان بازیابی (۱۰ دقیقه) و سطح زیر منحنی محلول‌های استاندارد مشخص شد. منحنی استاندارد متری‌بیوزین بر حسب سطح زیر منحنی با استفاده از نرم‌افزار اکسل ترسیم شد و بر اساس نتایج حاصل، معادله خط با همبستگی برابر با ۰/۹۹ به دست آمد. مبنای تعیین غلظت نمونه‌های مجهول، معادله بدست آمده از منحنی‌های محلول های استاندارد بود که با بدست‌آوردن سطح زیرمنحنی نمونه‌های مجهول ، غلظت آنها بدست آمد. آنالیز واریانس داده‌های حاصل از آزمایش پس از تبدیل آنها به درصد نسبت به شاهد با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد و مقایسه‌ی میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۰۷ استفاده شد. تجزیه رگرسیون داده‌های آزمایش از برازش میانگین داده‌های آزمایش به معادله‌ی سینیتیکی درجه اول (معادله ۱) در نرم‌افزار SigmaplotVer.11 بدست آمد.

$$Ct = Co \exp(-kt) \qquad (۱)$$

که در آن Ct غلظت متری‌بیوزین در زمان t، Co غلظت اولیه متری‌بیوزین (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و k سرعت تجزیه (میلی گرم در کیلوگرم خاک در روز) هستند و بر اساس پارامترهای حاصل از معادله مذکور نیمه‌عمر (DT50) و زمان لازم برای تجزیه ۹۰ درصد متری بیوزین (DT_{90}) نیز با توجه به سرعت تجزیه آن از معادله‌های (۲) و (۳) محاسبه شدند.

$$DT_{90} = \frac{ln10}{k} \qquad (۲)$$

$$DT_{50} = \frac{ln2}{k} \qquad (۳)$$

1- Rotary evaporator
2- Shimadzue

جدول ۱- ویژگی‌های خاک و کود گاوی مورد مطالعه

Table 1- Characteristics of the soil and cow manure studied

ویژگی‌های خاک (Soil characteristics)	خاک (Soil)	کود گاوی (Cow manure)
بافت خاک (Soil texture)	رسی clay	-
PHگل اشباع خاک (PH clay saturated soil)	7.2	-
درصد کربن آلی (Percentage of organic carbon)	0.429	10.4
درصد نیتروژن (Percentage of nitrogen)	0.0819	1.73
درصد رطوبت زراعی (Percentage of Agricultural moisture)	15.42	-

نتایج و بحث

کارایی استخراج متری‌بیوزین

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش، اختلافی در کارایی استخراج متری‌بیوزین در سطوح مختلف ماده آلی وجود نداشت. کارایی استخراج متری‌بیوزین در سطوح ۱، ۵ و ۱۰درصد به ترتیب ۹۲/۵۲، ۹۱/۷۶ و ۹۱/۵۱ درصد در مقایسه با شاهد بدون کاربرد کود آلی (۹۵/۵۲) بود. کارایی بالا در این روش ممکن است به تکرار عملیات شیک، سانتریفیوژ و صاف کردن عصاره برگردد، در این ارتباط تکرار عملیات شیک و سانتریفیوژ جهت افزایش کارایی استخراج باقیمانده علف‌کش در مطالعات هنریکسون و همکاران (۹) و خوری و همکاران (۱۳) گزارش شده است.

بررسی روند تجزیه شیمیایی و زیستی متری بیوزین و تاثیر کود آلی بر آن

نتایج نشان داد که تجزیه متری‌بیوزین در خاک سترون‌شده و سترون‌نشده اختلاف معنی‌داری ($P\leq0.01$) با هم داشتند (جدول ۲ و شکل ۱) و افزودن ماده آلی منجر به افزایش سرعت تجزیه متری‌بیوزین در هر دو خاک شد (جدول ۳). از سوی دیگر با افزایش دوره نگهداری نمونه‌های خاک در انکوباتور باقیمانده متری‌بیوزین در خاک بطور معنی‌داری کاهش یافت و اثرات متقابل سترون‌کردن خاک و افزودن کود آلی به خاک و نیز زمان خواباندن نمونه‌های خاک بر تجزیه متری‌بیوزین معنی‌دار ($P\leq0.01$) شد (جدول ۲).

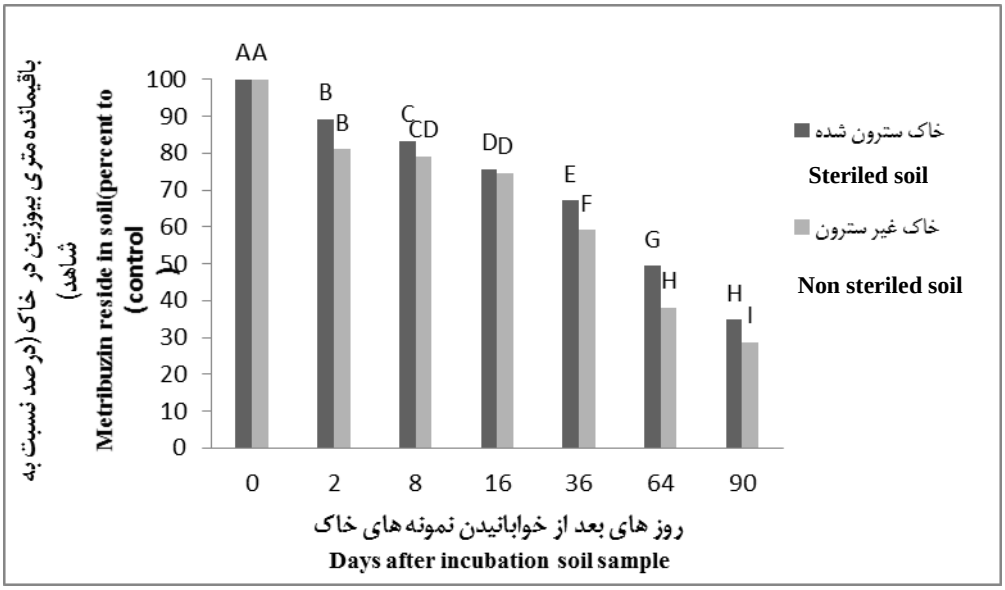
براساس نتایج آزمایش باقیمانده متری‌بیوزین در خاک سترون‌شده تا ۱۶ روز اختلاف معنی‌داری با خاک سترون نشده نداشت (شکل ۲) اما بعد از این مدت، دو خاک اختلاف معنی‌داری به لحاظ باقیمانده متری‌بیوزین با هم داشتند. به طوری‌که باقیمانده متری‌بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از خوابانیدن در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و۲۸/۵۵ درصد مقدار اولیه و در خاک سترون‌شده به ترتیب ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد مقدار اولیه بود. عدم اختلاف معنی‌دار باقیمانده متری‌بیوزین در دو خاک، در روزهای اول بعد از خوابانیدن نمونه‌های خاک، ممکن است مرتبط با عدم سابقه‌ی کاربرد علف کش و نیاز به سازگاری ریزجانداران تجزیه‌کننده متری‌بیوزین در خاک برای تجزیه آن باشد. در این ارتباط در سایر مطالعات انجام شده نیز وجود دوره تاخیر در شروع تجزیه آفت‌کش‌ها در خاک گزارش شده است (۵). بر اساس پژوهش‌های انجام شده در مورد تجزیه زیستی علف‌کش‌های گروه تریازین‌ها، مشاهده شده است که هر علف‌کشی در خاک توسط گروه خاصی از ریزجانداران تجزیه می‌شود و سمومی که برای اولین بار در خاک بکار می‌روند، در ابتدا ممکن است یا به دلیل پایین بودن جمعیت ریزجانداران تجزیه کننده آن و یا عدم سازگاری آنها به تجزیه علف‌کش، روند تجزیه آنها با یک دوره تاخیری مواجه خواهد بود (۵). فوگ و بوکسال (۵) نیز در بررسی روند تجزیه ایزوپروتورون در خاک‌های سطحی و بسترهای آماده شده زیستی (شامل خاک سطحی، کمپوست و بقایای گندم)، تجزیه سریعتری را در خاک سطحی ($DT90<52$) در مقایسه با بستر زیستی ($DT90<147$) مشاهده کردند. نامبردگان علت این مهم را سابقه کاربرد علف‌کش در خاک سطحی و نیز جمعیت بالا و سازگاری ریزجانداران خاک در عمق سطحی خاک به تجزیه ایزوپروتورون نسبت به بستر زیستی ذکر کردند (۵).

جدول ۲- منابع تغییر، درجه آزادی و میانگین مربعات (MS) حاصل از تجزیه واریانس باقیمانده متری بیوزین در خاک

Table 2- Sources of variation, degree of freedom and mean square (MS) analysis of variance metribuzin residues in soil

منابع تغییر Sources of variation	میانگین مربعات Mean square	درجه آزادی Degree of freedom
سترون کردن خاک (Soil sterilization)	1293.5**	1
ماده آلی (Organic matter)	127.7**	3
سترون‌کردن خاک × ماده‌آلی (Soil sterilization× Organic matter)	240.1**	3
زمان (Time)	13889.7**	6
سترون‌کردن خاک × زمان (Soil sterilization ×Time)	98**	6
ماده آلی × زمان (Time×organic matter)	237.5**	18
سترون‌کردن خاک ×زمان×ماده آلی(Soil sterilization×Time × Organic matter)	204.1**	18
خطا (Error)	31.4	112)
ضریب تغییرات (Coefficient of variation)	8.1	-

**معنی‌داری در سطح ۱ درصد
(Significant at 1%)



شکل ۱- تاثیر دوره‌های مختلف نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور بر تجزیه متری‌بیوزین در خاک سترون شده و غیر سترون

Figure 1- The effect of different periods of storage in incubators on metribuzin degradation in soil sterile and non sterile

تاثیر تجزیه علف‌کش در خاک سترون شده و غیر سترون بر نیمه عمر متری‌بیوزین

در مطالعات مربوط به باقیمانده علف‌کش‌ها در خاک DT50 (زمانی که ۵۰ درصد علف‌کش در خاک تجزیه می‌شود) و DT90 (زمانی که ۹۰ درصد علف‌کش در خاک تجزیه می‌شود) از شاخص‌های مهم در ارزیابی ماندگاری آن‌ها و نیز تعیین فاصله زمانی لازم برای کشت گیاهان تناوبی حساس به باقیمانده آنها محسوب می شوند (۱۹). بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون داده‌های حاصل از این

آزمایش، روند تجزیه متری‌بیوزین در هر دو خاک از معادله سینیتیکی درجه اول پیروی می‌کرد (جدول ۳) که در تطابق با نتایج سایر محققین در این زمینه بود (۸ و ۱۹). بر مبنای نتایج حاصل، نیمه عمر متری‌بیوزین در خاک غیرسترون و بدون کاربرد ماده آلی ۸۵/۷ روز بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه‌عمر آن از ۸۵/۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸۰، ۵۷/۸، ۳۸ روز شد و DT90 آن را نیز از ۲۸۴/۲ روز در خاک شاهد به ۱۵۸/۷، ۱۹۰/۲ و ۱۲۶/۵ روز کاهش داد (جدول ۳). از سوی دیگر نیمه عمر متری‌بیوزین در خاک سترون‌شده و بدون کاربرد کود گاوی ۸۰/۵ روز بود و با کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد مواد آلی نیمه عمر آن به۹۱، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳ روز تغییر یافت (جدول ۳).

جدول ۳- پارامترهای برآورده شده توسط معادله سینیتیکی درجه اول و طول عمر متری‌بیوزین در تیمارهای مختلف آزمایش

Table 3- The parameters that predicted by first order kinetic equation and persistence metribuzin in experimental treatments

نوع خاک (Soil type)	موادآلی(درصد) Organic matter(%)	DT90 (Day) (روز)	DT50 (Day) (روز)	C0	K (میلی‌گرم در کیلوگرم در روز) K(mg/kg/day)	سطح احتمال Probability level	R2
سترون شده (Steriled)	0	277.4	80.5	86.49(4.25)	0.0083(0.0017))*	0.004	0.93
	1	302.9	91	90.83(3.14)	0.0076(0.0011)	0.0011	0.95
	5	164.4	49.5	95.08(2.89)	0.014(0.0001)	0.0001	0.98
	10	170.5	51.3	103.61(5.03)	0.0135(0.0014)	0.0014	0.96
سترون نشده (Non steriled)	0	284.2	85.5	85.84(6.37)	0.0081(0.0025)*	0.022	0.72
	1	158.7	47.8	92.27(3.35)	0.0145(0.0017)	0.0003	0.96
	5	190.2	57.2	87.92(7.60)	0.0121(0.0035)	0.0181	0.82
	10	126.5	38	98.85(4.34)	۰0.018(0.0008)	0.0006	0.96

*خطای استاندارد

*standard error

به ترتیب نمایانگر مدت زمانی است که ۵۰ و ۹۰درصد علف کش تجزیه می شود.DT90 وDT50

DT50 and DT 90, respectively, represent 50 and 90 percent of the time the herbicide is decomposed.

غلظت اولیه متری بیوزین (درصد)C0 ضریب تجزیه متری بیوزین (میلی گرم در کیلوگرم در روز) وK

K coefficient of metribuzin degradation (mg per kg per day) and C0 initial concentration of metribuzin (%)

هر چند که بر اساس مطالعات انجام شده تجزیه زیستی در مقایسه با تجزیه شیمیایی نقش مهم تری را در سرنوشت متری بیوزین دارد ولی عدم مشاهده این موضوع در نیمه عمرهای حاصل از تجزیه شیمیایی و زیستی در این مطالعه ، ممکن است ناشی از کمبود جمعیت میکروبی خاک مورد مطالعه باشد. در این ارتباط سایر دانشمندان نیز در تحقیقات خود به نقش فرایندهای شیمیایی در تجزیه متری بیوزین اشاره کرده‌اند. خوری و همکاران (۱۴) در بررسی تجزیه زیستی و شیمیایی متری بیوزین، با مشاهده تجزیه متری بیوزین در خاک سترون‌شده بیان کردند که تجزیه شیمیایی از عوامل موثر در تجزیه متری‌بیوزین در خاک است. نامبردگان نیمه‌عمر حاصل از تجزیه شیمیایی متری‌بیوزین را در خاک رسی مورد مطالعه، ۱۰۷ روز و در خاک لوم شنی ۱۴۴روز گزارش کردند. در آزمایشی که توسط ساواج (۱۷) به منظور بررسی تجزیه متری‌بیوزین در خاک سترون ، غیرسترون و خاک آمیخته‌شده به دو درصد گلوکز به عنوان ماده‌آلی در نمونه‌های مربوط به خاک سطحی و زیر سطحی، انجام شد، مشاهده شد که در خاک زیر سطحی بر خلاف خاک سطحی، سرعت تجزیه متری‌بیوزین در دو خاک سترون و غیرسترون اختلاف معنی‌داری نداشت. بر اساس گزارش نامبرده، اضافه کردن ۲ درصد ماده آلی، تجزیه متری‌بیوزین را در خاک سطحی و زیر سطحی سترون‌شده و غیرسترون فاقد گلوکز افزایش داد. اما تاثیر آن در خاک سطحی سترون‌نشده بمراتب بیشتر بود. نامبرده علت این مساله را جمعیت بالای ریزجانداران تجزیه‌کننده متری‌بیوزین در خاک سطحی سترون‌نشده گزارش کردند. با توجه به نتایج این بررسی مشاهده شد که هر چند نیمه عمر متری‌بیوزین در خاک سترون‌شده و خاک سترون‌نشده زمانی که هیچ گونه کود آلی به آن اضافه نشده بود، اختلاف چندانی با هم نداشتند اما کاهش معنی‌دار آن در خاک سترون‌نشده با افزایش کود آلی نشان از تاثیرگذار بودن تجزیه زیستی متری‌بیوزین در خاک دارد. در این ارتباط روند تغییرات سرعت تجزیه متری‌بیوزین نیز بیانگر این واقعیت است. بطوری‌که، کاربرد ۱، ۵ و۱۰ درصد کود دامی منجر به افزایش ضریب تجزیه متری‌بیوزین از ۰/۰۰۸۱ به ۰/۰۱۴۵، ۰/۰۱۲۱و ۰/۰۱۸۲ میلی‌گرم متری‌بیوزین در کیلوگرم خاک در روز در خاک غیرسترون شد. حال اینکه در خاک سترون‌شده با کاربرد کود آلی در سطوح مذکور سرعت تجزیه را از ۰/۰۰۸۳ به ۰/۰۰۷۶، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۱۳۵ افزایش یافت (جدول ۳). در

خاک غیرسترون، کاربرد ۱۰ درصد کود آلی و در خاک سترون‌شده کاربرد ۵ درصد کود آلی بیشترین تاثیر را در کاهش نیمه‌عمر علف‌کش در مقایسه با خاک بدون ماده آلی (به ترتیب از ۸۵/۵۷ روز به ۳۸ روز در خاک غیرسترون و از ۸۳/۵ روز به ۴۹/۵ روز در خاک سترون‌شده) داشت، اهمیت مواد آلی در تجزیه زیستی و شیمیایی متری‌بیوزین و سایر علف‌کش‌ها، در مطالعات سایر محققین نیز گزارش شده است. خوری و همکاران (۱۳) در آزمایشی که به منظور بررسی نقش مواد آلی در تجزیه متری‌بیوزین در خاک انجام دادند، گزارش کردند که با افزایش ماده آلی، نیمه‌عمر متری‌بیوزین به صورت صعودی کاهش پیدا کرد. بطوری‌که کاربرد کودآلی از صفر درصد به ۲۵، ۵۰،۷۵ و ۱۰۰ درصد منجر به کاهش نیمه‌عمر علف‌کش از ۱۵/۴ به ۱۲/۴، ۹/۶، ۷و ۳/۱ روز شد. دنیس و نیلور (۵) در آزمایشی تاثیر پالاینده‌های آلی گلوکز، کاه گندم و بقایای خشک یونجه را بر تجزیه متری‌بیوزین مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که در ابتدا سرعت تجزیه در تیمارهای حاوی گلوکز و کاه گندم با هم برابر بود اما دو الی سه هفته بعد سرعت تجزیه در تیمار حاوی گلوکز بیشتر بود، بطوریکه فقط ۱ و ۰/۱ درصد از میزان اولیه کاربرد متری‌بیوزین به ترتیب بعد از ۸ و۱۲ هفته خوابانیدن باقی ماند و این مقادیر برای خاک بدون ماده آلی به ترتیب ۱۶و ۶ درصد بود.

در تیمار حاوی کاه گندم نیز ۸ درصد از متری‌بیوزین اولیه بعد از ۸ هفته باقی ماند. کاربرد بقایای خشک یونجه باعث کاهش تجزیه متری‌بیوزین شد بطوریکه نیمه عمر آن (۴۲ روز) در مقایسه با شاهد (۱۲ روز) دو برابر شد. این محققان ضمن اشاره به اهمیت افزودنی‌های آلی در تجزیه متری‌بیوزین، اظهار داشتند که نوع و ماهیت پالاینده‌آلی نقش موثری در روند تجزیه آن دارد.

بطور کلی نتایج این آزمایش ضمن اینکه نشان از تاثیر گذاربودن تجزیه شیمیایی و بخصوص تجزیه زیستی در تجزیه متری‌بیوزین در خاک دارند. نشان می دهند که تاثیر سطوح مختلف کود آلی در افزایش تجزیه و کاهش باقیمانده متری‌بیوزین، احتمالا از طریق فراهم‌کردن بستر مناسب برای رشد و فعالیت ریزموجودات تجزیه کننده در تجزیه زیستی و تسریع واکنش‌های شیمیایی در تجزیه شیمیایی موثر است و این مساله بخصوص برای خاک های کشورمان که دارای مواد آلی کمی هستند اهمیت دارد. با این حال با توجه به عوامل متعدد تاثیرگذار بر سرنوشت علف‌کش‌ها، در مطالعات آتی انجام مطالعات مزرعه‌ای و مقایسه نتایج حاصل از آنها با نتایج آزمایش‌های کنترل‌شده و هم چنین بررسی روش‌های مختلف برای مطالعه تجزیه شیمیایی پیشنهاد و تاکید می شود.

منابع

1- Accinelli C., Dinelli G., Vicari A., and. Catizone P. 2001. Atrazin and metolachlor degradation in subsoils, Biology and Fertility of Soils 33: 495-500.
2- Briceno G., and Palma C. 2007. Influence of Organic Amendment on the Biodegradation and Movement of Pesticides, Environmental Science and Technology 37: 233–271.
3- Dennis R.P., and Naylor D. 1985. Metribuzin degradation kinetics in organically amended soil, Weed Science 3: 267-270.
4- Fan M. 2009. Fate and transport of herbicides in a sandy soil in the presence of antibiotics in poultry manures. M. S. Thesis, Mc Gill University, Montreal, Quebec.
5- Fogg P., and Boxall A.B. 2003. Degradation of pesticides in biobeds: the effect of concentration and pesticide mixtures, Agricultural and Food Chemistry 51: 5344-5349.
6- Fuscaldo F., Bedmar F., and Monterubbianesi G. 1999. Persistance of atrazine, metribuzin and simazine herbicides in two soils, Pesquisa Agropecuaria Brasileira 34: 2037-2044.
7- Gaultier J., Farenhorst A., Cathcart J., and Goddard T. 2008. Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content, Soil Biology and Biochemistry 40: 217-227.
8- Henriksen T., Svensmark B., Juhler R.K. 2002. Analysis of Metribuzin and transformation products in soil by pressurized liquid extraction and liquid chromatographic-tandem mass spectrometry. Chromatography 957: 79-87.
9- Henriksen T., Svensmark B., Juhler R. K. 2004. Degradation and Sorption of Metribuzin and Primary Metabolites in a Sandy Soil, Environmental Quality 33: 619-627.
10- Hyzak D. ., and Zimdah R.L. 1974. Rate of degradation of metribuzin and two analog in soi, l. Weed Science 22: 75-79.
11- Izadi Darbandi E. 2008. Evaluation persistence of atrazine in the laboratory and farm, and the effect of it on soil microbial activity and agricultural ecosystems. PhD thesis, Mashhad Ferdowsi University.
12- Kadian N., Gupta A., Satya S., Kumari Mehta R., and Malik A. 2007. Biodegradation of herbicides (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials, Bioresour Technology 99: 4642-4647.
13- Khoury R., Geahchan A., Coste C.M., Cooper J.F., and Bobe A. 2003. Retention and degradation of metribuzin in, sandy loam and clay soils of Lebanon, Weed Research 43: 252-259.
14- Khoury R., Geahchan A., Coste C.M., and Antoun M.A. 2001. The behavior of pesticide in soils: The influence of

various environmental factors on the degradation of metribuzin,. Environment and Solar, Mediterranean Conference 34-39.
15- Kjaer J., Olsen P., Sjelborg I., Fomsgaard B., Mogensen B., and Plauborg F. 2001. The Danish Pesticide Leaching Assessment Programme. GEUS Report, Geological Survey of Denmark and Greenland, Copenhagen.
16- Ratsch H.C., Johndro D.J., and Farlane J.C. 1986. Growth inhibition and morphological effects of several chemicals in *Arabidopsis thaliana* (L.) Henh, Environmental Toxicology and Chemistry 5: 55-60.
17- Savage K.E. 1977. Metribuzin persistence in soil, Weed science 25: 55–59.
18- Singh N. 2008. Biocompost from sugar distillery effluent: effect on metribuzin degradation, sorption and mobility, Pest Management Science 64:1057-1062.
19- Wang C.Y. 2002. Effect of glyphosate on tuber sprouting and growth of purple nutsedge (*Cyperus rotundu*s L.), Weed Technology 16: 477–481.
20- Zand A., This A., Mousavi K., and Heidari A. 2008. Herbicides and methods of their application optimization and reduce application approach. Jihad Daneshgahi, Mashhad Press.

Journal of Plant Protection
Vol. 34, No. 2, Summer 2020, P. 219-227

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۴، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹، ص. ۲۲۷-۲۱۹

Investigation of Biological and Chemical Degradation of Metribuzin in Soil and the Effect of Organic Manure on its Half- Life and its Degradation in Controlled Conditions

S.F. Fakhrerad[1]- E. Izadi Darbandi[2]*- M.H. Rashed Mohassel[3]- M. Hassanzadeh-Khayat[4]- H. Nassirli[5]

Received: 02-03-2016
Accepted: 01-05-2017

Introduction: persistence of herbicide in the environment is one of the most important consequences of the release of herbicide in the soil. This is more important particularly, in soil consumer herbicides such as metribuzin. Metribuzin is from the group of photosystem Π inhibitors and is widely used for controlling broadleaf weeds in many crops such as potatoes, tomatoes and wheat. According to available information, metribuzin has medium and high persistence in soil and the high potential for contaminating groundwater resources as well as damaging crops in the rotation. Therefore, using strategies for reducing harmful effect of this herbicide is essential. In this regard, attention to factors affecting the fate of herbicide such as evaporation, distillation, leaching, surface runoff, absorption by soil and plant matter and especially the role of chemical analysis and biodegradation is essential and has important role in management of persistence and remains of herbicide.

Materials and Methods: An experiment was conducted in completely randomized design with factorial arrangement and three replications. Treatments included the soil at two levels (sterile and non- sterile), cow manure amount at four levels (0, 1, 5 and 10 based on soil percentage weight), and soil incubation periods at 8 levels (0, 2, 4, 8, 16, 36, 64, 90 days). To perform the test, after preparing the soil to a depth of 0 to 10 cm from the place that has no history of using herbicide for at least 5 years, the soil samples were transferred the laboratory to determine the physiochemical properties. For Sterile soil, soil samples were taken at 121 ° C and 2.1 bar pressure in the autoclave for 45 minutes, and this was repeated three times. For contaminated soil to metribuzin, after preparing the soil, at interested different levels of organic fertilizers (including 50 g dry soil), the soil samples were contaminated with metribuzin at amount of 5 mg per kilogram of soil (the equivalent of 0.25mg metribuzin in 50 g soil). The sterile water at 75% field capacity soil was then added and the bottles were closed with vent aluminum paper and placed in the incubator in darkness at 27 ° C for 90 days. After leaving the soil samples at specific time periods, the extraction of metribuzin from the soil samples was stored in freezer at -25 °-C to be used for Hplc analyses.

Result: There was no difference in the several levels of organic matter. Extraction efficiency of metribuzin at levels of 1, 5 and 10% was, respectively, 92.52, 91.76 and 91.51 % compared with the control without the use of organic fertilizers (95.52). According to the results, degradation rate was more rapid in non-sterile soil, therefore, metribuzin soil residue was 59.12, 38.18 and 28.55 %, after 36, 64 and 90 days incubation period, respectively, in non-sterile soil relative to sterile soil. No significant differences in metribuzin residues in the soil, in the first days of incubation of soil samples, may be related to the lack of a history of herbicide application and need of compatibility of soil microorganisms to metribuzin. Using 1, 5 and 10 % of cow manure amendment to non-sterile soil, decreased metribuzin halflife from 85.57 days to 47.80, 57.28 and 38.08 days, respectively, and in sterile soil its half-life decreased from 83.51 to 91.03, 49.50 and 51.34 days, respectively. Khoury et al. reported that by increasing the organic matter, the half-life of metribuzin decreases. In this experiment, increasing the organic fertilizers from 0 to 25, 50.75 and 100% resulted in a reduction of half-life from 15.4 to 12.4, 9.6, 7 and 3.1 day, respectively.

Conclusion: According to the results of this experiment, addition of cow manure can increase metribuzin degradation in soil and decrease its half-life.

Keywords: Non-sterile, Persistence, Sterile soil

1, 2 and 3- Ph.D. Student, Associate Professor and Professor, Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: e-izadi@um.ac.ir)
4- Professor Faculty of Pharmacy, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
5- Pharmaceutical Research Center, Institute of Pharmaceutical Technology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran