

## پاسخ آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره آز به دو علف‌کش تری بنورون- متیل و بروموکسینیل در خاک تحت کشت گندم

احمد علی پوربابایی<sup>1</sup> و امین بهرامی

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه تهران؛ pourbabaei@ut.ac.ir

کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه تهران؛ a\_bahrami@ut.ac.ir

دریافت: 92/10/21 و پذیرش: 94/5/12

### چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر علف‌کش‌های تری بنورون- متیل (گرانستار) و بروموکسینیل (بارندر) بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره آز در یک خاک آهکی تحت کشت گندم و میزان بازدارندگی فعالیت بیولوژیکی آنها بود. این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل و بر پایه طرح کاملاً تصادفی با 18 تیمار و 3 تکرار به صورت گلدانی انجام گردید. غلظت‌های علف‌کش تری بنورون- متیل 30، 42، 56 (غلظت توصیه شده) و 84 میلی‌گرم بر لیتر و علف‌کش بروموکسینیل 225، 450، 675 (غلظت توصیه شده) و 900 میلی‌گرم بر لیتر در دو حالت حضور و عدم حضور گیاه گندم اعمال شدند. فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره آز خاک در 3، 30 و 60 روز پس از مصرف علف‌کش‌ها اندازه‌گیری شدند. در هر یک از علف‌کش‌ها کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت دهیدروژناز و اوره آز با افزایش غلظت علف‌کش در هر یک از زمان‌های نمونه‌برداری در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید. بالاترین میزان کاهش فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره آز در خاک تحت تیمار با علف‌کش بروموکسینیل به ترتیب به میزان 61 و 51 درصد در 30 و 3 روز پس از مصرف در غلظت 900 میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. در این آزمایش فعالیت آنزیم دهیدروژناز بعد از 30 روز سوم تیمار روند افزایشی نشان داد. این افزایش فعالیت را می‌توان ناشی از افزایش جمعیت میکروبی با قابلیت استفاده از علف‌کش به عنوان منبع کربنی دانست. همچنین کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیمی در تیمارهای بدون گیاه در مقایسه با تیمارهای با گیاه مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های خاک، علف‌کش، فعالیت زیستی، گندم

<sup>1</sup> نویسنده مسئول، آدرس: کرج، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، دانشکده فناوری کشاورزی، گروه علوم و مهندسی خاک

## مقدمه

افزایش استفاده از آفت‌کش‌ها در خاک‌های کشاورزی باعث آلودگی خاک با مواد شیمیایی سمی می‌شود. پس از مصرف علف‌کش، کمتر از 5 درصد آن برای رسیدن به موجودات هدف تخمین زده شده است (سیمو و همکاران، 2011). مطالعات متعدد نشان داده که بخش عمده باقیمانده علف‌کش در خاک، اثرات خاصی روی جانداران غیر هدف، از جمله ریزجانداران خاک اعمال می‌کنند (واردل و پارکینسون، 1990). بنابراین اکثر آفت‌کش‌ها به بخش‌های غیر هدف اکوسیستم‌ها یا بوم‌نظام‌های کشاورزی می‌رسند که نتیجه آن تغییرات غیر منتظره‌ای بر کیفیت خاک‌ها، آب‌های زیرزمینی، آب‌های قاره‌ای و ساحلی و همچنین هوا بر جای می‌گذارند (سورخا و همکاران، 2008).

رنلا و همکاران (2005) دریافتند که خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک بهترین شاخص برای بررسی کیفیت آن است زیرا این خصوصیات ارتباط نزدیکی با چرخه عناصر غذایی در خاک دارند. این شاخص‌ها شامل تنفس و زی‌توده میکروبی، معدنی شدن نیتروژن در خاک و فعالیت آنزیمی خاک هستند، به ویژه فعالیت آنزیمی خاک که سهم مهم در توانایی خاک برای تجزیه مواد آلی خاک دارد. تراسر و همکاران (2008) در تحقیقی بیان نمودند که فعالیت آنزیم‌های خاک مهم‌ترین شاخص تعیین کیفیت و سلامت خاک به شمار می‌آیند. سنجش فعالیت آنزیمی حساس‌ترین شاخص به اثر فاکتورهای محیطی بر عملکرد میکروبی است زیرا در چرخه عناصر غذایی مؤثر است. پژوهش‌ها نشان می‌دهد که ترکیب جامعه میکروبی خاک، توانایی خاک را برای تولید آنزیم تعیین می‌کند. بنابراین هرگونه تغییر در جامعه میکروبی خاک بر اثر فاکتورهای محیطی از جمله آلودگی می‌تواند سنتز و در نتیجه سطح فعالیت آنزیمی خاک را تغییر دهد. فعالیت آنزیمی خاک یک پارامتر حساس به آلودگی است و به عنوان یک شاخص برای اندازه‌گیری و تخمین درجه تخریب و آلودگی خاک‌ها در نظر گرفته می‌شود. از میان گروه‌های مختلف آنزیمی، اکسیدوردوکتازها که در برگ‌برنده فرآیندهای اکسیداسیون در خاک هستند و فعالیت آن‌ها وابسته به فعالیت‌های متابولیکی جانداران خاک است، به عنوان یک شاخص مناسب از فعالیت میکروبی خاک در مناطق خشک و نیمه خشک به شمار می‌روند (گارسیا و همکاران، 2004).

فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک بعنوان شاخص فعالیت کل ریز جانداران تصور می‌شود زیرا به صورت درون سلولی در تمام سلول‌های میکروبی زنده وجود دارد

و با فرآیندهای اکسیداسیون احیاء در ارتباط است (کوئیلکانو و مارانون، 2002). این آنزیم نقش مهمی در اکسیداسیون بیولوژیکی ماده آلی خاک با انتقال پروتون‌ها و الکترون‌ها از سوپسترا به پذیرنده‌ها ایفا می‌کند. فعالیت دهیدروژناز خاک یک پارامتر با ارزش برای ارزیابی اثرات مکانی تیمارهای علف‌کش‌ها بر روی زیست توده میکروبی در نظر گرفته می‌شود. اوره آز آنزیمی است که هیدرولیز اوره به دی‌اکسید کربن و آمونیاک را انجام می‌دهد. این آنزیم به طور گسترده در طبیعت، در گیاهان، جانوران و ریزجانداران یافت می‌شود. اوره آز از این جهت که بر سرنوشت و عملکرد پرمصرف‌ترین کود نیتروژن‌دار مؤثر است، یک آنزیم منحصر به فرد به شمار می‌رود و به همین دلیل بیش از سایر آنزیم‌های خاک مورد مطالعه قرار گرفته است (برمنز و مولوانی، 1978). آنزیم اوره آز نقش مهمی در کاربرد مؤثر کود اوره دارد (بالیگار و همکاران، 1991؛ راثو و گای، 1985).

تری بنورون- متیل<sup>1</sup> علف‌کش سیستمیک انتخابی است که برای کنترل علف‌های هرز گیاهان دو لپه‌ای یکساله و چند ساله در غلات و حبوبات و زمین‌های آیش به کار می‌رود. تری بنورون- متیل با اسپری برگ‌ی و به طور غیر مستقیم به خاک مصرف می‌شود و آن به سرعت توسط شاخه، برگ و ریشه جذب می‌شود. تری بنورون- متیل با مهار سنتز اسیدهای آمینه به ویژه والین و ایزولوسین، مانع تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها می‌شود. علف‌کش هیدروبنزونیتریل، بروموکسینیل<sup>2</sup> (3 و 5- دی برومو - 4- هیدروبنزونیتریل) علف‌کش انتخابی و پس از رویش است که به طور گسترده‌ای برای کنترل علف‌های هرز پهن برگ یکساله در محصولات زراعی از جمله غلات، ذرت، پیاز، نعنای و کتان استفاده می‌شود.

بروموکسینیل از اهمیت فزاینده‌ای به عنوان جانشین آترازین که استفاده آن از سال 2005 در اتحادیه اروپا به دلیل نگرانی در مورد سمیت آن ممنوع اعلام شده است برخوردار است. بروموکسینیل خود به طور بالقوه سمی است استفاده از این ترکیبات نیاز به مدیریت در راهی که اثرات آن بر روی موجودات غیر هدف به حداقل برسد. بنابراین درک سرنوشت و اثرات زیست محیطی بروموکسینیل در خاک مهم است (باکستر و کومینگر، 2006). نتایج تحقیقات نشان داد که ترکیب بروموکسینیل و پروسولفورون اثر بازدارندگی بر روی فعالیت دهیدروژناز در حدود 80 درصد برای کمترین غلظت

1. Tribenuron-methyl (TBM)

2. Bromoxynil

ریزوسفری در گلدان‌های فاقد گیاه انجام شد.

#### تعیین فعالیت آنزیمی نمونه‌ها

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز در سه لوله درب‌دار 5 گرم نمونه خاک وزن شده و در دو تای آنها 5 میلی لیتر از محلول سوبسترا و در لوله سوم 5 میلی لیتر محلول بافر تریس اضافه شد. نمونه‌ها به طور کامل مخلوط شده و به مدت 24 ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن برای عصاره‌گیری تری فنیل فرمازان تولید شده به همه لوله‌ها 25 میلی لیتر استن اضافه شد و نمونه‌ها مخلوط شده و به مدت 2 ساعت در تاریکی عمل شیک ادامه یافت. نمونه‌ها در اتاقی نیمه تاریک فیلتر شده و جذب تراکم رنگ با اسپکتروفوتومتر در 546 نانومتر اندازه‌گیری شد. با استفاده از رابطه 1 فعالیت آنزیم دهیدروژناز محاسبه شد (الینگر، 1996).

$$E = \frac{[S - C] \cdot 100}{W \cdot \%dm} \quad (1)$$

E: فعالیت دهیدروژناز ( $\mu\text{g TPF g}^{-1} \cdot \text{dm} \cdot 24\text{h}^{-1}$ )  
S: غلظت نمونه‌ها؛ C: غلظت کنترل؛ W: وزن دقیق خاک؛  
%dm: فاکتور درصد وزن خشک

مقدار 5 گرم خاک (عبور داده شده از الک 2 میلی متری) را در بالن ژوژه 50 میلی‌لیتری ریخته، 0/2 میلی لیتر تولوئن و 9 میلی لیتر بافر تریس به آن افزوده و چند ثانیه آن هم زده شد سپس 1 میلی لیتر محلول اوره 0/2 مولار نیز اضافه کرده هم زده و به مدت 2 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد در گرماگذار قرار داده شد. پس از دو ساعت 35 میلی لیتر محلول  $\text{KCl-Ag}_2\text{SO}_4$  به آن اضافه شده و مخلوط شد و چند دقیقه نمونه در دمای اتاق قرار داده شد تا خنک شود سپس با محلول  $\text{KCl-Ag}_2\text{SO}_4$  به حجم رسانده شد.

برای تعیین  $\text{N-NH}_4^+$  در نمونه خاک 20 میلی لیتر از سوسپانسیون به بالن دستگاه تقطیر منتقل شده و 0/2 گرم  $\text{MgO}$  به عنوان کاتالیزور نیز به آن اضافه شد سپس عمل تقطیر انجام شد.  $\text{N-NH}_4^+$  تولید شده با شناساگر (5 میلی لیتر شناساگر  $\text{H}_3\text{BO}_3$  در داخل ارلن 100 میلی لیتری که تا حجم 30 میلی لیتری علامت گذاری شده است ریخته شد) واکنش داده و موجب ایجاد رنگ سبز می‌شود که پس از رسیدن به حجم 30 میلی لیتر عمل تقطیر را متوقف شده و آن با اسید سولفوریک 0/005 نرمال تیترا شد (طباطبایی و برمنر، 1972).

استفاده شده را اعمال کرد. این نشان می‌دهد که با وجود غلظت کم علف‌کش‌های استفاده شده اثر مخربی بر روی فعالیت و تعادل جامعه خاک داشت و باید با احتیاط استفاده شوند (پامپولها و الیویرا، 2006).

با توجه به اینکه فعالیت‌های آنزیمی و زیستی خاک نقش مهمی در چرخه‌ی عناصر غذایی در خاک ایفا می‌کنند و مصرف علف‌کش‌ها به طور مستقیم این پارامترهای زیستی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بدین منظور در این تحقیق، با هدف تأثیر علف‌کش‌های تری بنورون-متیل و بروموکسینیل روی فعالیت زیستی و پاسخ میکروبی خاک، فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز در یک خاک آهکی در دو شرایط تحت کشت و بدون کشت گندم مورد بررسی قرار گرفت.

#### مواد و روش‌ها

نمونه خاک مورد آزمایش از مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران جمع‌آوری گردید. نمونه خاک پس از هوا خشک شدن و عبور از الک 2 میلیمتر به طور یکنواخت مخلوط و خصوصیات شیمیایی و فیزیکی آن اندازه‌گیری شد (جدول 1) و سپس برای کشت گلخانه‌ای خاک از الک 4 میلی متر عبور داده و به گلدان‌های چهار کیلوئی منتقل شد. در این آزمایش از گندم رقم بهار تهیه شده از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج برای کشت در تیمارهای با گیاه ( $\text{HP}^1$ ) استفاده گردید. علف‌کش‌های مصرفی در این مطالعه تری بنورون-متیل با فرمولاسیون  $\text{DF}^2$  75% و بروموکسینیل با فرمولاسیون  $\text{SL}^3$  22/5% بودند. هر کدام از علف‌کش‌ها در چهار غلظت و سه تکرار در گلدان‌های با کشت ( $\text{HP}$ ) و بدون کشت گندم ( $\text{NP}^4$ ) و در مرحله پنجه‌زنی گندم مصرف شدند. جهت سنجش میزان تأثیر علف‌کش با توجه به غلظت توصیه شده برای علف‌کش تری بنورون متیل و برای بروموکسینیل (بترتیب 56 و 675 میلی گرم بر لیتر) از غلظت‌های مختلف علف‌کش تری بنورون-متیل 30، 42، 56 و 84 میلی گرم بر لیتر و علف‌کش بروموکسینیل 225، 450، 675 و 900 میلی گرم بر لیتر استفاده گردید. نمونه برداری از گلدان‌ها در سه، سی و شصت روز پس از مصرف علف‌کش‌ها از منطقه ریشه در گلدان‌های دارای گیاه و خاک غیر

<sup>1</sup> Having Plant

<sup>2</sup> Dry flowable

<sup>3</sup> Water soluble liquid

<sup>4</sup> No Plant

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک مورد مطالعه در جدول 1 نشان داده شده است. جذب یا دفع علف‌کش‌ها به ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بستگی دارد. روند جذب به غلظت و حلالیت علف‌کش‌ها در محلول خاک، ظرفیت تبادل کاتیونی، مقدار ماده آلی، pH، رطوبت و دمای خاک و غیره بستگی دارد. خاک‌های با بافت سنگین ظرفیت جذب کنندگی بالاتری نسبت به خاک‌های سبک (شنی) دارند.

$$NH_4 - N = \frac{N - NH_4 \cdot V}{d_w} \quad (2)$$

$NH_4-N$ : نیتروژن آمونیومی بر حسب میکروگرم در وزن خاک خشک ( $\mu g NH_4/g.2h$ )  
 $N-NH_4$ : نیتروژن آمونیومی میکروگرم در میلی‌لیتر (هر میلی‌لیتر اسید سولفوریک 005/ نرمال معادل 70 میکروگرم نیتروژن آمونیومی است) ؛ V: حجم عصاره مصرفی؛  $d_w$ : وزن خاک خشک  
 برای تمام داده‌ها تجزیه واریانس انجام و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 1٪ انجام شد. بدین منظور از نرم افزار SAS و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک زراعی مورد آزمایش

| مقدار | پارامتر                                |
|-------|--|
| 36/2  | شن (%)                                 |
| 36    | سیلت (%)                               |
| 27/8  | رس (%)                                 |
| 16    | کربنات کلسیم (%)                       |
| 1/2   | ماده آلی (%)                           |
| 8     | واکنش خاک (pH)                         |
| 2/95  | قابلیت هدایت الکتریکی ( $ds. m^{-2}$ ) |
| 26    | رطوبت ظرفیت مزرعه (%)                  |
| 1/353 | نیتروژن کل (%)                         |
| 35/8  | فسفر قابل جذب ( $mg. Kg^{-1}$ )        |
| 376   | پتاسیم قابل دسترس ( $mg. Kg^{-1}$ )    |
| 1/6   | روی ( $mg. Kg^{-1}$ )                  |
| 7/4   | آهن ( $mg. Kg^{-1}$ )                  |

تأثیر تیمارهای مختلف آزمایش را بر فعالیت دهیدروژناز خاک نشان می‌دهد. علف‌کش‌های مصرف شده به طور قابل توجهی فعالیت دهیدروژناز را در 3، 30 و 60 روز پس از کاربرد کاهش دادند. پس از آن دوره، با این حال فرآیندهای اکسایش- احیاء تنها در غلظت‌های پایین علف‌کش‌ها به سطح گونه شاهد بازگشتند. در هر یک از علف‌کش‌ها کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت دهیدروژناز با افزایش غلظت علف-کش، در طول دوره تیمار در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده گردید.

علف‌کش بروموکسینیل به میزان بیشتری سبب کاهش فعالیت دهیدروژناز نسبت به علف‌کش

## تأثیر علف‌کش‌ها بر فعالیت آزمون دهیدروژناز خاک

دهیدروژنازها متعلق به اکسیدو رودکتازها و انتقال دهنده‌ی هیدروژن هستند. فعالیت دهیدروژناز به عنوان شاخصی برای سیستم زیستی اکسایش و کاهش بوده و چون فقط در سلول‌های زنده میکروبی وجود دارد، نشانگر و مقیاس مناسبی برای فعالیت میکروبی و اندازه‌گیری شدت متابولیسم میکروبی در خاک محسوب می‌شود (نانی‌پیری و همکاران، 2002). مطالعات نشان داد که فعالیت دهیدروژناز شاخص خوبی برای تغییرات فرآیندهای اکسایش-احیاء در خاک در نتیجه مصرف علف‌کش می‌باشد (گوداریکا و همکاران، 1995؛ وا و همکاران، 2014). جدول 2

متیل به میزان 50 درصد بود. با توجه به جدول 3 کاهش فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک تیمار شده با علف‌کش‌های تری‌بنورون-متیل و بروموکسینیل در حضور گیاه به طور معنی‌داری در 3 و 60 روز پس از مصرف کمتر از زمانی است که خاک عاری از پوشش گیاهی می‌باشد که ممکن است ناشی از نقش ریشه-های گیاه گندم در جذب علف‌کش باشد.

تری‌بنورون-متیل شد که به نظر می‌رسد این کاهش بیشتر به دلیل سمیت بالاتر این علف‌کش باشد. بالاترین میزان کاهش فعالیت دهیدروژناز برای علف-کش‌های بروموکسینیل و تری‌بنورون-متیل به ترتیب در غلظت‌های 900 و 84 میلی گرم بر لیتر در 30 و 3 روز پس از مصرف مشاهده شد. این کاهش برای بروموکسینیل به میزان 61 درصد و برای تری‌بنورون-

جدول 2- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک تیمار شده با غلظت‌های مختلفی از علف‌کش‌های تری‌بنورون‌متیل و بروموکسینیل ( $\mu\text{g TPF/g.h}$ ) در سه زمان 3، 30 و 60 روز

| زمان بعد از مصرف (روز) |          |          | غلظت<br>(میلی گرم بر لیتر) |                 |
|------------------------|----------|----------|----------------------------|-----------------|
| 60                     | 30       | 3        |                            |                 |
| 30/05 a                | 28/13 a  | 28/84 a  | 0                          | تری‌بنورون‌متیل |
| 27/86 ab               | 27/19 a  | 28/04 a  | 30                         |                 |
| 22/53 c-e              | 19/4 b   | 19/38 bc | 42                         |                 |
| 21/43 d-f              | 15/12 bc | 17/49 bc | 56                         |                 |
| 19/46 ef               | 15/61 bc | 14/62 c  | 84                         | بروموکسینیل     |
| 23/35 cd               | 26/04 a  | 22/22 ab | 225                        |                 |
| 25/15 bc               | 20/11 b  | 14/23 c  | 450                        |                 |
| 18/73 f                | 19/4 b   | 13/55 c  | 675                        |                 |
| 14/6 g                 | 10/99 c  | 12/96 c  | 900                        |                 |

جدول 3- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک تیمار شده با علف‌کش‌های تری‌بنورون‌متیل و بروموکسینیل در حضور و عدم حضور گیاه ( $\mu\text{g TPF/g.h}$ ) در سه زمان 3، 30 و 60 روز

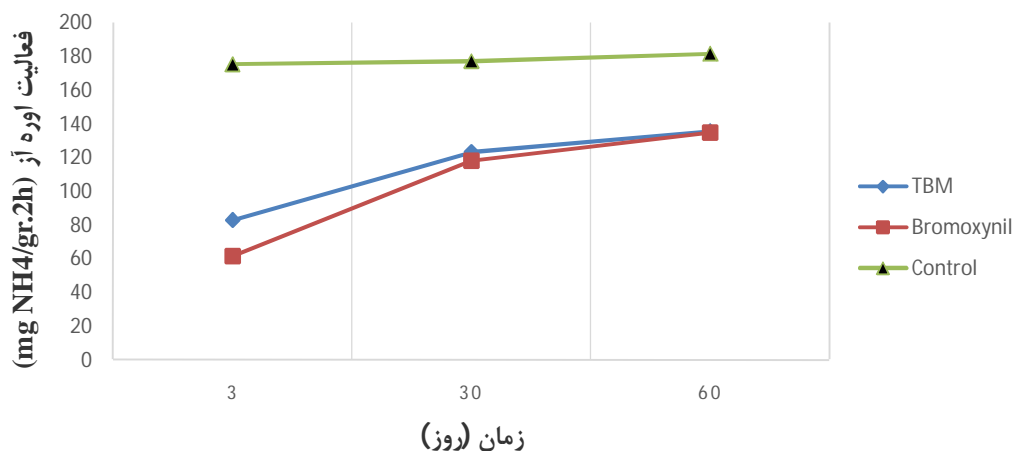
| زمان بعد از مصرف (روز) |         |         | پوشش      |
|------------------------|---------|---------|-----------|
| 60                     | 30      | 3       |           |
| 25/17 a                | 21/31 a | 21/11 a | با گیاه   |
| 19/98 b                | 19/22 a | 16/98 b | بدون گیاه |

کاهش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد در طول دوره تیمار نشان داد. بین غلظت‌های مختلف علف‌کش تری-بنورون‌متیل در طول دوره تیمار تفاوت معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم مشاهده نشد. به طور کلی حتی در غلظت‌های کمتر از غلظت توصیه شده برای علف‌کش‌ها نیز کاهش میزان فعالیت مشاهده گردید. بیشترین میزان کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز 51 درصد بود که در غلظت 900 میلی گرم بر لیتر علف‌کش بروموکسینیل و در 3 روز پس از مصرف مشاهده شد. اوره‌آز آنزیم مسئول هیدرولیز پیوندهای C-N برخی از آمیدها و اوره به آمونیاک است، که می‌تواند توسط میکروب‌ها و گیاهان جذب شوند.

شکل 1 نشان می‌دهد فعالیت آنزیم دهیدروژناز در طول آزمایش در مجموع روند افزایشی دارد که این افزایش فعالیت را می‌توان ناشی از افزایش جمعیت میکروبی با قابلیت استفاده از علف‌کش‌ها به عنوان منبع کربنی دانست (سیمو و همکاران، 2011). گیاهان نقش مهمی در تجزیه ی علف‌کش‌ها ایفا می‌کنند. آنها از طریق ریشه، ساقه و برگ علف‌کش‌ها را در خود جای می‌دهند. غلظت و نحوه مصرف علف‌کش‌ها تعیین می‌کند که آن چگونه توسط اندام هوایی گیاه یا ریشه‌ها جذب می‌گردد (کاتانو و همکاران، 2013).

#### تأثیر علف‌کش‌ها بر فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک

با توجه به جدول 4 فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک با مصرف علف‌کش‌های تری‌بنورون-متیل و بروموکسینیل



شکل 1- روند تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک در طول دوره تیمار

و آنزیم از علف کش ها به عنوان سوبسترای آنزیمی استفاده کند. میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای با گیاه و بدون گیاه در طول دوره تیمار اختلاف معنی داری داشت. افزایش فعالیت آنزیم اوره آز در حضور گیاه به مراتب بیشتر از افزایش در تیمار بدون گیاه است (جدول 5).

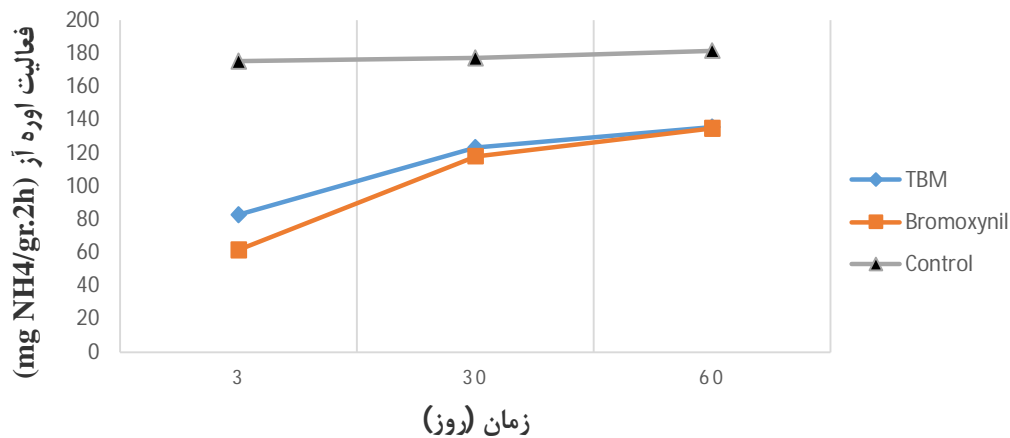
شکل 2 افزایش سریع فعالیت اوره آز را پس از سه روز مصرف علف کش نشان می‌دهد. با توجه به ساختار علف کش‌های تری بنورون متیل و بروموکسینیل که حاوی پیوندهای C-N می‌باشند انتظار می‌رود افزایش سریع در فعالیت آنزیم اوره آز مربوط به این پیوندها بوده

جدول 4- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم اوره آز در خاک تیمار شده با غلظت‌های مختلفی از علف‌کش‌های تری بنورون متیل و بروموکسینیل ( $\mu\text{g NH}_4/\text{g.2h}$ ) در سه زمان 3، 30 و 60 روز

| زمان بعد از مصرف (روز) |            |         | غلظت<br>(میلی گرم بر لیتر) |                 |
|------------------------|------------|---------|----------------------------|-----------------|
| 60                     | 30         | 3       |                            |                 |
| 181/7 a                | 177/3 a    | 175/4 a | 0                          | تری بنورون متیل |
| 138/3 b-d              | 124/3 b-d  | 86/1 b  | 30                         |                 |
| 141/8 bc               | 117/13 c-e | 84/7 b  | 42                         |                 |
| 131/1 cd               | 125/3 b-d  | 82/8 b  | 56                         |                 |
| 130/9 cd               | 126/2 bc   | 77/7 b  | 84                         |                 |
| 149/3 b                | 133/2 b    | 65/5 c  | 225                        | بروموکسینیل     |
| 136/2 b-d              | 119/4 c-e  | 65/8 c  | 450                        |                 |
| 126 d                  | 107/5 e    | 63 c    | 675                        |                 |
| 127/6 cd               | 112/2 de   | 51 d    | 900                        |                 |

جدول 5- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم اوره آز در خاک تیمار شده با علف‌کش‌های تری بنورون متیل و بروموکسینیل در حضور و عدم حضور گیاه ( $\mu\text{g NH}_4/\text{g.2h}$ ) در سه زمان 3، 30 و 60 روز

| زمان بعد از مصرف (روز) |          |         | پوشش      |
|------------------------|----------|---------|-----------|
| 60                     | 30       | 3       |           |
| 165/87 a               | 143/05 a | 87/37 a | با گیاه   |
| 114/85 b               | 110/91 b | 79/95 b | بدون گیاه |



شکل 2- روند تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک در طول دوره تیمار

تحت تأثیر قرار داده و کاهش می‌دهد. همچنین کاهش کم‌تر فعالیت آنزیمی در خاک تحت کشت گندم در مقایسه با محیط بدون گیاه را می‌توان ناشی از وجود ترشحات ریشه دانست که در نتیجه افزایش فعالیت ریز جانداران و تولید آنزیم‌های برون سلولی و درون سلولی است.

#### سپاسگزاری

از مرحوم دکتر ثوابی به خاطر همکاری در تصویب این پژوهش تشکر و از خداوند متعال شادی روحشان را خواستاریم. ضمناً تحقیق حاضر با حمایت معاونت پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران تحت گرنت شماره 7314918 انجام شده است.

#### نتیجه‌گیری کلی

به طور کلی، کاهش فعالیت آنزیمی در محیط‌های تیمار شده با علف‌کش‌ها احتمالاً به دلیل اثر سمی علف‌کش‌ها بر سنتز آنزیم‌ها توسط ریزجانداران خاک می‌باشد. همچنین تغییر ساختار جمعیت میکروبی خاک می‌تواند دلیل دیگری برای تغییر فعالیت آنزیمی در این محیط‌ها باشد.

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی فعالیت آنزیم‌های خاک در خاک‌های تیمار شده با علف‌کش بدون حضور گیاه، می‌توان گفت که مصرف علف‌کش‌های مختلف حتی در غلظت‌های کمتر از غلظت توصیه شده، میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز و اوره‌آز را به ترتیب به عنوان شاخصی از چرخه زیستی کربن و نیتروژن خاک‌ها

#### فهرست منابع:

- Baligar, V. C., Staley, T. E. and Wright, R. J. 1991. Enzyme activities in Appalachian soils: 2. Urease. Communications in Soil Science and Plant Analysis 22(3&4): 315-322.
- Baxter, J. and Cummings, S. P. 2006. The application of the herbicide bromoxynil to a model soil-derived bacterial community: impact on degradation and community structure. Letters in applied microbiology 43(6): 659-665.
- Bremner, J. M. and Mulvaney, R. L. 1978. Urease activity in soils. p. 149-196. In: Burns, R. G. (Ed). Soil Enzyme. Academic Press. London. UK.
- García-Gil, J. C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G. and Polo, A. 2004. Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. Biology and Fertility of Soils 39: 320-328.
- Govedarica, M., Milošević, N., Jarak, M., Konstantinovič, B. and Miletič, S. 1995. Effect of herbicides on the number of microorganisms and dehydrogenase activity in soil under maize. p. 495- 498. In: Regional Symposium: "Chemistry and environment", Proc. of Conf., Vrnjačka Banja, 25-29 Sept. 1995. Vrnjačka Banja.



6. Cataneo, A.C., Ferreira, L.C., Mischán, M.M., Velini, E.D., Corniani, N. and Cerdeira, A.L. 2013. Mefenpyr-diethyl action on fenoxaprop-p-ethyl detoxification in wheat varieties. *Planta daninha* 31(2):387-393.
7. Nannipieri, P., Kandeler, E. and Ruggiero, P. 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. p. 1-33. In: Burns, R. G. and Dick, R. P. (ed.) *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, New York.
8. Ohlinger, R. 1996. Dehydrogenase activity with the substrate TTC. p. 241-243. In: Schinner F., Ohlinger R., Kandeler E. and Margesin R. (eds.) *Methods in Soil Biology*. Springer Berlin Heidelberg.
9. Pampulha, M. E. and Oliveira, A. 2006. Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms. *Current microbiology* 53(3): 238-243.
10. Quilchano, C. and Maranon, T. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest Soils. *Biology and Fertility of Soils* 35: 102-107.
11. Rao, D. L. N. and Ghai, S. K. 1985. Urease and dehydrogenase activity of alkali and reclaimed soils. *Soil Research* 23(4): 661-665.
12. Renella, G., Mench, M., Landi, L. and Nannipieri, P. 2005. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 37: 133-139.
13. 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(5): 770-778.
14. Surekha, R.M., Lakshmi, P.K.L., Suvarnalatha, D., Jaya, M., Aruna, S., Jyothi, K., Narasimha, G. and Venkateswarlu, K. 2008. Isolation and characterization of a chlorpyrifos degrading bacterium from agricultural soil and its growth response. *African journal of Microbiology Research* 2: 26-31.
15. Tabatabai, M. A. and Bremner, J. M. 1972. Assay of urease activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 4(4): 479-487.
16. Trasar-cepada, C., Leiros, M.C., Seoane, S. and Gil-Sotres, F. 2000. Limitation of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1867-1875.
17. Trasar-Cepeda, C., M.C. Leiro, F. and Gil-Sotres. 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry* 40:2146-2155.
18. Wardle, D. A. and Parkinson, D. 1990. Influence of the herbicide glyphosate on soil microbial community structure. *Plant and Soil* 122: 29-37.
19. Wu, X. M., Long, Y.H., Li, Y.R., Liu, R.X., Liu, M. 2014. Effects of napropamide on microbiological characteristics of tobacco rhizosphere soil and its dissipation. *Journal of soil science and plant nutrition* 14(1):151-159.