تأثیر علف‌کش‌های مختلف بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک

اختراقتصادی، اکبر قویدل[1]، علی اشرف سلطانی طولارود و معراج شرری

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشگاه محقق اردبیلی؛ akhtareghtesadi@Gmail.com

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه محقق اردبیلی؛ Ghavidel@uma.ac.ir

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک دانشگاه محقق اردبیلی؛ Ali@soltani.gmail.com

استادیار گروه منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی؛ m-sharari@uma.ac.ir

دریافت: 97/7/11 پذیرش: 98/9/27

چکیده

زمینه و هدف: هدف از این تحقیق بررسی تأثیر پنج علف‌کش (تری‌بنورون متیل، متریبوزین، تریفلورالین، هالوکسی‌فوپ آرمتیل و توفوردی) بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز خاک بود. روش بررسی: آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با پنج تیمار علف‌کش و خاک شاهد در سه تکرار و به مدت شش ماه انجام شد و فعالیت آنزیم‌ها در ابتدای آزمایش، سه و شش ماه پس از شروع آزمایش اندازه‌گیری شد. غلظت علف‌کش‌ها 0/27، 0/67، 0/67، 0/67 و 0/1میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب برای هالوکسی فوپ، متریبوزین، تریفلورالین، توفوردی و تریبنورون متیل بود.یافته‌ها: بین علف‌کش‌ها از لحاظ تأثیر بر فعالیت آنزیم‌ها تفاوت معنی‌داری (p≤0/01) وجود داشت. اثر علف‌کش‌ها پس از سه ماه کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز نسبت به شاهد (34/9 $\mu gN.g^{-1}$) بود که بیشترین تغییرات معنی‌دار مربوط به تریفلورالین (24/8 $\mu gN.g^{-1}$) بود که نسبت به شاهد 28/9 درصد کاهش داشت. فعالیت آنزیم اوره‌آز پس از شش ماه نسبت به سه ماه افزایش داشت و در مورد علف‌کش‌های تریفلورالین (35/1 $\mu gN.g^{-1}$) این افزایش به میزان 41/5 درصد بود که نسبت به همین تیمار در مدت سه ماه تفاوت معنی‌داری داشت؛ در حالی که تغییرات در شاهد در شش ماه نسبت به سه ماه معنی‌دار نبود. در مورد آنزیم دهیدروژناز همه علف‌کش‌ها موجب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم پس از سه ماه نسبت به شاهد (0/6 $\mu gTPF.g^{-1}$) شدند به طوری که کمترین فعالیت آنزیم در تیمار هالوکسی فوپ با 0/01 $\mu gTPF.g^{-1}$ مشاهده شد که کاهش 98% نسبت به شاهد نشان داد. فعالیت این آنزیم در مورد همه تیمارها پس از شش ماه نسبت به سه ماه افزایش معنی‌داری داشت به طوری که بیشترین فعالیت آنزیم در تیمار توفوردی (1/44 $\mu gTPF.g^{-1}$) مشاهد شد که به طور معنی‌داری از شاهد بیشتر بود. نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که علف‌کش‌های مورد مطالعه در طول دورهٔ سه ماه موجب کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌ها نسبت به شاهد شده که این فعالیت آنزیمی پس از شش ماه مجدداً به سطح قبل از مصرف علف‌کش‌ها رسیده است. این موضوع احتمالاً به این دلیل بوده است که زمان ماندگاری علف‌کش‌ها در خاک کمتر از شش ماه بوده است.

واژه‌های کلیدی: آفت‌کش، آلودگی خاک، شاخص کیفیت خاک، فعالیت آنزیمی خاک

---

[1] نویسند مسئول، آدرس: گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

مقدمه

علف‌کش‌ها از پرمصرف‌ترین سموم مبارزه با آفات گیاهی به حساب می‌آیند، به طوری که 60 درصد سموم مصرف شده در دنیا را به خود اختصاص داده‌اند (عرفان منش، 1381). علی رغم برخی مشکلات زیست محیطی که برای علف‌کش‌ها ذکر شده است، این ترکیبات هنوز هم به عنوان یکی از اجزاء مهم مدیریت تلفیقی علف‌های هرز در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده مداوم از سموم دفع آفات ممکن است ریزجانداران خاک را با تغییر در خصوصیات یا تعداد آنها تحت تأثیر قرار دهد که در نتیجه حاصلخیزی خاک به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد (منصورزاده و رئیسی، 1391). هالوکسی فوپ آر-متیل-استر یک علف‌کش انتخابی و سیستمیک و از خانواده آریلوکسی فنوکسی پروپیونات (فوپ) است که عمدتا برای کنترل علف‌های هرز یکساله (دم روباهی و یولاف وحشی) و چندساله (سوروف، مرغ و قیاق) باریک برگ استفاده می‌شود. نقش این علف‌کش در بازدارندگی فعالیت آنزیم استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز[1] است که یکی از آنزیم‌های اولیه در ساخت اسیدهای چرب است (زارعی، 1393).

توفوردی[2] یک علف‌کش انتخابی و سیستمیک است که خواص هورمونی نیز دارد و موجب رشد غیر طبیعی شده و روی تنفس گیاه تأثیر می‌گذارد (موسوی و رستگار، 1376). متریبوزین[3] بیشتر از طریق ریشه جذب می‌شود، ولی از طریق برگ‌ها نیز جذب می‌شود. حرکت آن در نبات از پائین به بالا است. بیشتر در ریشه و ساقه و برگ وجود دارد و در میوه و دانه کمتر یافت می‌شود. عمل فتوسنتز جلوگیری می‌کند (موسوی و رستگار، 1376). تری‌فلورالین[4] علف‌کشی است پیش رویشی با اثر انتخابی که در خاک مصرف می‌شود و مانع از جوانه زدن بذور می‌گردد (موسوی و رستگار، 1376). تری بنورون – متیل[5] علف‌کش سیستمیک انتخابی است که برای کنترل علف‌های هرز گیاهان دو لپه‌های 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 تریبنورون -متیل با مهار سنتز اسیدهای آمینه به ویژه والین و ایزولوسین، مانع تقسیم سلولی و رشد سلول‌ها می‌شود (باکستر و کوم ینگز[6]، 2006).

فعالیت‌های آنزیمی در خاک از جمله شاخص‌های بیوشیمیایی است که برای ارزیابی اثر آلاینده‌ها به ویژه سموم دفع آفات، بر کیفیت خاک و پایداری اکوسیستم همواره مورد استفاده قرار می‌گیرند (رحمانشاه و همکاران[7]، 2009). همچنین از آنجا که فعالیت آنزیمی با فرآیندهای اکوسیستمی مختلفی شامل تشکیل خاک، تبدیل مواد آلی و فعالیت‌های زیست پالایی در ارتباط است، یافتن عوامل فیزیکی و شیمیایی متفاوت اثر گذار بر فعالیت‌های آنزیمی دارای اهمیت ویژه‌ای است (کوجور و همکاران[8]، 2012). آنزیم‌های خاک و ریزجانداران عوامل اصلی و پایه‌ای فرآیندهای زیستی خاک محسوب می‌شوند (لی و همکاران[9]، 2009). فعالیت آنزیم دهیدروژناز به عنوان شاخصی برای اکسایش و کاهش در سیستم‌های زیستی بوده و چون فقط در سلول‌های زنده میکروبی وجود دارد، لذا نشانگر و مقیاس مناسبی برای فعالیت میکروبی و اندازه‌گیری شدت متابولیسم میکروبی در خاک محسوب می‌شود (نانیپیری و همکاران[10]، 2002).

در تحقیقی اثر ترکیبی علف‌کش‌های (مزوسولفورن متیل + دیفلوفنیکن+ یدوسولفورون-متیل سدیم) بر جمعیت میکروبی و فعالیت آنزیم‌های خاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مصرف این علف‌کش جمعیت اکتینومیست، *ازتوباکتر* و قارچ‌ها را کاهش داد، همچنین کاربرد ترکیبی علف‌کش‌ها (مزوسولفورن متیل + دیفلوفنیکن + یدوسولفورون-متیل سدیم) فعالیت آنزیم کاتالاز را تحریک نموده اما هیچ تأثیری بر فعالیت دهیدروژناز، اوره‌آز و اسید فسفاتاز، آلکالن فسفاتاز، آریل سولفاتاز و بتا-گلوکوزیداز نداشت بالاترین غلظت علف‌کش (36/5 میلی‌گرم در کیلوگرم) مهار کننده‌ی آنزیم دهیدروژناز، اسید فسفاتاز، آلکالن فسفاتاز، آریل سولفاتاز بود و در غلظت‌های بالاتر، اوره‌آز نسبت به دهیدروژناز مقاوم‌تر بود (باچماگا و همکاران[11]، 2015). اثر پیریمورف[12] که یک قارچ‌کش سیستمیک است، بر فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار با پیریمورف افزایش

1. ACCase
2. 2,4-D
3. Metribuzin
4. Trifluralin
5. Tribenuron- methyl
6. Baxter and Cummings
7. Rahmansyah
8. Kujur
9. Li
10. Nannipieri
11. Baćmaga
12. pyrimorph

چشمگیری در فعالیت اوره‌آز داشته است (ایکزونگ و همکاران[1]، 2013). در تحقیقی علف‌کش تیبوکونازول[2] در در خاک موجب کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز شد (لوز و همکاران[3]، 2011). با توجه به این که فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز به همراه برخی شاخص‌های دیگر از جمله تنفس خاک، زیتوده میکربی و جمعیت میکروبی در خاک به عنوان شاخص‌های کیفیت خاک در نظر گرفته می‌شوند و همچنین فعالیت این دو آنزیم شاخص حساسی در مقابل تغییرات محیط خاک است، لذا هدف تحقیق حاضر بررسی تأثیر پنج علف‌کش پرمصرف با استفاده از سنجش فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک بود تا بتوان از روی این دو شاخص حساس، تاثیر این علف‌کش‌ها بر موجودات زنده و کیفیت خاک را مشخص نمود.

مواد و روش‌ها

نمونه خاک از دامنه کوه سهند با مختصات جغرافیایی 54 درجه و 32 دقیقه تا 54 درجه و 40 دقیقه طول شرقی، 37 درجه و 18 دقیقه تا 37 درجه و 22 دقیقه عرض شمالی تهیه شد. نمونه‌ی خاک از عمق 15-0 سانتی متری برداشته شده و به آزمایشگاه منتقل و در معرض هوا خشک گردید. سپس خاک از الک با قطر روزنه‌های دو میلی‌متری عبور داده شد. برخی خصوصیات خاک شامل pH و هدایت الکتریکی عصاره گل اشباع (گوپتا[4]، 2004)، کربن آلی خاک به روش سوزاندن تر (نلسون و سامرز[5]، 1982)، نیتروژن کل به روش کلدال، فسفر قابل جذب در عصاره‌ی حاصل از بی‌کربنات سدیم نیم نرمال با روش رنگ سنجی، پتاسیم محلول، پتاسیم قابل جذب در عصاره‌ی حاصل از استات آمونیوم یک نرمال با دستگاه فیلم فتومتر و بافت خاک با روش هیدرومتری تعیین شد (جونز[6]، 2001). آفت‌کش‌های مصرفی در این مطالعه هالوکسی فوپ آرمتیل 10/8% EC، متری‌بوزین 70% WP، تریفلورالین 48% EC، توفوردی 67/5% SI، تری‌بنورون متیل 75% DF بودند. هر کدام از آفت‌کش‌ها در سه تکرار به همراه یک تیمار به عنوان شاهد مصرف شدند. واحدهای آزمایش شامل گلدان‌هایی با سه کیلوگرم خاک بود. جهت سنجش میزان تاثیر آفت‌کش‌ها با توجه به غلظت مصرف توصیه شده برای آفت‌کش‌ها به ترتیب (0/27، 0/67، 0/67، 0/67 و 0/1) میلی‌گرم در کیلوگرم خاک به ترتیب برای هالوکسی، متریبوزین، تریفلورالین، توفوردی، تری‌بنورون متیل به همراه یک تیمار به عنوان شاهد در سه تکرار مصرف شدند. آزمایش به مدت شش ماه در اتاقک رشد در دمای 25±2 درجه سانتی‌گراد انجام شد. در مدت آزمایش رطوبت خاک در محدوده‌ی 0/9 - 0/7 ظرفیت مزرعه حفظ گردید. نمونه برداری از گلدان‌ها در دو نوبت، 3 و 6 ماه پس از مصرف آفت‌کش‌ها از عمق 10- 5 سانتی‌متری خاک انجام شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز در سه ارلن مایر 100 میلی‌لیتری هر کدام پنج گرم خاک مرطوب مزرعه ریخته شد. به دو ارلن هر کدام دو و نیم میلی‌لیتر محلول سوبسترا (محلول 0/72 میلی مولار اوره) و 20 میلی‌لیتر بافر بورات افزوده (نمونه‌ها) و به ارلن سوم 20 میلی‌لیتر محلول بافر بورات اضافه شد (شاهد). ارلن‌ها به مدت کوتاه تکان داده شده و درپوش آنها قرار داده شده و به مدت دو ساعت در دمای 37°C نگهداری شدند. پس از انکوباسیون، دو و نیم میلی‌لیتر محلول سوبسترا به شاهد اضافه گردید. مقدار 30 میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم به هر یک از ارلن‌ها (نمونه‌ها و شاهد) افزوده و 30 دقیقه روی همزن دورانی قرار داده شد؛ سپس محتویات ارلن‌های صاف شده و در لوله‌های آزمایش به ترتیب یک میلی‌لیتر عصاره، 9 میلی‌لیتر آب مقطر، 5 میلی‌لیتر معرف A و دو میلی‌لیتر محلول دی کلروایزوسیانورات ریخته شد و در داخل لوله‌های آزمایش مخلوط شده و 30 دقیقه در دمای آزمایشگاه نگهداری شد. سپس نور سنجی در طول موج 690 نانومتر انجام شد. برای تهیه منحنی کالیبراسیون یک میلی‌لیتر از محلول استاندارد قرائت شد. محلول استاندارد حاوی صفر، 1، 1/5، 2 و 2/5 میکروگرم نیتروژن آمونیومی در هر میلی‌لیتر بود. سپس فعالیت آنزیم بر اساس میکروگرم نیتروژن در هر میلی‌لیتر بر طبق رابطهٔ 1 تعیین گردید (کندلر و گربر[7]، 1988).

رابطه1 $$\frac{(S-C)*10*55*100}{5*\%dm} = \mu gN.g^{-1}dm.2h$$

S: میانگین نیتروژن موجود در نمونه‌ها (میکروگرم نیتروژن در میلی‌لیتر)، C: میانگین نیتروژن موجود در شاهد (میکروگرم نیتروژن در میلی‌لیتر)، 10: فاکتور رقت، 55: حجم عصاره(میلی‌لیتر)، 5: وزن اولیه خاک (گرم)، $\frac{100}{\%dm}$: فاکتور تبدیل به جرم خاک خشک.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز در سه لوله دربدار پنج گرم نمونه خاک وزن شده و در دو تای آنها پنج

1. Xiong
2. Tebuconazole
3. Leoz
4. Gupta
5. Nelson and Sommers
6. Jones
7. Kandeler and Gerber

جدول 1- برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

EC (dS/m)	pH	نیتروژن (درصد)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم تبادلی (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	پتاسیم محلول (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	کربن آلی (درصد)	شن (درصد)	سیلت (درصد)	رس (درصد)	بافت
0/6	7/9	0/182	38/2	293	17/4	1/5	32/6	42/8	24/6	لوم

جدول 2- تجزیه واریانس داده‌های فعالیت آنزیم‌های خاک بر اثر کاربرد آفت‌کش‌های مختلف در طول دورهٔ سه و شش ماه

منابع تغییر		درجه آزادی	فعالیت آنزیم اوره‌آز 3 ماه	فعالیت آنزیم اوره‌آز 6 ماه	فعالیت آنزیم دهیدروژناز 3 ماه	فعالیت آنزیم دهیدروژناز 6 ماه
میانگین مربعات	تیمار	5	46/9**	20/7 ns	0/151**	0/412**
	خطا	12	7/85	8/79	0/003	0/014
	کل	17				
مجموع مربعات	تیمار	5	234	103	0/753	2/06
	خطا	12	94/2	105	0/040	0/171
	کل	17	328	208	0/794	2/23

** و ns: به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال 0/01 و غیر معنی‌دار

جدول 3– مقایسه میانگین تأثیر آفت‌کش‌ها بر فعالیت آنزیم اوره‌آز پس از گذشت سه و شش ماه

آفت‌کش‌ها	فعالیت آنزیم اوره‌آز 3 ماه $\mu gN.g^{-1}$	فعالیت آنزیم اوره‌آز 6 ماه $\mu gN.g^{-1}$
تریبنورون	30/3 bc	29/5 bc
متریبوزین	29/97 bc	33/4 ab
تریفلورالین	24/8 c	35/1 ab
هالوکسی‌فوپ	35/7 ab	34/4 ab
توفوردی	29/8 bc	30/8 ab
خاک شاهد	34/9ab	36/4 a

میلی‌لیتر از محلول سوبسترا (حاوی ماده triphenyltetrazolium chloride با غلظت 1 % بر اساس بافت خاک) و در لوله سوم پنج میلی‌لیتر محلول بافر تریس اضافه شد. نمونه‌ها به طور کامل مخلوط شده و به مدت 24ساعت در دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن برای عصاره‌گیری تری فنیل فرمازان (TPF) تولید شده به همه لوله‌ها 25 میلی لیتر استن اضافه شد. نمونه‌ها در اتاقی نیمه تاریک فیلتر شده و جذب رنگ با اسپکتروفتومتر در 546 نانومتر اندازه‌گیری و طبق رابطهٔ 2 تعیین شد (تالمان[1]، 1968).

رابطه 2 $E=\frac{(S-C)\times 100}{5\times dm\%}\ \mu gTPF.g^{-1}dm.16h^{-1}$

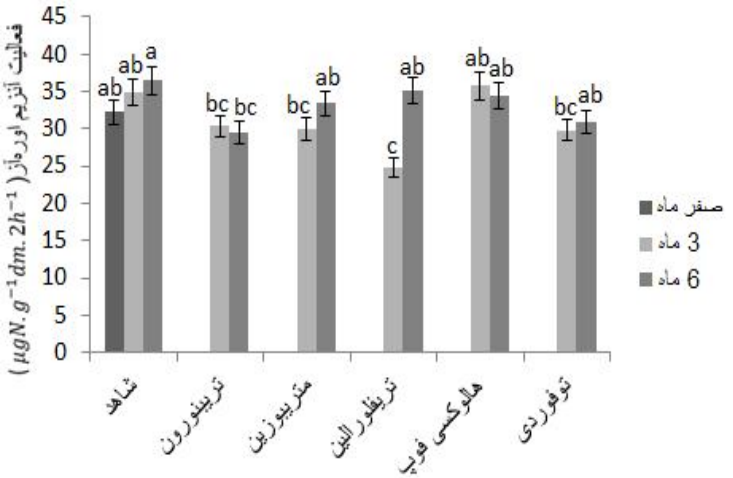
E: فعالیت دهیدروژناز بر حسب $\mu gTPF.g^{-1}dm.16h^{-1}$، S: میانگین مقدار TPF در نمونه بر حسب (میکروگرم)، C: میانگین مقدار TPF درشاهد بر حسب (میکروگرم)، 5: وزن اولیه خاک بر حسب (گرم)، $\frac{100}{dm\%}$: فاکتور محاسبه جرم خاک خشک. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش 22 و مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال 0/05 انجام شد. برای رسم نمودار از نرم افزار Excel MS - 2013 استفاده گردید.

1. Thalmann

نتایج

مشخصات خاک مورد استفاده در این آزمایش در جدول 1 ارائه شده است.

براساس جدول 3 بین تیمارهای علف‌کش از لحاظ تأثیر بر فعالیت آنزیم اوره‌آز تفاوت معنی‌داری ($p\leq0/01$) وجود داشت. در مدت سه ماه، از بین همه تیمارهای علف‌کش، فقط تیمار تریفلورالین موجب کاهش معنی‌دار در مقایسه با شاهد شده بود. براساس مقایسه و میانگین داده‌ها با استفاده از دانکن، بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم اوره‌آز در سه ماه به ترتیب مربوط به تیمارهای هالوکسی فوپ $\mu gN.g^{-1}$ 35/7 و تریفلورالین $\mu gN.g^{-1}$ 24/8 بود که این تغییرات در مقایسه با شاهد در مورد هالوکسی معنی دار نبود ولی در مورد تریلفورالین کاهش معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم اوره‌آز پس از شش ماه از شروع آزمایش در تیمار تریبنورون متیل نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری ($p\leq0/01$) داشته است؛ ولی بین سایر تیمارهای علف‌کش و شاهد تفاوتی معنی‌داری مشاهده نشد.



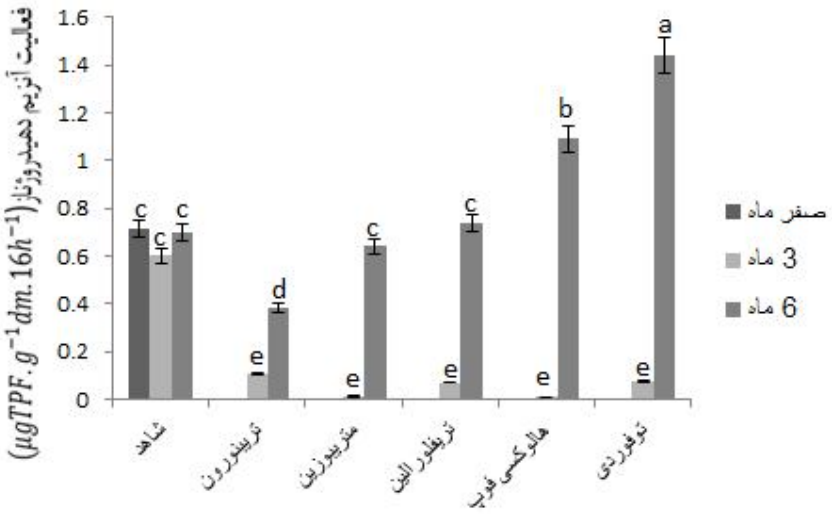
شکل 1- تأثیر علف‌کش‌های مختلف بر فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک در مدت 3 و 6 ماه (داده‌های هر تیمار میانگین هر مرحله‌ی زمانی است و حروف مشترک بالای هر ستون بر اساس آزمون دانکن فاقد اختلاف معنی‌داری ($p\leq0/01$) هستند)

فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک شاهد در زمان‌های صفر، سه و شش ماه به ترتیب 32/2، 34/9و 36/4 میکروگرم نیتروژن در گرم خاک بود که بین زمانهای صفر، سه و شش ماه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 1). در سه ماه اول کاربرد علف‌کش‌ها، تیمارهای تریبنورون، متریبوزین، توفوردی تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز به ترتیب برابر با $\mu gN.g^{-1}$ 30/3، $\mu gN.g^{-1}$ 29/9، $\mu gN.g^{-1}$ 29/8 بود که با وجود کاهشی بودن روند تغییرات فعالیت این آنزیم، تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد مشاهده نشد. در پایان دوره شش ماه، تیمارهای تریبنورون، متریبوزین، تریفلورالین، توفوردی و هالوکسی فوپ تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز به ترتیب برابر با $\mu gN.g^{-1}$ 29/5، $\mu gN.g^{-1}$ 33/4، $\mu gN.g^{-1}$ 35/1، $\mu gN.g^{-1}$ 30/8، $\mu gN.g^{-1}$ 34/4 بود که با وجود تغییر در فعالیت آنزیم اوره‌از در زمان شش ماه نسبت به شش ماه این تفاوت تنها در مورد تیمار تریفلورالین افزایش معنی‌داری داشت و در مورد سایر تیمارها تفاوت بین سه و شش ماه معنی‌دار نبود.

براساس جدول 2 بین تیمارهای علف‌کش از لحاظ تأثیر بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز تفاوت معنی‌داری ($p\leq0/01$) وجود داشت. بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن، بیشترین و کمترین تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز به ترتیب مربوط به تیمارهای توفوردی شش ماه $\mu gTPF.g^{-1}$ 1/44 و تریبنورون سه ماه $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/01 بود.

جدول 4- مقایسه میانگین تأثیر آفت‌کش‌ها بر فعالیت آنزیم دهیدوژناز پس از گذشت سه و شش ماه

آفت‌کش‌ها	فعالیت آنزیم دهیدروژناز3 ماه $\mu gTPF.g^{-1}$	فعالیت آنزیم دهیدروژناز6 ماه $\mu gTPF.g^{-1}$
تریبنورون	0/107 ^{e}	0/38 ^{d}
متریبوزین	0/011 ^{e}	0/64 ^{c}
تریفلورالین	0/07 ^{e}	0/74 ^{c}
هالوکسی	0/01 ^{e}	1/09 ^{b}
توفوردی	0/074 ^{e}	1/44 ^{a}
خاک شاهد	0/6^{c}	0/7 ^{c}



شکل2- تأثیر علف‌کش‌های مختلف بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک در مدت 3 و 6 ماه (داده‌های هر تیمار میانگین هر مرحله‌ی زمانی است و حروف بالای هر ستون بر اساس آزمون دانکن معنی‌دار ($p\leq 0/01$) هستند).

فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک شاهد در زمان‌های صفر، سه و شش ماه به ترتیب 0/7، 0/6و 0/7 میکروگرم TPF در گرم خاک بود (شکل 2). تیمار هالوکسی فوپ پس از سه ماه بیشترین و تیمار تریبنورون پس از سه ماه کمترین تأثیر منفی را بر تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک داشت که به ترتیب برابر با $\mu gN.g^{-1}$ 0/01 و $\mu gN.g^{-1}$ 0/107 بود. تیمار تریبنورون پس از شش ماه بیشترین و تیمار توفوردی پس از شش ماه کمترین تأثیر منفی را بر تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک داشت که به ترتیب برابر با $\mu gN.g^{-1}$ 0/38 و $\mu gN.g^{-1}$ 1/44 بود. در سه ماه اول به کارگیری آفت‌کش‌های تیمار تریبنورون، تریفورالین، توفوردی، هالوکسی فوپ و متریبوزین تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز به ترتیب برابر با $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/107، $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/07، $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/074، $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/01، $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/011 بود که کاهش معنی‌داری ($p\leq 0/01$) نسبت به شاهد داشتند. در پایان دوره شش ماه تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز در تیمارهای توفوردی و هالوکسی فوپ به ترتیب برابر با $\mu gTPF.g^{-1}$ 1/44و $\mu gTPF.g^{-1}$ 1/09 بود که افزایش معنی‌داری ($p\leq 0/01$) نسبت به شاهد داشتند. در تیمار تریبنورون تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز به ترتیب برابر با $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/38 بود که کاهش معنی‌داری ($p\leq 0/01$) نسبت به شاهد داشت. در تیمارهای تریفورالین و متریبوزین تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز به ترتیب برابر با $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/74 و $\mu gTPF.g^{-1}$ 0/64بود تغییری نسبت به شاهد نداشتند. تیمارهای تریبنورون، متریبوزین، تریفلورالین، هالوکسی فوپ، توفوردی تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز پس از شش ماه نسبت به مقدار سه ماه افزایش معنی‌داری داشتند.

با توجه به شکل 2 می‌توان اظهار داشت که استفاده از این علف‌کش‌ها در مدت سه ماه تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک را به شدت کاهش داده است ولی پس از گذشت شش ماه از شروع آزمایش

تغییرات فعالیت این آنزیم در برخی از تیمارها مجدداً افزایش یافته و حتی در مورد علف‌کش‌های توفوردی و هالوکسی فوپ این افزایش چشمگیر بوده و اختلاف معنی‌داری ($p\leq 0/01$) با شاهد داشته است.

بحث

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 (کویلچانو و مارانون[1]، 2002). مطالعات نشان داد که فعالیت دهیدروژناز شاخص خوبی برای تغییرات فرآیندهای اکسایش - احیاء در خاک در نتیجه مصرف علف‌کش می‌باشد (وا و همکاران[2]، 2014). بلو و همکاران[3] (2013) گزارش کردند که در صورت رعایت دستورالعمل‌های کشاورزی در به کارگیری علف‌کش‌ها، فعالیت آنزیمی خاک تحت تأثیر منفی قرار نمی‌گیرد و یا موجب نوسانات گذرا در فعالیت آنزیمی خاک می‌شود. محققان دیگری نیز نشان داده‌اند که اگر آفت‌کش به کار رفته در خاک، توسط جمعیت میکروبی خاک تجزیه شود، افزودن این آفت‌کش موجب افزایش فعالیت زیستی خاک در میان مدت می‌شود. هرچند در ابتدا ممکن است کاهش فعالیت زیستی خاک مشاهده شود (گوزوامی و همکاران[4]، 2013).

به طور کلی، کاهش فعالیت آنزیمی در محیط های تیمار شده با علف‌کش‌ها احتمالاً به دلیل اثر سمی علف‌کش‌ها بر سنتز آنزیم‌ها توسط ریزجانداران خاک می‌باشد. علف‌کش‌ها بر تنوع و تراکم ریزجانداران خاک نیز تأثیر می‌گذارند (زند و همکاران، 1387). رشد ریزجانداران پس از افزودن آفت‌کش‌ها ممکن است به دلیل افزایش منبع کربن در اثر مرگ ریزجانداران حساس به آفت‌کش باشد که موجب افزایش رشد ریزجانداران مقاوم به آفت‌کش می‌شود (والپروپ و همکاران[5]،2004). علف‌کش‌هایی مانند آترازین، متری‌بوزین، تریفلورالین و ایمازامتابنز احتمال ماندگاری تا 9 ماه یا بیشتر را در خاک دارند. هالوکسی فوپ- متیل در خاک با سرعت زیاد تجزیه می‌شود و نیمه‌ی عمرآن در انواع خاک مختلف از 27 تا 100 روز با میانگین 55 روز می‌باشد (اشتون و موناکو[6]، 1991). برخی محققین علت این افزایش تجزیه را به تأثیر حضور مواد سهل‌الوصول کربنی بر افزایش جمعیت باکتری‌های مورد آزمایش نسبت داده‌اند (سایکون و همکاران[7]، 2009). همچنین نشان داده شده است که کربن و نیتروژن موجود در ساختار علف‌کش‌ها می‌تواند به عنوان منبع انرژی توسط ریزجانداران خاک مورد استفاده قرار گیرد (برسینو[8]، 2007). بنابراین می‌توان انتظار داشت که با مصرف علف‌کش‌ها در کوتاه مدت (مثلا تا سه ماه) به دلیل از بین رفتن برخی ریزجانداران حساس، فعالیت آنزیم دهیدورژناز که نشان دهنده فعالیت هتروتروفی خاک است، کاهش یابد و پس از این مدت با گذشت زمان فعالیت این آنزیم به دلیل افزایش فعالیت هتروتروفی ناشی از فراوانی منابع سهل الوصول کربن (حاصل از اجساد ریزجانداران مرده یا کربن موجود در علف‌کش) مجددا افزایش یابد. این فرضیه با یافته‌های این تحقیق مطابقت داشت به نحوی که پس از گذشت شش ماه، کاربرد توفورودی و هالوکسی فوپ موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم دهیدروژناز نسبت به شاهد شده و سطح این آنزیم را حتی به بیشتر از زمان شروع آزمایش رسانده است (شکل 2). با توجه که مقدار نیتروژن در ساختار علف‌کش‌ها بسیار کمتر از مقدار کربن است، لذا می‌توان انتظار داشت که این فرضیه در مورد آنزیم اوره‌آز صدق نکند که یافته‌های این تحقیق این موضوع را تأیید می‌کند. البته با گذشت زمان میزان سمیت و اثرات سوء علف‌کش‌ها کاهش یافته و ریزجانداران قادر به تخریب علف‌کش‌ها می‌شوند و از آنها به عنوان منبع عناصر غذایی برای فرآیندهای فیزیولوژیک خود استفاده می‌کنند با این حال، قبل از تخریب، علف‌کش اثرات سمی بر ریزجانداران، کاهش فراوانی آنها، فعالیت و در نتیجه تنوع جوامع آنها می‌گردد (برا و قوش[9]، 2013).

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که بین آفت‌کش‌ها از لحاظ تأثیر بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک تفاوت معنی‌داری وجود دارد و تغییرات فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک پس از سه ماه از زمان مصرف قابل مشاهده بود و پس از گذشت شش ماه تقریباً به سطح قبل از مصرف رسیده که احتمالاً به این دلیل است که پس از شش ماه ریزجانداران قادر به تخریب علف‌کش‌ها هستند و از آنها به عنوان منبع عناصر

1. Quilchano and Maranon
2. Wu
3. Bello
4. Goswami
5. Waldrop
6. Ashton and Monaco
7. Cycon
8. Briceno
9. Bera and Ghosh

غذایی برای فرآیندهای حیاتی خود استفاده می‌کنند. نتایج نشان داد که از بین علف‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق، متریبوزین بیشترین و هالوکسی فوپ کمترین تأثیر منفی را بر فعالیت این آنزیم‌ها در خاک داشته است. علیرغم این که فعالیت آنزیم‌ها در پس از شش ماه تقریباً به سطح قبل از آزمایش رسیده بود، ولی یافته‌های این آزمایش نشان داد که علف‌کش‌های مورد استفاده تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم‌ها خاک و احتمالاً روی ریزجانداران خاک داشته‌اند. این نکته قابل ذکر است که احتمالاً علت از بین رفتن اثر برخی از علف‌کش‌ها، تجزیه یا حذف این علف‌کش‌ها از خاک پس از گذشت شش ماه بوده است. با توجه به این که فعالیت آنزیم اوره‌آز بر چرخه نیتروژن در خاک و در نتیجه وضعیت حاصلخیزی خاک مؤثر است، لذا می‌توان نتیجه گرفت که حداقل در کوتاه مدت، استفاده از علف‌کش‌ها موجب اختلال در چرخه نیتروژن و کاهش حاصلخیزی خاک می‌شوند. همچنین فعالیت آنزیم دهیدروژناز هم از شاخص‌های نشان دهندهٔ فعالیت هتروتروفی خاک و چرخه کربن در خاک است که به طور غیر مستقیم بر حاصلخیزی خاک تأثیر گذار است. لذا کاهش فعالیت این آنزیم در کوتاه مدت نیز نشان می‌دهد که استفاده از علف‌کش‌ها موجب تأثیر منفی بر فعالیت این آنزیم و در نتیجه اختلال در چرخه کربن خاک می‌شود. با توجه به این که برای اکثر محصولات کشاورزی زمان رشد حدود سه ماه است، لذا به نظر می‌رسد که کاهش فعالیت آنزیمی خاک در این مدت می‌تواند روی بهره‌وری محصول و عملکرد گیاه تاثیر منفی داشته باشد. بنابراین برای استفاده از علف‌کش‌ها باید تأثیر سوء آنها بر اکوسیستم خاک نیز مد نظر قرار گیرد. در مورد تأثیرات علف‌کش‌ها بر اکوسیستم خاک می‌توان اظهار داشت که احتمالاً علف‌کش‌ها موجب تغییرات جمعیت گروه‌های میکروبی شده و به هم خوردن تعادل جامعه میکروبی خاک باعث کاهش حاصلخیزی و پایداری خاک و کیفیت خاک شود.

فهرست منابع:

1. اسکندر، ز. موسوی، ک. حیدری، ا. 1387. علف‌کش‌ها و روش‌های کاربرد آنها (با رویکرد بهینه سازی و کاهش مصرف)، مشهد: جهاد دانشگاهی مشهد، 572 ص.
2. زارعی، ط. کاظمینی، ع.ر. غدیری، ح. 1393. اثر کاربرد علف‌کش هالوکسی فوپ آر متیل استر و مویان بر کنترل علف‌های هرز باریک برگ و عملکرد و اجزای عملکرد دانهٔ گلرنگ، دوره 16، شماره 4، سال 1393، صفحه‌های 956-945.
3. عرفان منش، م. افیونی، م. 1381. آلودگی محیط زیست، آب، خاک و هوا (چاپ دوم) انتشارات ارکان، اصفهان.
4. موسوی، م. ر. رستگار، م. ع. 1376. آفت‌کش‌ها در کشاورزی، انتشارات برهمند دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین.
5. منصور زاده، م. رئیسی، ف.1391 .اثر علف‌کش ارادیکان بر کربن و نیتروژن توده زنده میکروبی و فعالیت اوره‌آز و آریل سولفاتاز در یک خاک آهکی تحت شرایط مزرع‌های، دانشگاه شهرکرد، سال شانزدهم ، شماره پنجاه و نهم، صفحه‌های 167- 153 .
6. Ashton, F. and Monaco, T. J. 1991. Weed knowledge: basics and methods. Translation of Ghadiri, H. 1386. Third print, Shiraz: Shiraz University publication.
7. Baxter, J. and Cummings, S. 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.
8. Bera, S. and Ghosh, R. 2013. Soil microflora and weed management as influenced by atrazine 50 % WP in sugarcane. Universal Journal of Agricultural Research. 1(2): 41-4
9. Baćmaga, M. Borowik, A. Kucharski, J. Tomkiel, M. and Wyszkowska, J. 2015. Microbial and enzymatic activity of soil contaminated with a mixture of diflufenican+ mesosulfuron-methyl+ iodosulfuron-methyl-sodium. Environmental Science and Pollution Research, 22(1):643-656.

10. Bello, D. Trasar-Cepeda, C. Leirós, M. C. and Gil-Sotres, F. 2013. Modification of enzymatic activity in soils of contrasting pH contaminated with 2, 4-dichlorophenol and 2,4,5-trichlorophenol. Soil Biology Biochemistry, 56: 80–86.
11. Briceno, G. Palma, G. and Durán, N. 2007. Influence of organic amendment of the biodegradation and movement of pesticides. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 37(3): 233-271.
12. Cycon, M. Wojcik, M. and Piotrowska-Seget, Z. P. 2009. Biodegradation of the organophosphorus insecticide diazinon by *serratia* sp. and *psedomonas* sp. and their use in bioremediation of contaminated soil. Chemosphere, 76(4): 494-501.
13. Gupta, P. K. 2004. Soil, plant, water and fertilizer analysis. Agrobios. India.
14. Goswami, M. R. Pati, U. K. Chowdhury. A. and Mukhopadhyay, A. 2013. Studies on the effect of cypermethrin on soil microbial biomass and its activity in an alluvial soil. International Journal of Agricultural and Food Science, 3(1): 1-9.
15. Jones Jr, J. B. 2001. Laboratory guide for conducting soil tests plant and plant analysis. CRC Press.
16. Muñoz -Leoz, B. Ruiz-Romera, E. Antigüedad, I. and Garbisu, C. 2011. Tebuconazole application decreases soil microbial biomass and activity. Soil Biology and Biochemistry, 43(10): 2176-2183.
17. Kujur, M. Gartia, S.K. and Patel, A. K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on enzyme activities in dry tropical ecosystems. Journal of Agricultural and Biological Science, 7(9): 763-773.
18. Kandeler, E. and Gerber, H. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. Biology and Fertility of Soils, 6(1): 68-72.
19. Nannipieri, P. Kandeler, E. and Ruggiero, P. 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil.p. Enzymes in the Environment. Marcel Dekker, New York, 1-33.
20. Nelson, D. W. and Sommers, L. 1982. Total carbon, organic carbon, and organic matter 1. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties, (methodsofsoilan2), 539-579.
21. Quilchano, C. and Maranon, T. 2002. Dehydrogenase activity in mediterranean forest soils. Biology and Fertility of Soils, 35(2): 102-107.
22. Rahmansyah, M. Antonius, S. and Sulistinah, N. 2009. Phosphatase and urease instability caused by pesticides present in soil improved by grounded rice straw. Journal of Agricultural and Biological Science, 4(2): 56-62.
23. 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(1):133-139.
24. Thalmann, A. 1968. Zur Methodik der bestimmung der dehydrogenaseaktivitat im boden mittels triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Landwirtsch Forsch, 21: 249-258.
25. Wu, X. M. Long, Y. H. Li, Y. R. Liu, R. X. and 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.
26. Waldrop, M. P. and Firestone, M. K. 2004. Microbial community utilization of recalcitrant and simple carbon compounds: impact of oak-woodland plant communities. Oecologia, 138(2): 275-284.
27. Xiong, D. Gao, Z. Fu, B. Sun, H. Tian, S. Xiao, Y. and Qin , Z. 2013. Effect of pyrimorph on soil enzymatic activities and respiration. European Journal of Soil Biology, 56:44–48.

Effect of Different Herbicides on the Activity of Dehydrogenase and Urease Enzymes in Soil

A. Eghtesadi, A. Ghavidel[1], A. A. Soltani Toolarood and M. sharari

Former M.A student Soil Biology and Biotechnology of University Mohaghegh Ardabili;
E-mail: akhtareghtesadi@Gmail.com

Associate professor, Department of Science and Engineering Soil of University Mohaghegh Ardabili;
E-mail: Ghavidel@uma.ac.ir

Associate professor, Department of Science and Engineering Soil of University Mohaghegh Ardabili;
E-mail: Ali@soltani.gmail.com

Assistant professor, Department Natural Resources of University Mohaghegh Ardabili;
E-mail: m-sharari@uma.ac.ir

Received: October, 2019 & Accepted: December, 2019

Abstract

Background and Objective: This study aimed to investigate the effect of five herbicides (Tribenuron-methyl, Metribuzin, Trifluoralin, Haloxyfop-methyl, and 2, 4-D) on the soil dehydrogenase and urease activities. Method: The experiment was conducted as a completely randomized design with five herbicides and a control with three replicates for six months and the enzyme activities were measured at beginning of the experiment, and after three and six months. The concentration of herbicides was 0.27, 0.67, 0.67, 0.67, and 0.1 mg/kg soil for Haloxyfop-methyl, Metribuzin, Trifluoralin, 2, 4-D, and Tribenuron-methyl, respectively. Findings: The results showed that the effect of herbicides on the enzyme activities was significantly different ($p \leq 0.01$). After 3 months, the herbicides decreased the urease activity in comparison to the control (34.9 $\mu gN.g^{-1}$). The most reduction was related to Trifluoralin (24.8 $\mu gN.g^{-1}$) which was 28.9% lower than the control. Urease activity increased after six months compared to three months, and this increase was 41.5% for Trifluoralin herbicides (35.1 $\mu gN.g^{-1}$). Urease activity in control treatment in six months was not significant compared to the three months. All of the herbicides significantly reduced the dehydrogenase activity after three months compared to the control (0.6 $\mu gTPF.g^{-1}$), so that the dehydrogenase activity was observed in Haloxyfop treatment with 0.01 $\mu gTPF.g^{-1}$, which was 98% lower than the control. In all treatments, dehydrogenase activity after six months was significantly higher than that in the three months, so that the highest dehydrogenase activity was observed in 2,4-D treatment (1.44 $\mu gTPF.g^{-1}$), which was significantly higher than the control. Conclusion: The results show that the herbicides significantly decreased the activity of the enzymes compared to the control during the three months. After six months the enzyme activities recovered to the level before herbicides application. Probably this was due to a short lifetime of herbicide in the soil which was less than six months.

Keywords: Pesticides, Soil pollution, Soil quality index, Soil enzymatic activity

[1]. Corresponding author: Department of Science and Engineering Soil, college of Agriculture and Natural Resources of University Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran