

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی تجزیه بیولوژیکی و شیمیایی متری بیوزین 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 متری بیوزین در خاک و نقش کود دامی در روند تجزیه و نیمه عمر آن، آزمایشی در شرایط کنترل شده در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. عوامل مورد بررسی شامل نوع خاک در دو سطح (سترون شده و غیرسترون)، مقدار کود دامی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد 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 سترون شده بود، بطوریکه باقیمانده متری بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از نگهداری در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و ۲۸/۵۵ درصد و در خاک سترون شده ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه عمر متری بیوزین از ۸۵/۵۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸۰، ۵۷/۲۸، ۳۸/۰۸ روز شد و در خاک سترون شده از ۸۳/۵۱ روز به ۹۱/۰۳، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳۴ روز شد. بر مبنای این آزمایش اضافه کردن کود گاوی می تواند تجزیه متری بیوزین را در خاک افزایش و نیمه عمر آن را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: خاک سترون شده، خاک غیرسترون شده، ماندگاری

مقدمه

از محصولات زراعی از جمله سیب زمینی، گوجه فرنگی و گندم به کار می‌رود. بر اساس اطلاعات موجود، این علف کش جزء علف کش‌های با ماندگاری متوسط و بالا در خاک محسوب می‌شود 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 زیان بار آن ضروری است. در این راستا توجه به عوامل موثر در سرنوشت علف کش‌ها 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 آفت کش‌ها، 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 علف کش‌ها نقش مهمی در شناخت سرنوشت محیطی آنها دارد. در این ارتباط عوامل مختلفی از جمله محتوای رطوبت خاک، جمعیت و فعالیت ریزجانداران تجزیه کننده علف کش و نیز عوامل موثر بر فعالیت آنها بر تجزیه شیمیایی و

ماندگاری علف کش‌ها در محیط از مهم‌ترین تبعات رهاسدن، آن‌ها 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 علف کش‌های خاک مصرفی از قبیل تریازین‌ها و تریازینون‌ها که خاک مخزن اصلی ذخیره و نگهداری آن‌ها است اهمیت بیشتری دارد (۶). در بین این علف کش‌ها، متری بیوزین از مهم‌ترین علف کش‌های گروه تریازینون‌ها و از بازدارندگان فتوسیستم II می باشد که به طور گسترده‌ای در کنترل علف‌های هرز پهن برگ و باریک برگ بسیاری

۱، ۲ و ۳- به ترتیب 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

روند تجزیه زیستی و شیمیایی آن و نقش افزودن کود گاوی در خاک در تجزیه و نیمه عمر آن در شرایط کنترل شده 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 روش ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار در شرایط کنترل شده در آزمایشگاه تحقیقاتی علف های هرز دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، انجام شد. عوامل مورد بررسی در این آزمایش شامل نوع خاک (سترون شده و غیرسترون)، مقدار کود آلی (کود گاوی) در چهار سطح (۰، ۱، ۵ و ۱۰ درصد وزنی خاک) و زمان برداشت نمونه ها در ۸ سطح (صفر، ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز پس از نگهداری نمونه ها در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سانتی گراد بودند (این دما، دمای مطلوب برای فعالیت اغلب میکروارگانیسم ها 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 سانتی متری مزرعه ای که حداقل تا ۵ سال قبل هیچ گونه آفت کش و کود دامی در آن استفاده نشده بود و انتقال آن به آزمایشگاه و تعیین ویژگی های فیزیکی و شیمیایی و درصد رطوبت زراعی آن، بقایای گیاهی آن توسط الک ۲ میلی متری جدا شدند. برای سترون کردن خاک، نمونه های 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 آلوده کردن خاک ها به متری بیوزین، پس از تهیه خاک های مورد نظر در سطوح مختلف کود آلی (با احتساب ۵۰ گرم خاک خشک)، در درون شیشه های ۱۵۰ میلی لیتری درب دار قرار داده شدند و به نسبت ۵ میلی گرم در کیلوگرم خاک (که معادل ۲۵/۱ میلی گرم متری بیوزین در ۵۰ گرم خاک می باشد)، با علف کش متری بیوزین آلوده شدند. برای این منظور پس از اضافه کردن یک گرم متری بیوزین (با در نظر گرفتن درجه خلوص آن، ۷۰ درصد پودر و تابل) در ۱۰۰۰ سی سی متانول تجاری و تهیه محلول ۱۰۰۰ پی پی ام، و سپس رقیق سازی این محلول به ۱۰۰ پی پی ام، ۲/۵ سی سی از این محلول را با استفاده از پیت سرنگی روی خاک مخلوط شده با نسبت های مختلف کود آلی ریخته شد، پس از تبخیر کامل متانول از سطح خاک داخل شیشه ها، درب آن ها را بسته و آن ها را به شدت تکان داده تا علف کش به طور یکنواخت با خاک و کود دامی ترکیب شود، سپس به تمام نمونه ها آب استریل شده در حد ۷۵ درصد ظرفیت زراعی (رطوبتی که میکروارگانیسم بتوانند به خوبی رشد کنند) به خاک اضافه کرده و درب شیشه ها را با کاغذ آلومینیوم منفذدار بسته و در شرایط تاریکی و دمای ۲۷ درجه سانتی گراد (هوک، ۲۰۰۵) به مدت ۹۰ روز در داخل انکوباتور، نگهداری شدند. (انتخاب

بیولوژیکی علف کش ها در خاک دخیل هستند (۱۴). هیزاک وزیمدال (۱۰) بیان کردند که تجزیه غیر زیستی متری بیوزین در خاک های لومی شنی مهم ترین عامل تجزیه این علف کش می باشد. خوری و همکاران (۱۴) و هنریکسون و همکاران (۸) نیز در مطالعات خود به اهمیت تجزیه شیمیایی متری بیوزین اشاره کرده اند. هرچند بر اساس مطالعات انجام شده تجزیه شیمیایی متری بیوزین از عوامل مهم در تجزیه ی آن به شمار می رود. اما بر اساس گزارش های انجام شده، تجزیه زیستی نقش مهم تری را در سرنوشت این علف کش دارد. اکسینلی و همکاران (۱) در آزمایشی که به منظور بررسی تجزیه آترازین و متولاکلر در خاک سترون شده و غیرسترون و در اعماق سطحی و عمیق خاک و در شرایط هوایی و غیر هوایی انجام دادند، گزارش کردند که تجزیه شیمیایی و بیولوژیکی در علف کش آترازین هر دو در سرنوشت آن دخیل هستند. حال اینکه در علف کش متری بیوزین تجزیه شیمیایی نقشی در سرنوشت آن ندارد و تجزیه آن فقط به روش بیولوژیکی صورت می گیرد. با این 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 علف کش ها 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 علف کش ها دارند (۲). در آزمایشی که به منظور بررسی نقش مواد آلی در تجزیه علف کش 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 علف کش 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 آلوده شده با آترازین، دریافتند که این مواد، تجزیه آترازین را از طریق تحریک ریزجانداران تجزیه کننده 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 مزرعه ای، ماندگاری بیشتری با افزایش میزان کاربرد علف کش و هم چنین افزایش مقدار کود آلی نتیجه گرفتند بطوری که در آزمایش آنها بیشترین نیمه عمر (۱۲/۹۲ روز) در تیمار مربوط به ۵۰ تن کود آلی و ۴ کیلوگرم آترازین در هکتار و کمترین نیمه عمر آن (۳/۶۴ روز) در کاربرد ۲ کیلوگرم آترازین و بدون کاربرد کود آلی مشاهده شد. با توجه به اینکه که متری بیوزین از علف کش های مهمی است که در کنترل علف های هرز مزارع سیب زمینی، گندم، جو و سویا کاربرد دارد (۲۰) و از آنجا که مطالعاتی در ارتباط با روند تجزیه شیمیایی و زیستی این علف کش در کشور انجام نشده است، این مطالعه با هدف بررسی

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 مجهز^۲ به آشکارساز Spectrophotometric Uv-Vis و طول موج ۲۹۰ نانومتر و یک ستون فاز معکوس C18 (به طول ۲۵ و قطر ۴/۵ 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 پی‌ام متری بیوزین از محلول استوک ۶۰ میلی‌گرم در لیتر متری بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد در متانول با خلوص ۹۹/۹ درصد تهیه شد و به وسیله سرنگ همپلتون با سه تکرار به دستگاه HPLC تزریق شدند و زمان بازیابی (۱۰ دقیقه) و سطح زیر منحنی محلول‌های استاندارد مشخص شد. منحنی استاندارد متری بیوزین 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 محلول‌های استاندارد بود که با بدست آوردن سطح زیر منحنی 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 سینتیکی درجه اول (معادله ۱) در نرم‌افزار Sigmaplot Ver. 11 بدست آمد.

$$C_t = C_0 \exp(-kt) \quad (1)$$

که در آن C_t غلظت متری بیوزین در زمان t ، C_0 غلظت اولیه متری بیوزین (میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و k سرعت تجزیه (میلی‌گرم 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 (DT₉₀) نیز با توجه به سرعت تجزیه آن از معادله‌های (۲) و (۳) محاسبه شدند.

$$DT_{90} = \frac{\ln 10}{k} \quad (2)$$

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad (3)$$

۹۰ روز برای انجام زمان نمونه برداری به این خاطر بود که بر اساس اطلاعات موجود نیمه عمر متری بیوزین در شرایط مخلف از ۳۰ روز تا ۷۰ روز گزارش شده است. از طرفی باتوجه به اینکه بر اساس معادله سینتیکی درجه اول وجود حداقل ۶ نقطه برای برازش داده‌ها به معادله مذکور لازم است، لذا زمان بندی نمونه‌گیری‌ها 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 متری بیوزین با خلوص ۹۹/۵ درصد از شرکت آلمانی بایر کراپ ساینس و با همکاری بخش علف‌های 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 می‌توانیم معادله‌ای به دست آوریم که بر اساس این معادله، غلظت باقیمانده آفت‌کش استخراج شده از نمونه‌های خاک بدست می‌آید). متری بیوزین تجاری نیز با خلوص ۷۵ درصد به صورت پودر و تایل، از موسسه مذکور تهیه شد. به منظور استخراج متری بیوزین از نمونه‌های آزمایش، ۱۰ گرم از خاک مربوط به هر تیمار را درون فالكون‌های ۵۰ سی‌سی منتقل و ۲۰ سی‌سی متانول با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد به آن‌ها اضافه شد و پس از تکان دادن آن‌ها به مدت ۱/۵ ساعت توسط دستگاه شیکر، با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه عملیات سانتریفیوژ انجام تا فاز مایع (متانول) از فاز جامد (خاک) جدا شود، سپس فاز مایع توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ درون ارلن شیشه‌ای صاف شد. مراحل مذکور برای خاک باقی مانده داخل فالكون، مجدداً 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 پارافیلیم بسته و در یخچال با دمای ۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جهت آماده‌سازی نمونه‌ها برای تزریق به دستگاه HPLC، برای تغلیظ باقیمانده‌ی متری بیوزین در محلول جمع‌آوری شده، با استفاده از دستگاه روتاری اوپراتور^۱ 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 متری بیوزین موجود در بالون روتاری اوپراتور اضافه و جهت تحلیل

1- Rotary evaporator

2- Shimadzu

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	-
PH 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 متری بیوزین

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش، اختلافی در کارایی استخراج متری بیوزین در سطوح مختلف ماده آلی وجود نداشت. کارایی استخراج متری بیوزین در سطوح ۱، ۵ و ۱۰ درصد 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 علف کش 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

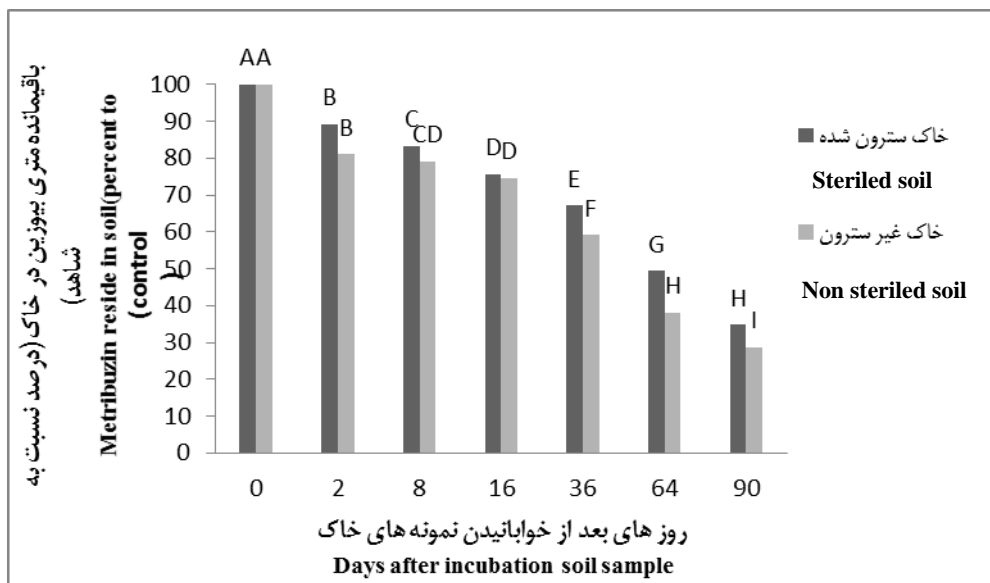
نتایج نشان داد که تجزیه متری بیوزین در خاک سترون شده و سترون نشده اختلاف معنی‌داری ($P \leq 0.01$) با هم داشتند (جدول ۲ و شکل ۱) و افزودن ماده آلی منجر به افزایش سرعت تجزیه متری بیوزین در هر دو خاک شد (جدول ۳). از سوی دیگر با افزایش دوره نگهداری نمونه‌های خاک در انکوباتور باقیمانده متری بیوزین در خاک بطور معنی‌داری کاهش یافت و اثرات متقابل سترون کردن خاک و افزودن کود آلی به خاک و نیز زمان خواباندن نمونه‌های خاک بر تجزیه متری بیوزین معنی‌دار ($P \leq 0.01$) شد (جدول ۲). براساس نتایج آزمایش باقیمانده متری بیوزین در خاک سترون شده تا ۱۶ روز اختلاف معنی‌داری با خاک سترون نشده نداشت (شکل ۲)

اما بعد از این مدت، دو خاک اختلاف معنی‌داری به لحاظ باقیمانده متری بیوزین با هم داشتند. به طوری که باقیمانده متری بیوزین در روزهای ۳۶، ۶۴ و ۹۰ روز بعد از خواباندن در خاک غیرسترون به ترتیب ۵۹/۱۲، ۳۸/۱۸ و ۲۸/۵۵ درصد مقدار اولیه و در خاک سترون شده به ترتیب ۶۷/۱۳، ۴۹/۳۸ و ۳۴/۷۶ درصد مقدار اولیه بود. عدم اختلاف معنی‌دار باقیمانده متری بیوزین در دو خاک، در روزهای اول بعد از خواباندن نمونه‌های خاک، ممکن است مرتبط با عدم سابقه‌ی کاربرد علف کش و نیاز به سازگاری ریزجانداران تجزیه‌کننده متری بیوزین 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 تجزیه‌کننده 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
سترون کردن خاک × ماده آلی (Soil sterilization × Organic matter)	240.1**	3
زمان (Time)	13889.7**	6
سترون کردن خاک × زمان (Soil sterilization × Time)	98**	6
ماده آلی × زمان (Time × organic matter)	237.5**	18
سترون کردن خاک × زمان × ماده آلی (Soil sterilization × Time × Organic matter)	204.1**	18
خطا (Error)	31.4	112)
ضریب تغییرات (Coefficient of variation)	8.1	-

**معنی داری در سطح ۱ درصد
(Significant at 1%)



شکل ۱- تأثیر دوره‌های مختلف نگهداری نمونه‌ها در انکوباتور بر تجزیه متری بیوزین 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

(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 می‌شوند (۱۹). بر اساس نتایج آنالیز رگرسیون داده‌های حاصل از این

تأثیر تجزیه علف‌کش در خاک سترون شده و غیر سترون بر نیمه عمر متری بیوزین

در مطالعات مربوط به باقیمانده علف‌کش‌ها در خاک DT50 (زمانی که ۵۰ درصد علف‌کش در خاک تجزیه می‌شود) و DT90

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 متری بیوزین در خاک سترون شده و بدون کاربرد کود گاوی ۸۰/۵ روز بود و با کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد مواد آلی نیمه عمر آن به ۹۱، ۴۹/۵۰ و ۵۱/۳ روز تغییر یافت (جدول ۳).

آزمایش، روند تجزیه متری بیوزین در هر دو خاک از معادله سینتیکی 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 متری بیوزین در خاک غیرسترون و بدون کاربرد ماده آلی ۸۵/۷ روز بود و کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی به خاک غیرسترون منجر به کاهش نیمه عمر آن از ۸۵/۷ روز به ترتیب به ۴۷/۸، ۵۷/۸، ۳۸ روز

جدول ۳- پارامترهای برآورده شده توسط معادله سینتیکی درجه اول و طول عمر متری بیوزین 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)	مواد آلی (درصد) Organic matter (%)	DT90 (Day) (روز)	DT50 (Day) (روز)	C0	K (میلی گرم در کیلوگرم در روز) K(mg/kg/day)	سطح احتمال Probabil ity 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)	-0.018(0.0008)	0.0006	0.96

*خطای استاندارد

*standard error

به ترتیب نمایانگر مدت زمانی است که ۵۰ و ۹۰ درصد علف کش تجزیه می‌شود. DT50 و DT90

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) و K

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

معنی‌داری نداشت. بر اساس گزارش نامبرده، اضافه کردن ۲ درصد ماده آلی، تجزیه متری بیوزین را در خاک سطحی و زیر سطحی سترون شده و غیرسترون فاقد گلوکز افزایش داد. اما تاثیر آن در خاک سطحی سترون نشده بمراتب بیشتر بود. نامبرده علت این مساله را جمعیت بالای ریزجانداران تجزیه کننده متری بیوزین در خاک سطحی سترون نشده گزارش کردند. با توجه به نتایج این بررسی مشاهده شد که هر چند نیمه عمر متری بیوزین در خاک سترون شده و خاک سترون نشده زمانی که هیچ گونه کود آلی به آن اضافه نشده بود، اختلاف چندانی با هم نداشتند اما کاهش معنی‌دار آن در خاک سترون نشده با افزایش کود آلی نشان از تاثیر گذار بودن تجزیه زیستی متری بیوزین در خاک دارد. در این ارتباط روند تغییرات سرعت تجزیه متری بیوزین نیز بیانگر این واقعیت است. بطوری‌که، کاربرد ۱، ۵ و ۱۰ درصد کود دامی منجر به افزایش ضریب تجزیه متری بیوزین از ۰/۰۰۸۱ و ۰/۰۱۴۵، ۰/۰۱۲۱ و ۰/۰۱۸۲، ۰/۰۰۸۱ میلی گرم متری بیوزین در کیلوگرم خاک در روز در خاک غیرسترون شد. حال اینکه در خاک سترون شده با کاربرد کود آلی در سطوح مذکور سرعت تجزیه را از ۰/۰۰۸۳ و ۰/۰۰۷۶، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۱۳۵ افزایش یافت (جدول ۳).

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 سترون شده بیان کردند که تجزیه شیمیایی از عوامل موثر در تجزیه متری بیوزین در خاک است. نامبردگان نیمه عمر حاصل از تجزیه شیمیایی متری بیوزین را در خاک رسی مورد مطالعه، ۱۰۷ روز و در خاک لوم شنی ۱۴۴ روز گزارش کردند. در آزمایشی که توسط ساواج (۱۷) به منظور بررسی تجزیه متری بیوزین در خاک سترون، غیرسترون و خاک آمیخته شده به دو درصد گلوکز به عنوان ماده آلی در نمونه‌های مربوط به خاک سطحی و زیر سطحی، انجام شد، مشاهده شد که در خاک زیر سطحی بر خلاف خاک سطحی، سرعت تجزیه متری بیوزین در دو خاک سترون و غیرسترون اختلاف

در تیمار حاوی کاه گندم نیز ۸ درصد از متری بیوزین اولیه بعد از ۸ هفته باقی ماند. کاربرد بقایای خشک یونجه باعث کاهش تجزیه متری بیوزین 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 متری بیوزین، اظهار داشتند که نوع و ماهیت پالاینده‌آلی نقش موثری در روند تجزیه آن دارد. بطور کلی نتایج این آزمایش ضمن اینکه نشان از تأثیر گذار بودن تجزیه شیمیایی و بخصوص تجزیه زیستی در تجزیه متری بیوزین در خاک دارند. نشان می‌دهند که تأثیر سطوح مختلف کود آلی در افزایش تجزیه و کاهش باقیمانده متری بیوزین، احتمالاً از طریق فراهم کردن 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 خاک‌های کشورمان که دارای مواد آلی کمی هستند اهمیت دارد. با این حال با توجه به عوامل متعدد تأثیرگذار بر سرنوشت علف‌کش‌ها، در مطالعات آتی انجام مطالعات مزرعه‌ای و مقایسه نتایج حاصل از آنها با نتایج آزمایش‌های کنترل شده و هم چنین بررسی روش‌های مختلف برای مطالعه تجزیه شیمیایی پیشنهاد و تأکید می‌شود.

خاک غیرسترون، کاربرد ۱۰ درصد کود آلی و در خاک سترون شده کاربرد ۵ درصد کود آلی بیشترین تأثیر 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 سترون شده) داشت، اهمیت مواد آلی در تجزیه زیستی و شیمیایی متری بیوزین 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 متری بیوزین در خاک انجام دادند، گزارش کردند که با افزایش ماده آلی، نیمه‌عمر متری بیوزین به صورت صعودی کاهش پیدا کرد. بطوری که کاربرد کودآلی از صفر درصد به ۲۵، ۷۵، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد منجر به کاهش نیمه‌عمر علف‌کش از ۱۵/۴ به ۹/۶، ۱۲/۴، ۷ و ۳/۱ روز شد. دنیس و نیلور (۵) در آزمایشی تأثیر پالاینده‌های آلی گلوکز، کاه گندم و بقایای خشک یونجه را بر تجزیه متری بیوزین 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 متری بیوزین به ترتیب بعد از ۸ و ۱۲ هفته خوابانیدن باقی ماند و این مقادیر برای خاک بدون ماده آلی به ترتیب ۱۶ و ۶ درصد بود.

منابع

- 1- Accinelli C., Dinelli G., Vicari A., and Catizone P. 2001. Atrazine 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 Monterubbiansi G. 1999. Persistence 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, 1. *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 rotundus* 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.

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. Fakhrerad¹- E. Izadi Darbandi^{2*}- M.H. Rashed Mohassel³- M. Hassanzadeh-Khayat⁴- H. Nassirli⁵

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 II 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