نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵، ص. ۳۴۶-۳۳۷

Journal of Plant Protection
Vol. 30, No. 2, Summer 2016, P. 337-346

تأثیر بقایای علف‌کش پرومترین بر زیست‌توده میکروبی خاک و گیاهان زراعی مختلف از طریق زیست‌سنجی

محمدتقی آل ابراهیم[1*] - محمد مهدی‌زاده[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۶/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۰۴

چکیده

پرومترینیکی از علف‌کش‌های خانواده تریازین می‌باشد که به‌واسطه پایداری نسبتاً بالایش می‌تواند روی محصولات حساس در تناوب اثر پسمانی و سمیت داشته باشد. این مطالعه به صورت فاکتوریل و در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی (CRD) در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام در سال ۱۳۹۳ و به منظور ارزیابی حساسیت گیاهان زراعی کاهو، جو، کلزا و چغندرقند به بقایای مختلف علف‌کش پرومترین در خاک (۰، ۰/۰۰۳۳، ۰/۰۱۶۶، ۰/۰۳۳، ۰/۰۶۶، ۰/۱ و ۰/۱۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) انجام شد. ۳۰ روز پس از سبزشدن گیاهان، زیست‌توده اندام‌های هوایی و ریشه گیاهان مورد مطالعه اندازه‌گیری شد. جهت تحلیل نتایج آزمایش ضمن آنالیز واریانس داده‌ها، پاسخ گیاهان مورد آزمایش به بقایای علف‌کش پرومترین از طریق برازش داده‌های زیست‌توده ساقه به معادله‌های ۳ و ۴ پارامتری سیگموئیدی و محاسبه مقدار بقایای پرومترین برای ۵۰ درصد بازدارندگی رشد اندام‌های هوایی گیاهان انجام شد. در آزمایش دیگر نیز تأثیر غلظت‌های مختلف پرومترین (۰، ۰/۰۰۳۳، ۰/۰۱۶۶، ۰/۰۳۳، ۰/۰۶۶، ۰/۱ و ۰/۱۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بر فعالیت میکروبی خاک با استفاده از شاخص زیست توده میکروبی خاک و با روش تیتراسیون سود ارزیابی شد. نتایج آزمایش نشان داد که بقایای پرومترین در خاک تأثیر معنی‌داری بر جوانه زنی گیاهان نداشت ولی با افزایش غلظت پرومترین وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی همه گیاهان به‌طور معنی‌داری ($p<0.01$) کاهش پیدا کرد. پاسخ گیاهان مورد مطالعه به بقایای پرومترین در خاک متفاوت بود. کلزا با داشتن کمترین ED_{50} (۰/۰۱۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به عنوان حساس‌ترین گیاه و جو با داشتن بیشترین ED_{50} (۰/۰۲۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) به عنوان مقاوم‌ترین گیاه به بقایای پرومترین شناخته شدند. سایر گیاهان زراعی بر اساس شاخص مذکور از نظر حساسیت به بقایای پرومترین به صورت کلزا> کاهو>چغندرقند>جو طبقه‌بندی شدند. نتایج آزمایش تأثیر پرومترین بر زیست توده میکروبی خاک نشان داد که بقایای شبیه‌سازی شده پرومترین در خاک تأثیر منفی معنی‌داری بر زیست‌توده میکروبی خاک داشت ($p<۰/۰۱$). به طوری‌که با افزایش غلظت بقایای پرومترین، زیست‌توده میکروبی کربن، نیتروژن و زیست توده میکروبی خاک به طور معنی‌داری کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: تریازین، کلزا، ماندگاری، میکروارگانیسم، ED_{50}

مقدمه

به منظور حفاظت گیاهان زراعی در مقابل علف‌های هرز موجود در مزارع کشاورزی سالانه مقادیر بسیار زیادی از انواع علف‌کش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال قسمت عمده‌ای از این علف‌کش‌ها پس از کاربرد، وارد محیط زیست و به ویژه محیط خاک می شوند (۳۴). با توجه به عواملی از قبیل سیستم‌های خاکورزی، شرایط اقلیمی و خاکی، تنها بخش کوچکی از علف‌کش‌های بکار رفته در مزارع کشاورزی در دسترس گیاهان هدف قرار گرفته و مابقی آن ضمن حضور در محیط خاک ممکن است برای محصولات زراعی موجود در تناوب‌های بعدی اثرات نامطلوبی به دنبال داشته باشد. لذا توجه به میزان بقایای علف‌کش‌های موجود در خاک‌های زراعی، سرعت تجزیه و انتقال آن‌ها در خاک، هم در میزان موفقیت عملیات کشاورزی و هم در حفظ سلامت اکوسیستم‌های زراعی و محیط زیست، امری مهم و اجتناب‌ناپذیر به شمار می‌رود (۲۵ و ۲۶).

علی‌رغم قدمت زیاد، تریازین‌ها از مهم‌ترین و پرکاربردترین علف‌کش‌ها می‌باشند که به خاطر ویژگی‌هایی از جمله طیف وسیع کنترل علف‌های هرز و طولانی بودن دوره کنترل در بسیاری از نقاط دنیا (۲۴) و ایران مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این حال بیشتر آن‌ها پس از مصرف در خاک به‌صورت فعال باقی می‌مانند. این علف‌کش‌ها

۱ و ۲- دانشیار و دانشجوی دکترای علوم علف‌های‌هرز، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی
(*- نویسنده مسئول: Email: m.t.alebrahim@gmail.com)

بازدارنده فتوسنتز در محل فتوسیستم II در گیاهان حساس می‌باشند (۳۲) و به عنوان علف‌کش‌های با ماندگاری بالا در خاک‌های کشاورزی شناخته شده‌اند (۳). پرومترینیک علف‌کش انتخابی از خانواده شیمیایی تریازین‌های متقارن می‌باشد که امروزه به طور وسیعی به‌صورت پیش‌رویشی برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ و برخی باریک برگ‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که بقایای پرومترین در خاک، آب‌های سطحی و زیرزمینی ردیابی شده است (۱۹). این علف‌کش‌ها از طریق ریشه‌های گیاهچه‌های در حال ظهور علف‌های هرز جذب شده و سپس فرآیند انتقال الکترون فتوسنتزی را در برگ‌ها متوقف نموده و منجر به زرد شدن و مرگ آنها می‌شوند (۳۳). هندرسون و وبر (۷) در مطالعه‌ای که به منظور ارزیابی اثرات بقایای تعدادی از علف‌کش‌های پیش‌رویشی و پس‌رویشی بر لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) اجرا کردند مشاهده نمودند که پرومترین در دوزهای مورد نیاز برای کنترل مؤثر علف‌های هرز منجر به مرگ سریع لوبیا در روزهای ابتدایی پس از کاربرد علف‌کش و متعاقب آن منجر به کاهش معنی‌داری در عملکرد لوبیا شده است، از این رو گیاه لوبیا را به عنوان یک گیاه حساس به بقایای پرومترین در خاک در نظر گرفتند. با استفاده از روش‌های آنالیز شیمیایی از قبیل کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography (GC)) و کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography (HPLC)) می‌توان محتوای کلی ماده مؤثره علف‌کش‌های موجود در خاک در زمان کاربرد و یا چندین هفته پس از کاربرد را اندازه‌گیری نمود (۱۴). با استفاده از این روش‌ها اطلاعاتی در خصوص وجود یا عدم وجود بقایای علف‌کش‌ها در خاک در بازه‌های زمانی مختلف، محتوا و ماهیت بقایا و نوع مولکول‌های شیمیایی موجود در بقایا به دست می آید، با این حال نمی‌توان هیچ گونه اطلاعاتی در خصوص تعیین اثرات اکولوژیکی نامطلوب بقایای علف‌کش‌های موجود در خاک بر روی گیاهان غیرهدف و همچنین میکروارگانیسم‌های مفید به دست آورد (۱). از این رو می توان با استفاده از روش‌های زیست سنجی، اثرات خسارت‌زایی بقایای موجود در خاک بر اساس میزان کاهش زیست توده ریشه و یا اندام‌های هوایی گیاهان شاخص در پاسخ به بقایای علف‌کش موجود در خاک اندازه‌گیری نمود (۴، ۲۸ و ۳۰). از این رو استفاده از روش‌های تجزیه‌ای شیمیایی و روش زیست‌سنجی مکمل یکدیگر بوده و به طور بسیار مؤثری می‌توانند در تشخیص کمی و کیفی بقایای علف‌کش‌ها در خاک به ما کمک کند.

او و همکاران (۱۸) در مطالعه‌ای به منظور ارزیابی استفاده از روش‌های زیست‌سنجی و تجزیه دستگاهی (HPLC) برای تعیین بقایای سیمازین در آب، دریافتند که کارایی روش زیست‌سنجی در حدود ۹۶ تا ۱۰۰ درصد بوده که در مقایسه با روش HPLC (۹۸ تا ۱۰۰ درصد) اختلاف چندانی نداشته است. در مطالعه‌ای که توسط جتنر و همکاران (۱۲) به‌منظور بررسی پاسخ ۲۲ گیاه زراعی و علف‌هرز به بقایای شبیه‌سازی شده آترازین انجام شد، مشاهده شد که علف قناری (*Phalaris minor* Retz.)، جو (*Hordeum vulgare* L.)، چاودار (*Secale cereal* L.)، شبدر (*Trifolium repens* L.)، آفتاب‌گردان (*Helianthus annuus* L.) و گندم (*Triticum aestivum* L.) به ترتیب حساس‌ترین گیاهان بودند. نامبردگان ضمن اشاره به اینکه حساسیت علف قناری نسبت به سورگوم (*Sorghum bicolor* L.) ۵۰ برابر بود گزارش کردند که بقایای آترازین در علف‌های هرز حساسی مانند علف قناری در کنترل مؤثر آنها نقش مهمی دارد، ضمن اینکه تناوب محصولات حساسی مانند جو و گندم را نیز با مشکل مواجه خواهد کرد. ایزدی و همکاران (۱۰) در مطالعه‌ای به منظور ارزیابی حساسیت گیاهان زراعی مختلف به بقایای آترازین در خاک، دریافتند که بقایای آترازین در غلظت‌های مختلف، تأثیر معنی‌داری بر کاهش زیست‌توده گیاهان مورد مطالعه داشته است و پیاز (*Allium cepa* L.) و کلزا (*Brassica napus* L.) حساس‌ترین گیاهان به بقایای آترازین در خاک بوده‌اند. جاوریکووا و همکاران (۱۱) در مطالعه تأثیر پرومترین و بنومیل بر فعالیت‌های میکروبی خاک دریافتند که کاربرد این ترکیبات شیمیایی اثرات منفی معنی‌داری بر تعداد باکتری‌های گرم مثبت، اکتینومایست‌ها و قارچ‌های خاکزی داشته است. به‌طور کلی مطالعاتی که به طور دقیق ماندگاری و تجزیه پرومترین را در خاک‌های کشور مورد بررسی قرار داده و اثرات بقایای آن را بر جوامع میکروبی و گیاهان حساس در تناوب‌های زراعی مختلف مطالعه نمایند بسیار اندک است و در حال حاضر تحقیقاتی که پایداری این علف‌کش را در خاک‌ها و مناطق مختلف کشور بررسی نماید وجود ندارد. لذا این مطالعه با هدف ارائه پاسخ مناسب در مورد اثرات سوء بقایای علف‌کش پرومترین بر زیست‌توده میکروبی خاک و گیاهان زراعی در تناوب و برنامه‌ریزی به‌منظور کاهش این اثرات بر گیاهان غیرهدف اجرا شد.

مواد و روش‌ها

زیست‌سنجی بقایای پرومترین

به منظور ارزیابی تأثیر بقایای پرومترین بر گیاهان زراعی، در سال ۹۳ آزمایشی گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. گیاهان شاخص مورد بررسی در این آزمایش شامل کلزا (*Brassica napus* L.)، جو (*Hordeum vulgare* L.)، کاهو (*Lactuca sativa* L.) و چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) بود که وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی آنها در پاسخ به غلظت های ۰، ۰/۰۰۳۳، ۰/۰۱۶۶، ۰/۰۳۳، ۰/۰۶۶، ۰/۱ و ۰/۱۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک (که به ترتیب معادل ۰، ۱، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۵۰ درصد مقدار توصیه شده علف کش پرومترین (۸۳۰ گرم

در هکتار) در خاک بودند) مورد ارزیابی واقع شد. آزمایش در محیط کنترل شده گلخانه با تنظیم ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در طول روز و اعمال دمای ۱± ۱۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. خاک مورد آزمایش از مزرعه‌ای که به مدت ۳ سال سابقه کاربرد هیچ گونه علف‌کشی را نداشت برداشت شده و سپس به نسبت‌های مساوی با شن و خاکبرگ اختلاط یافت. جهت تهیه غلظت‌های مورد نظر ابتدا محلول مادر ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر پرومترین تهیه شده و سپس بقیه غلظت‌ها از رقیق نمودن محلول مادر تهیه شد.

جهت اختلاط یکنواخت غلظت‌های مورد نظر پرومترین با خاک، ابتدا یک کیلوگرم از خاک برای هر غلظت علف‌کش منظور شده و سپس حجم محاسبه شده محلول پرومترین برای غلظت مورد نظر با استفاده از بورت مدرج به سطح خاک افزوده شد. پس از تبخیر حلال (آب) از سطح خاک، علف‌کش به طور کامل با خاک مخلوط شده با بخش‌های دیگر خاک مربوط به هر غلظت کاملاً اختلاط یافته و به گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتی‌متر انتقال یافت (۹). تعداد ۱۰ تا ۱۵ عدد بذر گیاهان شاخص مورد مطالعه، بسته به نوع گونه زراعی در عمق مناسبی در گلدان‌ها کاشته شد. سپس گلدان‌ها به طور تصادفی در فضای گلخانه قرار گرفته و در طول آزمایش به صورت یکنواخت و با لحاظ قرار دادن ممانعت از آبشویی پرومترین آبیاری به میزان مورد نیاز صورت گرفت.

هفت روز پس از سبز شدن گیاهان و در مرحله ۲ تا ۳ برگی، تراکم آنها به ۵ بوته در هر گلدان تنظیم شد و پس از طی ۳۰ روز، برداشت شده ریشه از اندام‌های هوایی جدا شده و به منظور تعیین وزن خشک آنها بطور مجزا در آونی با تنظیم دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت حرارت داده شدند. سپس وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان مورد بررسی با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت یک هزارم توزین شد.

تحلیل آماری

آنالیز واریانس داده‌ها برای تعیین اختلاف بین تیمارها با استفاده از نرم افزار MSTAT-C نسخه ۱۰-۲ و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. رگرسیون غیرخطی با استفاده از نرم افزار R و برای تعیین دوز مؤثر پرومترین برای کاهش ۵۰ درصد زیست‌توده ریشه و اندام هوایی از طریق برازش داده‌های به دست آمده به معادلات ۳ و ۴ پارامتری لجستیکی (معادلات ۱ و ۲) نسبت به زیست‌توده تولید شده گیاهان شاخص انجام و در تحلیل نتایج بکار گرفته شد. این معادلات به شرح زیر است:

$$f(x,(b,c,d,e)) = c + \frac{d-c}{1+\exp\{b(\log(x)-\log(e))\}} \qquad (۱)$$

در این معادله b شیب منحنی، c حد پایین منحنی (پاسخ زیست‌توده گیاه، زمانی که باقیمانده علف‌کش حداکثر است)، e غلظتی از علف‌کش که سبب کاهش ۵۰ درصدی در مقدار پاسخ می شود، d حد بالای منحنی (پاسخ وقتی که باقیمانده علف‌کش در خاک به سمت صفر میل می‌کند) و e غلظتی از علف‌کش می‌باشد که سبب ۵۰ درصد کاهش در مقدار پاسخ می‌شود. در مواردی که در معادله فوق پارامتر c از نظر آماری معنی‌دار نشد آن‌را از معادله حذف نموده و معادله ۳ پارامتری سیگموئیدی (معادله ۲) برای برازش داده‌های حاصل مورد استفاده قرار گرفت (۲۷).

$$f(x,(b,d,e)) = c + \frac{d}{1+\exp\{b(\log(x)-\log(e))\}} \qquad (۲)$$

سپس با استفاده از این معادله مقادیر ED_{50} پرومترین در گیاهان مورد مطالعه محاسبه و در تحلیل نتایج آزمایش به‌کار گرفته شد.

اندازه‌گیری تأثیر پرومترین بر زیست‌توده میکروبی خاک

در این آزمایش تأثیر پرومترین بر فعالیت میکروبی خاک با استفاده از شاخص زیست‌توده میکروبی خاک و با روش تیتراسیون سود (NaOH) (تثبیت CO_2 در سود) ارزیابی شد (۸). برای این منظور پس از تهیه نمونه خاکی از مزرعه و آماده‌سازی آن در آزمایشگاه، غلظت‌های مختلف پرومترین به نسبت‌های ۰، ۰/۰۰۳۳، ۰/۰۱۶۶، ۰/۰۳۳، ۰/۰۶۶، ۰/۱ و ۰/۱۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، از حلال متانول تهیه و با صد گرم خاک به طور کامل مخلوط شده و در داخل ظروف پلاستیکی یک‌بار مصرف ریخته و نمونه‌های مذکور در داخل انکوباتور و در شرایط تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و زیست‌توده میکروبی با استفاده از روش تیتراسیون سود به شرح زیر اندازه‌گیری شدند. در تمام طول آزمایش رطوبت تیمارها در حد ظرفیت زراعی نگهداشته شد. قبل از مخلوط نمودن نمونه‌های خاک با پرومترین با نسبت‌های مذکور، نمونه‌های صد گرمی خاک توزین و به مدت یک هفته در داخل انکوباتور در شرایط تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت در حد ظرفیت زراعی نگهداری شدند تا فعالیت میکروبی آن‌ها شروع گردد (۱۷).

تشریح روش تیتراسیون سود

در هر بار آزمایش، دو سری خاک به وزن ۵۰ گرم انتخاب و و یک سری توسط کلروفرم به مدت ۲۴ ساعت در داخل دسیکاتور تدخین و قبل از غوطه‌ور کردن آنها در محلول سود و کلرید باریوم خاک‌های تدخین شده و تدخین نشده با ۱۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون خاک تازه تلقیح شد (۱۷). رطوبت نمونه‌ها با استفاده از آب مقطر به ظرفیت زراعی رسانده شد. سپس به داخل بشر شیشه ای ۷۵ میلی-لیتری انتقال یافته و بشر و محتوای آن درون ظروف پلاستیکی استوانه‌ای حاوی صد میلی‌لیتر سود (NaOH) ۰/۰۵ نرمال و ده میلی-لیتر کلرید باریوم ۰/۵ مولار قرار گرفت. بلافاصله درب ظروف بسته و

برای جلوگیری از احتمال خروج کربن دی‌اکسید متصاعد شده از خاک، روزنه‌های احتمالی اطراف درب ظروف پلاستیکی با استفاده از پارافیلم پوشانده شد. پس از طی ۳ روز محلول موجود در ظروف با استفاده از اسید کلریدریک ۰/۰۵ نرمال تیتر شده و برای محاسبه زیست‌توده میکروبی از معادله ۳ استفاده شد.

$$MB = \frac{(Co2f - Co2nf)}{K} \quad (۳)$$

که در آن CO_2f کربن دی‌اکسید حاصل از تنفس در خاک تدخین شده، CO_2nf کربن دی‌اکسید حاصل از تنفس میکروبی در خاک تدخین نشده و K ضریب معادله که مقدار آن ۰/۴۱ می‌باشد (۸).

نتایج و بحث

تأثیر پرومترین بر جوانه‌زنی گیاهان

جوانه‌زنی گیاهان مورد مطالعه تحت تأثیر بقایای پرومترین در خاک قرار نگرفت و علائم خسارت پس از سبز شدن و استقرار گیاهان مشاهده شد. به‌طوری‌که در همه‌ی غلظت‌های مورد مطالعه برای پرومترین، درصد سبز شدن گیاهان اختلاف چشمگیری با تیمار عدم کاربرد پرومترین نداشت. از آنجایی که پرومترین از بازدارندگان فتوسنتز در محل فتوسیستم II می‌باشد و به صورت بازدارنده انتقال الکترون در جریان فتوسنتز عمل می‌کند، لذا حصول نتیجه فوق چندان دور از انتظار نیست و انتظار بر این است که خسارت پرومترین پس از سبز شدن گیاه و با شروع عمل فتوسنتز در گیاه آغاز شود (۲). در این ارتباط رانفت و همکاران (۲۳) در مطالعه‌ای که به منظور بررسی اثرات سمیت بقایای علف‌کش تریکلوپیر بر گیاهان شلغم (*Brassica rapa* L.)، کلزا، هویج (*Daucus carota* L.) و کاهو (*Lactuca sativa* L.) انجام دادند، دریافتند که بقایای این علف‌کش تأثیر معنی‌داری بر سبز شدن گیاهان مذکور نداشت و سبز شدن در همه گیاهان بیش از ۹۰ درصد بود. در همین راستا ایزدی و همکاران (۱۰) در بررسی تاثیر بقایای آترازین بر گیاهان زراعی عدس (*Lens culinaris* Medik)، نخود (*Cicer arietinum* L.)، گندم، جو، کلزا، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill)، پیاز و لوبیا گزارش کردند که بقایای آترازین در خاک تأثیر چندانی بر جوانه‌زنی و سبز شدن گیاهان مذکور نداشت.

تأثیر بقایای پرومترین بر زیست‌توده گیاهان مورد مطالعه

علائم خسارت پس از جوانه‌زنی و در طی ۷ تا ۱۰ روز پس از کاشت بذور، در ابتدا به صورت کلروز برگی و به دنبال آن سوختگی شدید برگ‌ها و مرگ گیاهان بسته به میزان غلظت علف‌کش مشاهده شد. نتایج نشان دادند همه گیاهان مورد بررسی تحت تأثیر بقایای پرومترین قرار گرفته و روند کاهش زیست‌توده ریشه و اندام‌های هوایی گیاهان با افزایش غلظت پرومترین در خاک افزایش یافت. بقایای علف‌کش پرومترین در غلظت‌های ۰/۰۰۳۳ تا ۰/۱۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بطور معنی‌داری ($p<0/01$) زیست‌توده ریشه و اندام‌های هوایی همه گیاهان مورد مطالعه را کاهش داد (جدول ۲). بر اساس نتایج حاصل درصد تلفات وزن خشک ریشه و اندام‌های هوایی با افزایش غلظت بقایای پرومترین در خاک افزایش یافت، به‌طوری‌که در غلظت ۰/۰۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک و غلظت‌های بیشتر از آن، زیست‌توده ریشه گیاهان مورد مطالعه به صفر رسید. در این مطالعه زیست‌توده ریشه گیاهان مورد بررسی از حساسیت بالاتری نسبت به زیست‌توده اندام‌های هوایی برخوردار بود به طوری‌که در غلظت های بیش از ۰/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک، زیست‌توده اندام‌های هوایی گیاهان به صفر رسید (جدول ۳). ارتباط مستقیم ریشه گیاهان مورد بررسی با مولکول‌های علف‌کش موجود در خاک می‌تواند یکی از دلایل تأثیرپذیری بیشتر ریشه نسبت به ساقه و اندام‌های هوایی باشد. در بین گیاهان مورد بررسی تأثیرپذیری ریشه کلزا نسبت به اندام‌های هوایی بیشتر از سایر گیاهان بود (جدول ۳). بر اساس یافته‌های حاصل از آزمایش، پاسخ گیاهان مورد بررسی به بقایای شبیه‌سازی شده پرومترین از رابطه لجستیک پیروی می‌کند که در تطابق با سایر مطالعات انجام شده در این ارتباط است (۶ و ۲۷).

جدول ۱- تأثیر بقایای پرومترینبر جوانه زنی بذور گیاهان مورد مطالعه

Table 1- Effect of prometryn residues on crops seed germination

پرومترین (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) Prometryn (mg. kg^{-1}soil)	جوانه زنی (درصد) Germination (%)			
	چغندرقند Beet	کاهو Lettuce	کلزا Rapeseed	جو Barley
0	93	87	94	85
0.0032	91	85	95	81
0.0166	93	85	91	83
0.033	89	87	92	78
0.066	90	83	91	80
0.1	87	84	89	81
0.166	89	88	90	78

در مطالعات مربوط به زیست‌سنجی بقایای علف‌کش‌ها در خاک، رشد ریشه گیاهان مورد مطالعه از شاخص‌های بسیار تأثیرگذار در ارزیابی حساسیت گونه‌ها به بقایای علف‌کش‌ها و تعیین مقادیر احتمالی بقایای آنها قلمداد می‌شود. در این ارتباط هالووی و همکاران (۶) در ارزیابی تأثیر بقایای مت‌سولفورون متیل بر گیاه عدس با استفاده از روش زیست‌سنجی مشاهده نمودند که حساسیت رشد ریشه عدس به بقایای علف‌کش مذکور شاخص مناسبی برای تعیین بقایای احتمالی علف‌کش بوده است. بر اساس گزارش نامبردگان با وجود عدم تشخیص بقایای علف‌کش مذکور با استفاده از روش‌های تجزیه دستگاهی، روش زیست‌سنجی ریشه عدس شاخص مطلوبی در تعیین بقایای مت‌سولفورون متیل بود. اشماگیلسکی و همکاران (۳۱) در ارزیابی روش زیست‌سنجی ریشه خردل در تعیین بقایای احتمالی علف‌کش فلوکاربازون گزارش کردند که این روش نسبت به روش تجزیه شیمیایی در تعیین بقایای علف‌کش مذکور روش مؤثرتری بوده است، به‌طوری‌که بر اساس ارزیابی نامبردگان روش زیست‌سنجی ریشه خردل بیش از ۸۸ درصد نتایج قابل قبول را در تعیین بقایای احتمالی فلوکاربازون دارد. نتایج حاصل از این مطالعه نیز ضمن اینکه نشان از اختلاف در حساسیت ریشه و ساقه گیاهان مورد بررسی به بقایای پرومترین در خاک دارد، نشان می‌دهد که احتمالاً ارزیابی زیست‌سنجی پرومترین با استفاده از ریشه کلزا و کاهو نسبت به سایر گیاهان مذکور مناسب‌تر باشد.

با توجه به روند تغییرات زیست‌توده تولید شده به نظر می‌رسد که در بین گیاهان مذکور کلزا حساس‌ترین گیاه به بقایای پرومترین در خاک باشد و پس از آن کاهو، چغندر قند و جو به ترتیب بیشترین حساسیت و کاهش در زیست‌توده ریشه و اندام‌های هوایی را متناسب با افزایش غلظت پرومترین در خاک داشتند (جداول ۳ و ۴). در مطالعات دیگر نیز به حساسیت بالای کلزا به بقایای علف‌کش‌ها در خاک اشاره شده است. منصوری و همکاران (۱۵) در آزمایشی به منظور تأثیر باقیمانده علف‌کش‌های سولفونیل‌اوره بر کلزا، مشاهده کردند که بقایای علف‌کش سولفوسولفورون در خاک منجر به خسارت‌زایی و کاهش عملکرد کلزا در تناوب با گندم می‌شود. به‌طوری‌که افزایش مقدار کاربرد آن از ۴۲ به ۵۲ گرم ماده مؤثره در هکتار، تلفات عملکرد کلزا را از ۱۳/۵ به ۱۷/۵ درصد افزایش داد. با این حال بسته به نوع گیاه زراعی تفاوت‌هایی در حساسیت یا تحمل نسبت به پرومترین در خاک وجود دارد. فیشر و همکاران (۵) در ارزیابی پاسخ تنباکو و بادام‌زمینی به بقایای علف‌کش‌های پرومترین و دایوران مشاهده کردند که بقایای پرومترین در مقدار کاربرد ۷۴۰ و ۱۳۴۰ گرم ماده مؤثره در هکتار تأثیر معنی‌داری بر شاخص‌های رشدی، عملکرد و کیفیت گیاهان مذکور نداشت. لذا با توجه به عدم حساسیت گیاهان مذکور به بقایای پرومترین در خاک نمی‌توان از آنها به عنوان شاخصی برای ارزیابی بقایای این علف‌کش در خاک‌های کشاورزی استفاده نمود. خان و همکاران (۱۳) مشاهده نمودند که بقایای آترازین، ایزوپروتورون و متریبیوزین به طور معنی‌داری منجر به کاهش وزن خشک گیاه ماش (*Vigna radiate* L.) شد، به طوری‌که کمترین محتوای پروتئین دانه ماش در غلظت ۴۰۰ میکروگرم در کیلوگرم ایزوپروتورون به دست آمد.

در آزمون‌های زیست‌سنجی، استفاده از شاخص‌های Effective Dose (ED) و به ویژه ED_{50} از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی حساسیت گیاهان به بقایای علف‌کش‌ها بوده و طبقه‌بندی آنها بر این اساس صورت می‌گیرد (۶ و ۲۷). در این مطالعه مقادیر ED_{50} بسته به نوع محصول مورد بررسی با هم متفاوت بود. دوز مورد نیاز برای کاهش ۵۰ درصد زیست‌توده کلزا تقریباً در حدود ۰/۰۱۳۷ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود.

جدول ۲- آنالیز واریانس مربوط به وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان زراعی به بقایای پرومترین در خاک

Table 2- Analysis of variance related to crops shoot and root dry matter to prometryn soil residual

منابع تغییر SOV	درجه آزادی DF	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry matter	وزن خشک ریشه Root dry matter
گیاه زراعی (A) (Plant)	3	0.118**	0.036**
بقایای علف کش (B) (Herbicide residual)	6	0.284**	0.065**
A×B	18	0.014**	0.006**
خطا (Error)	56	0.001	0.002
ضریب تغییرات (٪) (CV)	–	10.35	15.72

**: معنی‌داری در سطح آماری ۱ درصد

**Significant in %1 level

جدول ۳- اثر بقایای علف کش پرومترین بر وزن خشک ریشه و اندام های هوایی گیاهان زراعی مورد مطالعه

Table 3- Effect of Prometryn residues on crops root and shoot dry matter

گیاه زراعی Crop	پرومترین(میلی گرم در کیلوگرم در خاک) Prometryn (mg. kg^{-1}soil)	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Shoot dry matter	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry matter
کلزا Rapeseed	0	0.190^{gh}	0.090^{def}
	0.0033	0.140^{hi}	0.066^{defg}
	0.0166	0.093^{ijk}	0.030^{fg}
	0.033	0.043^{kl}	0.011^{fg}
	0.066	0.006^{l}	0^{g}
	0.1	0^{l}	0^{g}
	0.166	0^{l}	0^{g}
چغندرقند Beet	0	0.320^{d}	0.123^{cde}
	0.0033	0.266^{e}	0.083^{defg}
	0.0166	0.186^{gh}	0.043^{efg}
	0.033	0.103^{ij}	0.013^{fg}
	0.066	0.020^{l}	0^{g}
	0.1	0^{l}	0^{g}
	0.166	0^{l}	0^{g}
کاهو Lettuce	0	0.423^{c}	0.200^{bc}
	0.0033	0.340^{d}	0.133^{cd}
	0.0166	0.253^{ef}	0.086^{defg}
	0.033	0.090^{ijk}	0.023^{fg}
	0.066	0.018^{l}	0^{g}
	0.1	0^{l}	0^{g}
	0.166	0^{l}	0^{g}
جو Barely	0	0.556^{a}	0.316^{a}
	0.0033	0.480^{b}	0.256^{ab}
	0.0166	0.423^{c}	0.180^{bc}
	0.033	0.206^{fg}	0.086^{defg}
	0.066	0.080^{jk}	0.006^{fg}
	0.1	0^{l}	0^{g}
	0.166	0^{l}	0^{g}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Values followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$)according to Duncan's multiple range test

جدول ٤- پارامترهای برآورد شده توسط مدل‌های سه و چهار پارامتری لگاریتمی سیگموئیدی

Table 4- Parameters estimated by 3 and 4 sigmoidal equations

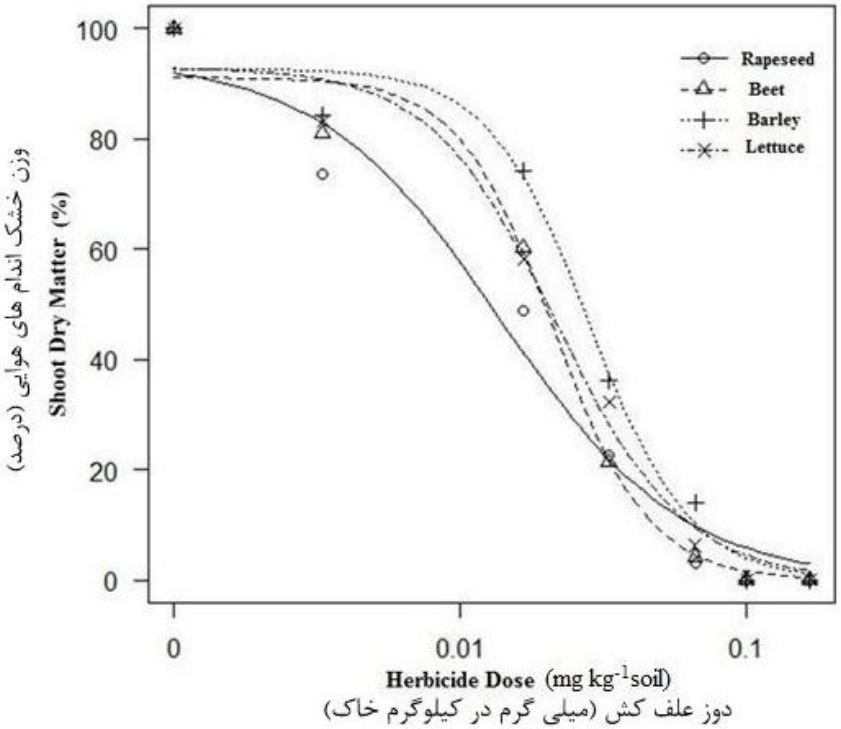
گیاه Crop	معادله Equation	B	c	d	ED_{50} mg. kg^{-1}soil
کلزا (Rapeseed)	سه پارامتری 3 Parameters	1.372(0.42)*	-	94.41(8.25)	0.0137(0.0048)
چغندرقند (Beet)	سه پارامتری 3 Parameters	1.96(0.49)	-	92.92(5.46)	0.0217(0.0026)
کاهو (Lettuce)	سه پارامتری 3 Parameters	2.59(0.74)	-	91.07(5.03)	0.0211(0.0042)
جو (Barley)	سه پارامتری 3 Parameters	2.45(0.57)	-	92.67(4.89)	0.0282(0.0041)

*، خطای استاندارد (*Standard Error)

درحالی‌که این مقدار برای کاهو، چغندرقند و جو به ترتیب ۰/۰۲۱۱، ۰/۰۲۱۷ و ۰/۰۲۸۲ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بوده است. از این رو با توجه به پارامتر ED_{50} گیاهان مورد مطالعه، می‌توان آنها را به ترتیب درجه حساسیت به بقایای پرومترین در خاک به صورت زیر طبقه بندی نمود: کلزا>کاهو>چغندرقند>جو (جدول ۴ و شکل ۱).

پریش و همکاران (۲۰) در یک مطالعه زیست‌سنجی در محیط گلخانه مشاهده کردند که غلظت ۰/۰۰۱۵ میلی‌گرم در لیتر علف‌کش سولفوسولفورون منجر به کاهش رشد ۲۰ درصدی جو شد. با توجه به مکانیسم عمل پرومترین و تأثیرگذاری بیشتر این علف‌کش بر گیاهان

پهن‌برگ، تأثیرپذیری کمتر گیاه جو نسبت بـه بقایـای پرومتـرین در خاک دور از انتظار نیست. در این ارتبـاط رحمـان و هولانـد (۲۲) در ارزیابی پایداری و میزان تحرک سیمازین در خـاک مـزارع زلانـدنـو مشاهده کردند که گیاه شلغم در مقایسه با جو از حساسـیت بـالاتری نسبت به بقایای علف‌کش سیمازین در خاک برخوردار بوده است.



شکل ۱- پاسخ زیست توده گیاهان زراعی به بقایای مختلف پرومترین در خاک
Figure 1- Shoot dry matter response to prometryn soil residual

تأثیر بقایای پرومترین بر زیست‌توده میکروبی خاک

بر اساس یافته‌های حاصل از آزمایش، بقایای شبیه‌سـازی شـده پرومترین در خاک تأثیر منفی معنی‌داری بر زیست‌توده میکروبی خاک داشت ($p<۰/۰۱$). به طوری‌که با افزایش غلظـت بقایـای پرومتـرین، زیست‌توده میکروبی کربن، نیتروژن و زیست‌توده میکروبی خاک بـه طور معنی‌داری کاهش یافت (جداول ۵ و ۶). در واقع جوامع میکروبی خاک در روزهای آغـازین پـس از کـاربرد پرومتـرین و بـه ویـژه در غلظت‌های بالاتر این علف‌کش از حساسیت بالاتری برخوردار بوده و با کاهش زیست‌توده میکروبی همراه بوده است. از ایـن رو مـی‌تـوان انتظار داشت که در روزهای ابتدایی پس از سمپاشی به علت کـاهش فعالیت میکروبی خاک، میزان تجزیه علف‌کش نیز ناچیز باشد که این امر افزایش خسارت‌زایی به گیاهان زراعی موجود در تناوب‌های زراعی را به دنبال دارد. از طرفی یکـی از دلایـل کـاهش تجزیـه در اولـین روزهای پس از کاربرد می‌تواند به عـدم تطـابق و سـازگاری جوامـع میکروبی خاک با غلظت‌های پرومترین نسبت داده شود. در حالی‌کـه طبیعتاً با کاهش یافتن غلظت این علف‌کش در طی یک بازه زمـانی می‌توان شاهد کاهش خسارت زایی بقایای آن برای جوامع میکروبـی خاک بود (۲۱). تأثیر منفی بقایای پرومترین بر زیست‌توده میکروبـی خاک در تطابق با یافته های سیبومو و همکاران (۲۹) مـی‌باشـد کـه روند مشابهی را در مطالعه تأثیر آترازین بر میکروارگانیسم‌های خـاک مشاهده نمودند. اثرات منفی علف‌کش‌ها بر زیست‌توده میکروبی خاک ممکن است به واسطه نفوذ ترکیبات علف‌کشی به درون سـلول‌هـای میکروارگانیسم‌ها، اختلال در متابولیسم سـلولی آنهـا و نهایتـاً مـرگ جوامع حساس میکروبی خاک به وجود آید. محـی‌الـدین و همکـاران (۱۶) در ارزیابی تأثیر کاربرد کاربندازیم، توفوردی و متری‌بیوزین بـر ارگانیسم‌های مفید خاک دریافتند که کاربرد این ترکیبات منجـر بـه کاهش جمعیت باکتری‌ها، اکتینومایست‌ها و قارچ‌های خـاکزی شـده است.

جدول ۵- آنالیز واریانس مربوط به زیست‌توده میکروبی خاک به بقایای پرومترین در خاک

Table 5- Analysis of variance related to soil microbial biomass to prometryn soil residual

منابع تغییر SOV	درجه آزادی DF	بیوماس میکروبی کربن C microbial biomass mgCmic. kg^{-1}soil	بیوماس میکروبی نیتروژن N microbial biomass mgNmic. kg^{-1}soil	زیست توده میکروبی Microbial biomass mgCmic/ mgNmic
بقایای علف کش (B) (Herbicide residual)	6	8834.94**	22.75**	3.04**
خطا (Error)	14	38.81	0.163	0.07
ضریب تغییرات (٪) (CV)	-	2.38	1.92	1.07

**: معنی داری در سطح آماری ۱ درصد

**Significant in %1 level

جدول ٦- اثر بقایای علف‌کش پرومترین بر زیست‌توده میکروبی خاک

Table 6- Effect of Prometryn residues on soil microbial biomass

پرومترین(میلی گرم در کیلوگرم در خاک) Prometryn (mg. kg^{-1}soil)	بیوماس میکروبی کربن C microbial biomass mgCmic. kg^{-1}soil	بیوماس میکروبی نیتروژن N microbial biomass mgNmic. kg^{-1}soil	زیست توده میکروبی Microbial biomass mgCmic/ mgNmic
0	327.6^{a}	24.20^{a}	13.53^{a}
0.0033	315.4^{b}	23.60^{a}	13.36^{a}
0.0166	290.7^{c}	22.70^{b}	12.80^{b}
0.033	265.3^{d}	21.30^{c}	12.45^{c}
0.066	239.2^{e}	19.80^{d}	12.08^{cd}
0.1	211.8^{f}	18.30^{e}	11.57^{e}
0.166	180.5^{g}	16.90^{f}	10.68^{f}

اعداد با حروف مشترک در هر ستون بر اساس آزمون دانکن دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نمی‌باشند

Values followed by the same letter are not significantly different ($P<0.05$)according to Duncan's multiple range test

به‌طور کلی بر اساس نتایج حاصل از این آزمایش با وجود کاربرد پرومترین در مقادیر بسیار کم (۰/۰۰۳۳ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک)، این علف‌کش از پتانسیل بالایی در ایجاد خسارت بر محصولات زراعی و جوامع میکروبی خاک برخوردار است. از این رو محدودیت در تناوب‌های زراعی می‌تواند از مهم‌ترین مشکلات ناشی از کاربرد پرومترین در خاک باشد. از طرف دیگر نتایج حاکی از کاهش زیست توده کلی میکروبی خاک با کاربرد پرومترین در روزهای آغازین می‌باشد. اگرچه عوامل دیگری نیز می‌توانند در بقای علف‌کش در خاک‌های زراعی تأثیرگذار باشند اما با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه به نظر می‌رسد لزوم رعایت فاصله کاشت در محصولاتی که با پرومترین تیمار شده‌اند برای کاهش غلظت بقایای آن از آستانه خسارت پرومترین بسیار حائز اهمیت است. در این راستا انجام آزمایشات آنالیز دستگاهی برای تعیین غلظت بقایای پرومترین پس از برداشت محصول و مقایسه آن با روش‌های زیست‌سنجی توصیه می‌شود.

منابع

1- Ahmad I., and Crawford G. 1990. Trace residua analysis of the sulfonylurea herbicide chlorsulfuron in soil by gas chromatography-electron capture detection. Journal of agricultural food chemistry, 38: 138-141.

2- Anderew H.C., and Rend P.H. 2010. Herbicide and plant physiology.second edition. Willey Blakkwell publication. 289. p.

3- Celano G., Smejkalova D., Spaccini R., and Piccolo A. 2008. Interactions of three s-triazines with humic acids of different structure. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56: 7360-7366.

4- Demczuk A., Sacała E., and Grzys E. 2004. Changes in the activity of the acetyl lactate (ALS) under the effect of the herbicide Titus at different varieties of cucumber. Progress in Plant Protection, 44: 645-647.

5- Fisher L.R., York A.C., and Jordan D.L. 2007. Flue-cured Tobacco and Peanut Response to Diuron, Fluometuron and Prometryn Applied to a Preceding Crop. The Journal of Cotton Science, 11: 168-176.

6- Halloway K.L., Kookana R.S., Noy D.M., Smith J.G., and Wilhelm N. 2006.Persistence and leaching of imazethapyr and flumetsulam herbicides over a 4-year period in the highly alkaline soils of south-eastern Australia. Australian Journal of Experimental Agriculture, 46: 669-674.

7- Henderson C.W.L., and Webber M.J. 1993. Phytotoxicity of several pre-emergence and post-emergence herbicides to green bean (*Phaseolus vulgaris*). Australian Journal of Experimental Agriculture, 33: 645-652.
8- Imamul S.M., and Didarul M.D. 2005.A handbook on analysis of soil, plant and water. University of Dhaka, Bangladesh, 246 pp.
9- Izadi E., Rashed-Mohassel M.H., Mahmoudi GH., and Dehghan M. 2013. Evaluation of some crops tolerance to tribenuron methyl soil residues. Journal of Plant Protection. 26: 362-369. (in Persian).
10- Izadi E., Rashed-Mohassel M.H., and Zand E. 2011. Evaluation of different crops sensitivity to Atrazine soil residue. Iranian Journal of Field Crops Research, 8: 995-1001. (in Persian)
11- Javorekova S., Svrekova I., and Makova J. 2010. Influence of benomyl and prometryn on the soil microbial activities and community structures in pasture grasslands of Slovakia. Journal of Environmental Science and Health Part B, 45: 702‑709.
12- Jettner R.J., Walker S.R., Churchett J.D., Blamey F.P.C., Adkins S.W., and Bell K. 1999. Plant sensitivity to atrazine and chlorsulfuron residues in a soil free system. Weed Research, 39: 287-295.
13- Khan MS., Chaudhry P., Wani P.A., and Zaidi A. 2006. Biotoxiceffects of the herbicides on growth, seed yield, and grainprotein of greengram. Journal of Applied Science and Environmental Management, 10: 141-6.
14- Kucharski M., and Sadowski J. 2006. The impact of soil moisture on the distribution of herbicide– research laboratory. Progress in Plant Protection, 46: 750-753.
15- Mansoori S., Zand E., Baghestani-Meybodi M.A., and Tavakoli M. 2008. Effect of sulfonylurea herbicides on yield and component of yield of canola. Weed Science, 4: 83-85.
16- Mohiuddin M., and Mohammed M. 2013. Influence of fungicide (Carbendazim) and herbicides (2, 4-D and Metribuzin) on non-target beneficial soil microorganisms of Rhizospheric Soil of Tomato Crop. IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, 5: 47-50.
17- Moreno J.L., Aliaga A., Navarro S., Hernandez T., and Garcia C. 2007. Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil. Applied Soil Ecology, 35: 120-127.
18- Ou Z., Sun T., and Zhang H. 1994. A Bioassav for Determining Simazine in Water Using Aqiatic Flowering fiants (*Ceratophyllurn oryzetorum*, *Ranunculus trichophyllus* and *Alisma plantago-aquatica*). Pesticide Science, 42: 173-178.
19- Papadopoulou-Mourkidou E., Karpouzas D.G., Patsias J., Kotopoulou A., Milothridou A., Kintzikoglou K., and Vlachou P. 2004. The potential of pesticides to contaminate the groundwater resources of the Axios river basin in Macedonia, Northern Greece. Part I. Monitoring study in the north part of the basin. Science of the Total Environment, 321: 127–146.
20- Parrish S.K., Euler J.P., Gnogna R., Spirlet M., Walker A., Mc Vicar F.M., and Cullinngton J.E. 1995. Field, Glasshouses and laboratory investigations into the rate of degradation of MON-37500 in European Soils. British Crop Protection Conference. Weeds. 687-672.
21- Radivojevic L., Santric L., Stankovic R., and Janjic V. 2004. Herbicides and soil microorganisms. Plant Doctor, 32: 475-478.
22- Rahman A., and Holland P.T. 1985. Persistence and mobility of simazine in some New Zealand soils. New Zealand Journal of Experimental Agriculture, 13: 59-65.
23- Ranft R.D., Seefeldt S.S., Zhang M., and Barnes D.L. 2010. Development of a soil bioassay for triclopyr residue and comparison with a laboratory extraction. Weed Technology, 24: 538-543.
24- Robert M.Z., Weaver M.A., and Martin L.A. 2006. Microbial adaptation for accelerated atrazine mineralization/degradation in Mississippi Delta soils. Weed Science, 54: 538-547.
25- Sadowski J., and Kucharski M. 2004. The impact of agro-meteorological factors to download and phytotoxicity remains of the herbicides contained in the soil. Progress in Plant Protection, 44: 355-363.
26- Sadowski J., Rola H., and Kucharski M. 2002. The use of bioassays to assess the level of herbicides residues in soil. Progress in Plant Protection, 42: 152-158.
27- Santin-Montanya I., Alonso-Prados J.L., Villarroya M., and Garci-Baudin J.M. 2006. Bioassay for determining sensitivity to sulfosulfuron on seven plant species. Journal of Environmental Science and Health B, 41: 781-793.
28- Sarmah A.K., Kookana R.S., and Alston A.M. 1999. Degradation of chlorsulfuron and triasulfuron in alkaline soil under laboratory conditions. Weed Research, 39: 83-92.
29- Sebiomo A., Ogundero V.W., and Bankole S.A. 2011. Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity. African Journal of Biotechnology, 10: 770-778.
30- Sekutowski T., and Sadowski J. 2009. PHYTOTOXKITTM microbiotest used in detecting herbicide residue in soil. Environment Protection Engineering, 35: 105-110.
31- Szmigielski A.M., Schoenau J.J., Lervine A., and Schilling B. 2010. Evaluation a mustard root bioassay for predicting crop injury from soil residual flucarbazone. Communications in soil science and plant analysis, 39: 413-

420.
32- Tietjen K.G., Kluth J.F., Andree R., Haug M., Lindig M., Muller K.H., Wroblowsky H.J., and Trebst A. 1991. The herbicide binding niche of photosystem II - a model. Pesticide Science, 31: 65-72.
33- Ware G.W. 2000. The Pesticide Book.5th ed. Thomson Publications, Fresno, CA.
34- Woznica Z. 2008. Herbologia. Basics of biology, ecology and weed control. Ed. PWRiL, Poznan, pp. 430.