

Investigation of Relative Toxicity of Some Combined Herbicides on Earthworm (*Eisenia fetida* L.) Biomass

ELHAM SAMADI KALKHORAN¹, MOHAMMAD TAGHI ALEBRAHIM^{1*}, HAMID REZA MOHAMMAD DUST CHAMAN ABAD¹, JENS CARL STREIBIG², AKBAR GHAVIDEL³

1. Department of Genetics and Plant Production, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2. Department of Plant and Environmental Science, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark.

3. Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

(Received: Apr. 12, 2021- Revised: May. 2, 2021- Accepted: May. 5, 2021)

ABSTRACT

Frequent and widespread use of herbicides has adverse effects on nontarget species, such as earthworms. Several experiments were performed in Mohaghegh Ardabili University on 2019 to evaluate the relative toxicity of metribuzin, halosulfuron, flumioxazin individually and combination of metribuzin:halosulfuron and metribuzin:flumioxazin on *Eisenia fetida*. The earthworms biomass was investigated by different concentration of herbicides and sampling time (24 and 48h after treatment). LC₅₀ values of individual herbicides demonstrated that metribuzin and halosulfuron had high effect on earthworms biomass at 24 and 48 h after treatment. Flumioxazin was less toxic than the metribuzin and halosulfuron. The results indicated that the (50:50) and (25:75)% mixture ratios of metribuzin:halosulfuron and metribuzin:flumioxain provided higher toxicity than the other mixture ratios (100:0) and (0:100)%, respectively. Isobologram demonstrated metribuzin:halosulfuron and metribuzin:flumioxazin followed antagonistic effect meaning that the mixtures retracted the herbicides action in the earthworms relative to a Concentration Addition (CA) reference model.

Keywords: Antagonistic Effect, Flumioxain, Metribuzin, Halosulfuron.

بررسی سمیت نسبی اختلاط تعدادی علف‌کش‌ها بر زیست‌توده کرم خاکی (*Eisenia fetida* L.)

الهام صمدی کلخوران^۱، محمد تقی آل‌ابراهیم^{۱*}، حمیدرضا محمددوست چمن‌آباد^۱، جنز کارل استریبگ^۲، اکبر قویدل^۳

۱. گروه مهندسی ژنتیک و تولیدات گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

۲. گروه علوم محیطی و گیاهی، دانشگاه کپنهاگ، کپنهاگ، دانمارک.

۳. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱/۲۳ - تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۲/۱۲ - تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۲/۱۵)

چکیده

کاربرد مداوم و گسترده علف‌کش‌ها، اثرات سویی بر موجودات غیر هدف از جمله کرم خاکی دارد. به منظور بررسی سمیت نسبی علف‌کش‌های متری‌بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین به صورت مجزا و اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین بر زیست‌توده کرم‌های خاکی، چندین آزمایش در دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۸ انجام شد. زیست‌توده کرم‌های خاکی در غلظت‌های مختلف علف‌کش و دو زمان مختلف نمونه برداری (۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش) ارزیابی شد. مقادیر LC_{50} علف‌کش‌های مختلف در حالت خالص نشان داد که متری‌بوزین و هالوسولفورون بیشترین تأثیر را بر زیست‌توده کرم‌های خاکی در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش داشتند و فلومیوکسازین سمیت کمتری نسبت به متری‌بوزین و هالوسولفورون داشت. نتایج حاصل از پژوهش حاضر، نشان داد که بعد از نسبت‌های اختلاط (۰:۱۰۰) و (۱۰۰:۰) درصد، نسبت اختلاط (۵۰:۵۰) و (۷۵:۲۵) درصد به ترتیب در اختلاط‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین بالاترین سمیت را بر زیست‌توده کرم‌های خاکی در ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش داشتند. منحنی‌های هم اثر نشان داد که بر هم کنش نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین، با استفاده از مدل افزایش غلظت، بصورت هم‌کاهی یا آنتاگونیستی بودند.

واژه‌های کلیدی: تأثیر هم‌کاهی، فلومیوکسازین، متری‌بوزین، هالوسولفورون.

مقدمه

استفاده از علف‌کش‌ها، یکی از مؤثرترین روش‌های مدیریت علف‌های هرز است. کاربرد گسترده و مکرر علف‌کش‌ها، تأثیرات سویی بر موجودات غیر هدف از جمله پرندگان، پستانداران و همچنین موجودات خاکزی همانند کرم خاکی دارد (Zhang et al., 2017). کرم‌های خاکی از مهمترین اجزای زیست‌توده جانوری خاک به شمار می‌آیند که بر ساختار و مشخصه‌های خاک تأثیر می‌گذارد؛ همچنین باعث افزایش مواد آلی خاک، در دسترس قرار گرفتن مواد غذایی از جمله نیتروژن، آب و اکسیژن می‌شود (Shipitalo and Le Bayon, 2004). کرم‌های خاکی می‌تواند باعث افزایش جمعیت میکروبی خاک (Kumar & Kumawat, 2018)، پارازیت‌کننده‌ها و تولید مواد تنظیم‌کننده‌ی رشد شود (Blouin et al., 2005)؛ همچنین از لحاظ اکولوژیکی، یکی از مهمترین شاخص‌های زیستی^۱ برای سنجش آلودگی خاک، محسوب می‌شوند

(Sizmur & Hodson, 2009). این موجودات، بدلیل حساسیت بسیار بالا به آلودگی خاک، برای بررسی تجمع فلزات سنگین و آفت‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود (Chen et al., 2018). گونه (*Eisenia fetida*)، به دلیل در دسترس بودن، حمل و نقل راحت، تکثیر و پرورش آسان، کاربرد در ارزیابی مخاطرات اکولوژیکی در اکوسیستم، بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرد؛ بنابراین سازمان همکاری اقتصادی و توسعه اروپا (OECD)^۲ و آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا (EPA, 1996)^۳، کرم‌های خاکی گونه *Eisenia fetida* را به عنوان گونه مناسب در مطالعات آزمایشگاهی معرفی نموده‌اند (Correia & Moreira, 2010). کرم‌های خاکی همزمان در معرض چندین تنش غیرزیستی قرار دارند. عوامل تنش‌زای زنده و غیر زنده، موجب کاهش جمعیت و تنوع گونه‌های کرم‌های خاکی شده و بسیاری از خصوصیات شیمیایی و فیزیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Yahyaabadi & Asadi,

* نویسنده مسئول: m_ebrahim@uma.ac.ir

1. Bioindicator
2. Organization for Economic Co-operation and Development
3. United States Environmental Protection Agency

مواد و روش‌ها

تهیه و پرورش کرم‌های خاکی مورد آزمایش

کرم‌های خاکی (*Eisenia fetida* L.) از مجتمع کشت و صنعت مغان تهیه شد. وزن کرم‌های خاکی بالغ با کمر بند تناسلی کامل، ۳۰۰-۶۰۰ میلی‌گرم بود. کرم‌های خاکی برای تکثیر در جعبه‌های چوبی قرارداد شدند. آن‌ها در بستری از خاک طبیعی به همراه کود گاوی با رطوبت ۵۰ درصد، دمای $20 \pm 1^\circ\text{C}$ در سایه به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش‌ها نگهداری شدند (OECD, 1984). در صورت نیاز، به خاکها آب اضافه شد تا رطوبت آنها در حد ۵۰ درصد ظرفیت زراعی خاک نگهداری شود.

زیست‌سنجی تأثیر علف‌کش‌ها به صورت خالص بر زیست‌توده کرم‌های خاکی

به منظور بررسی تأثیر علف‌کش‌های متری‌بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین به صورت خالص بر زیست‌توده کرم‌های خاکی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه محقق اردبیلی، در سال ۱۳۹۸ اجرا شد. فاکتور اول غلظت‌های مختلف علف‌کش‌ها (۱۵ غلظت مختلف برای علف‌کش‌های متری‌بوزین و فلومیوکسازین و ۱۶ غلظت برای هالوسولفورون) و فاکتور دوم زمان نمونه‌برداری (۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش) بود. آزمایش کاغذ صافی، در پتری دیش‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متری بر روی کاغذ صافی واتمن مرطوب شده انجام شد. غلظت‌های مختلف علف‌کش متری‌بوزین به صورت خالص، صفر، ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۳/۵، ۵، ۷، ۱۰، ۱۴، ۲۸، ۵۶، ۱۱۲ و ۲۲۴، هالوسولفورون به صورت خالص، صفر، ۰/۱۵۶، ۰/۳۱۲، ۰/۶۲۵، ۱/۲۵، ۲/۵، ۳/۵، ۵، ۷، ۱۰، ۱۴، ۲۸، ۵۶، ۱۱۲ و ۲۲۴، و فلومیوکسازین به صورت خالص، صفر، ۰/۳۹۰، ۰/۷۸۰، ۱/۵۶، ۳/۱۲، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۱۶۰، ۳۲۰ و ۶۴۰ میکروگرم ماده مؤثره بر سانتی‌متر مربع در سه تکرار بودند. با توجه به حلالیت بالاتر از ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر علف‌کش‌های متری‌بوزین (۱۱۰۰ mg/L) و هالوسولفورون (۱۶۳۰ mg/L)، از آب مقطر بعنوان حلال و شاهد بدون علف‌کش استفاده شد؛ همچنین بدلیل حلالیت کمتر فلومیوکسازین (۱/۷ mg/L) از استون بعنوان حلال و شاهد بدون علف‌کش استفاده شد (OECD, 1984). کرم‌ها از محیط سازگاری (بستر خریداری شده) خارج شده و برای دقت در تعیین وزن آن‌ها، به مدت ۲۴ ساعت در پتری دیش‌های حاوی کاغذ صافی مرطوب (آب مقطر) قرار داده شدند تا محتویات روده آنها تخلیه شود (OECD, 1984). سپس برای هر غلظت، ۱۰ عدد

(2010). تأثیر همزمان تنش‌ها ممکن است متفاوت از اثر هر کدام به تنهایی باشد (Owojori et al., 2010). عبارت ساده‌تر، یک تنش ممکن است اثر تنش دیگر را تشدید، خنثی یا تعدیل کند (Zhao et al., 2014). تأثیر متقابل تنش‌ها ممکن است به صورت افزایشی (Additive)، هم‌کاهی (Antagonistic) و یا هم‌افزایی (Synergistic) باشد (Zhao et al., 2014). به منظور مطالعه اثرات بر هم کنش علف‌کش‌های مختلف از روش ایزوبول (هم اثر) استفاده می‌شود. این روش در واقع کاربرد لگاریتمی تغییر شکل یافته داده‌ها بفرم منحنی‌های ایزوبول هستند که نشان‌دهنده اثرات مشابه ترکیبات متفاوت اختلاط علف‌کش‌هاست. درحقیقت، مطالعه پاسخ‌های کرم خاکی در LC_{50} (مقدار غلظت لازم برای کاهش ۵۰ درصدی جمعیت یا زیست‌توده کرم‌های خاکی) هر علف‌کش و نسبت‌های مختلف اختلاط آن‌هاست. این روش، منحنی دز-پاسخ در سطح ۵۰ درصد را، بعنوان معیاری برای اندازه‌گیری پاسخ کرم‌های خاکی برای اختلاط علف‌کش بصورت افزایشی، هم‌کاهی و هم‌افزایی، جایگزین می‌کند (Jonker et al., 2005).

متری‌بوزین (سنکور، 70% WP) از علف‌کش‌های بازدارنده فتوسنتز دو و از خانواده تریازینون می‌باشد. این علف‌کش در سبب‌زمینی، گوجه‌فرنگی، سویا و هویج استفاده می‌شود (Alebrahim et al., 2012). هالوسولفورون متیل (سمپرا، WG 75%) متعلق به خانواده سولفونیل اوره و جز بازدارنده سنتز اسید آمینه شاخه دار (ALS)^۱ هست (Chand et al., 2014). این علف‌کش، یک علف‌کش انتخابی و سیستمیک می‌باشد (Vencil, 2002). فلومیوکسازین (پلچ، 50% WP) یک علف‌کش از خانواده N-فنیل فتالیمید و بازدارنده پروتوپورفیرینون اکسیداز است (Vasilakoglou et al., 2013). با توجه به اینکه، هیچ اطلاعاتی در مورد تأثیر علف‌کش‌های متری‌بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین به صورت خالص و اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین بر زیست‌توده کرم‌های خاکی وجود ندارد، بنابراین هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی میزان حساسیت کرم‌های خاکی (*Eisenia fetida*) در غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های متری‌بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین به صورت خالص و اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین می‌باشد؛ همچنین بررسی اثرات بر هم کنش نسبت‌های مختلف اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین بر زیست‌توده کرم‌های خاکی از دیگر اهداف پژوهش می‌باشد.

(معادله دو) تعیین گردید. برای تعیین نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌ها از پتانسیل نسبی بین علف‌کش‌ها استفاده شد. پتانسیل نسبی بین علف‌کش‌ها در کاربرد علف‌کش‌ها به تنهایی از معادله دو محاسبه شد:

$$RP = ED_{50A} / ED_{50B} \quad (\text{رابطه ۲})$$

پتانسیل نسبی (RP) بین علف‌کش‌های A و B نرخ بیولوژیکی بین علف‌کش‌ها را زمانیکه به صورت خالص بکار برده می‌شوند، بیان می‌کند (Streibig et al., 1998).

نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌ها برای اختلاط متری-بوزین با هالوسولفورون (۰:۱۰۰)، (۱۰:۹۰)، (۲۵:۷۵)، (۵۰:۵۰) و (۱۰۰:۰) درصد و برای اختلاط متری-بوزین به همراه فلومیوکسازین (۰:۱۰۰)، (۴:۹۶)، (۱۰:۹۰)، (۲۵:۷۵) و (۰:۱۰۰) درصد محاسبه شد. کلیه شرایط آزمایش زیست‌سنجی اختلاط علف‌کش‌های متری-بوزین با هالوسولفورون و متری-بوزین با فلومیوکسازین مشابه آزمایش زیست‌سنجی علف‌کش‌ها بصورت خالص بود.

مدل ایزوبول برای رسم منحنی‌های هم اثر

بعد از تعیین مقادیر LC_{50} اختلاط علف‌کش‌های متری-بوزین با هالوسولفورون و متری-بوزین با فلومیوکسازین توسط معادله لجستیک چهار پارامتره (معادله یک)، مقادیر LC_{50} با استفاده از منحنی‌های هم اثر با مدل الگوی اثر افزایش غلظت (Concentration Addition) برازش داده شد. مدل افزایش غلظت، مدلی است خطی، پنج پارامتره که بصورت معادله سه بیان می‌شود (Sørensen et al., 2007)

$$\frac{d_1}{\theta_1} + \frac{d_2}{\theta_2} = 1 \quad (\text{رابطه ۳})$$

در این معادله d_1 و d_2 نسبت‌های مختلف مقادیر اختلاط علف‌کش، θ_1 و θ_2 مقدار مورد نیاز از علف‌کش در حالت کاربرد خالص است.

نتایج و بحث

زیست‌سنجی تأثیر علف‌کش‌ها به صورت خالص بر زیست‌توده کرم‌های خاکی

داده‌های زیست‌توده کرم‌های خاکی با مدل لجستیک لگاریتمی چهار پارامتره (شیب خط، حد پایین، حد بالا و LC_{50}) برازش داده شد. آزمون عدم برازش در سطح ($P < 0.01$) نیز برای این مدل نسبت به غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های متری-بوزین و فلومیوکسازین بصورت خالص در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش معنی‌دار نشد (جدول ۱). پراکنش داده‌ها در طی منحنی نیز روند خوبی داشت (شکل ۱). نتایج نشان داد بالاترین میزان اختلاف وزن اولیه با وزن ثانویه در غلظت‌های بالاتر علف‌کش‌های

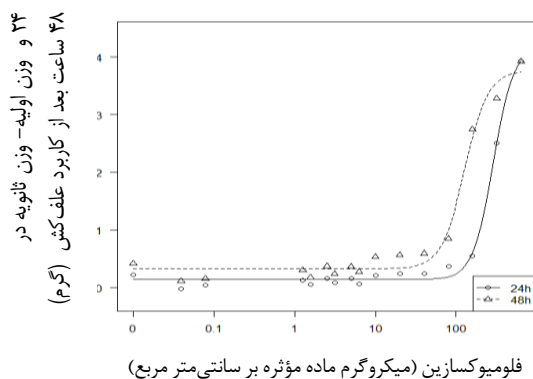
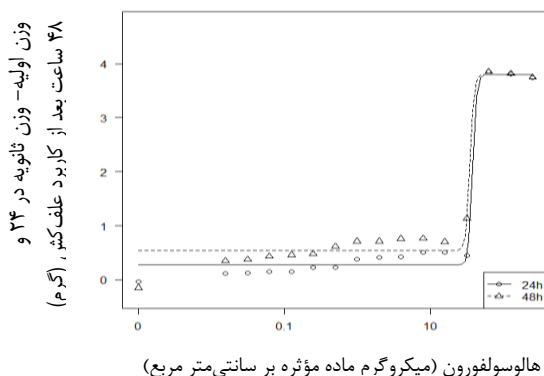
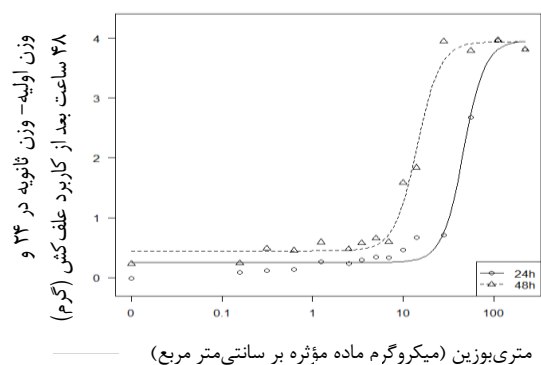
کرم خاکی با وزن تقریباً یکسان انتخاب شده، و روی کاغذ صافی خشک قرار داده شدند تا آب اضافی بدن آنها گرفته شود. علف‌کش‌ها در حلال مناسب حل شدند و بعد از تبخیر استون بعنوان حلال فلومیوکسازین، دو میلی لیتر از محلول هر کدام از علف‌کش‌ها به پتری دیش‌ها اضافه شدند و ده کرم خاکی جدا شده، توزین شدند. برای هر تیمار علف‌کش‌ها، ۱۰ عدد کرم خاکی در ۱۰ پتری دیش جداگانه (مرگ کرم‌های خاکی بر یکدیگر تأثیر دارد) قرار داده شد (OECD, 1984). برای جلوگیری از فرار کرم‌های خاکی، پتری دیش‌ها با سلفون‌های پلاستیکی دارای حفره‌های ریز برای تبادل هوا، پوشانده شدند. پتری دیش‌ها در تاریکی و دمای $20 \pm 1^\circ C$ با رطوبت نسبی ۸۰-۸۵ درصد نگهداری شدند (OECD, 1984). وزن کرم‌های خاکی قبل از قرار دادن در داخل پتری دیش‌ها با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (AND، مدل GF-300) اندازه‌گیری شد و در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش‌ها نیز توزین شدند. برای توزین، ابتدا کرم‌های خاکی در داخل آب غوطه ور شدند سپس با کاغذ صافی آب اضافی آن‌ها خشک شدند و با استفاده از ترازوی حساس آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم (AND، مدل GF-300) وزن کرم‌های خاکی ثبت شد. برای یافتن محدوده‌ی غلظت‌های مناسب، دو آزمایش با هفت غلظت مختلف برای هر یک از علف‌کش‌ها بر روی کاغذ صافی انجام شد (OECD, 1984). برای تعیین پاسخ زیست‌توده کرم‌های خاکی به کاربرد غلظت‌های مختلف علف‌کش، از معادله یک استفاده شد. برای انجام آنالیز دز-پاسخ از نرم افزار R (ورژن ۳.۶.۱) استفاده شد. پاسخ زیست‌توده کرم‌های خاکی به کاربرد غلظت‌های مختلف علف‌کش، به کمک رگرسیون غیرخطی و با برازش معادله لجستیک چهار پارامتره (معادله یک) ارزیابی شد (Ritz et al., 2015):

$$U_{ij} = \frac{D-C}{1 + \exp\{b_i (\log b(z_{ij}) | (\log LC_{50}(i)))\}} \quad (\text{رابطه ۱})$$

U_{ij} بیانگر وزن اولیه - وزن ثانویه زام که موجب پاسخ در غلظت زام فرمولاسیون (z_{ij}) می‌شود. C و D حد پایین و حد بالای وزن اولیه - وزن ثانویه و LC_{50} مقدار فرمولاسیون i لازم برای ۵۰ درصد وزن اولیه - وزن ثانویه کرم‌های خاکی بین حدود پایین و بالا C و D، b_i شیب خط در محدوده LC_{50} می‌باشد.

زیست‌سنجی تأثیر اختلاط علف‌کش‌ها بر زیست‌توده کرم‌های خاکی

بعد از تعیین LC_{50} با استفاده از معادله لجستیک چهار پارامتره (معادله یک ذکر شده)، علف‌کش‌های متری-بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین به صورت خالص، نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌ها بر اساس پتانسیل نسبی علف‌کش‌ها به صورت خالص



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های علف‌کش‌های متری بوزین (الف)، هالوسولفورون (ب) و فلومیوکسازین (ج) بر زیست توده کرم‌های خاکی ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

متری بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین در ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش بود (شکل ۱). با افزایش زمان و غلظت‌های مختلف علف‌کش‌های متری بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین، میزان اختلاف وزن اولیه با وزن ثانویه افزایش پیدا کرد (شکل ۱). غلظت‌های بالاتر علف‌کش‌های متری بوزین و هالوسولفورون در ۳-۴ ساعت اولیه بعد از کاربرد علف‌کش، توانست وزن کرم‌های خاکی را تا ۱۰۰ درصد کاهش دهد (شکل ۱). نتایج تجزیه‌های آماری نشان داد که علف‌کش‌هایی که دارای نحوه عمل متفاوت و متعلق به خانواده‌های مختلف علف‌کشی هستند، میزان LC_{50} متفاوتی داشتند. جدول (۱) پارامترهای مختلف مدل لجستیک لگاریتمی را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود، تخمین اکثر پارامترهای مدل (b, c, d و e) برای هر سه علف‌کش مورد بررسی معنی‌دار است. معنی‌داری این پارامترها بیانگر این است که آن‌ها در برآزش داده‌ها توسط مدل لجستیک لگاریتمی چهار پارامتره نقش مهمی دارند و نمی‌توان هیچ یک از آنها را حذف کرد. جدول (۱) نشان داد که LC_{50} علف‌کش متری بوزین و هالوسولفورون نسبت به علف‌کش فلومیوکسازین در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش کمتر بود؛ بنابراین از لحاظ سمیت، علف‌کش‌های متری بوزین و هالوسولفورون نسبت به فلومیوکسازین سمیت بالایی داشتند (جدول ۱). میزان LC_{50} متری بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین ۲۴ ساعت بعد از اعمال تیمار نسبت به ۴۸ ساعت، بالا بود که این نشان‌دهنده این است که با گذشت زمان سمیت علف‌کش‌های مورد بررسی افزایش یافته است (شکل ۱ و جدول ۱). همان‌طوریکه ملاحظه می‌شود، میزان LC_{90} علف‌کش‌های هالوسولفورون و متری بوزین نیز نسبت به فلومیوکسازین کمتر بود که نشان‌دهنده سمیت بالای علف‌کش‌های ذکر شده می‌باشد (جدول ۱).

جدول ۱- پارامترهای حاصل از برآزش داده‌های زیست توده کرم‌های خاکی به معادله سیگموئیدی چهار پارامتره در اثر کاربرد متری بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

۲۴ ساعت						
علف کش	شیب خط	حد پایین	حد بالا	LC_{50} ($\mu\text{g ai. cm}^{-2}$)	LC_{90} ($\mu\text{g ai. cm}^{-2}$)	عدم برآزش
متری بوزین	$-۳/۶۲ \pm ۰/۸۲^{**}$	$۰/۲۵ \pm ۰/۰۵^{**}$	$۳/۹۵ \pm ۰/۱۵^{**}$	$۴۶/۶۷ \pm ۳/۰۲^{**}$	$۸۵/۵۵ \pm ۱۲/۴۱^{**}$	$۰/۳۱^{ns}$
هالوسولفورون	$-۱۵/۴۲ \pm ۲۸/۷۰^{ns}$	$۰/۲۷ \pm ۰/۰۴^{**}$	$۳/۸۰ \pm ۰/۰۹^{**}$	$۳۸/۶۶ \pm ۱۳/۷۲^{**}$	$۴۴/۵۸ \pm ۳۷/۵۱^{ns}$	$۰/۰۷^{**}$
فلومیوکسازین	$-۳/۴۹ \pm ۰/۷۹^{**}$	$۰/۱۴ \pm ۰/۰۴^{**}$	$۴/۱۶ \pm ۰/۲۸^{**}$	$۲۸۹/۹۲ \pm ۱۹/۶۸^{**}$	$۵۴۳/۹۳ \pm ۹۹/۹۵^{**}$	$۰/۷۷^{ns}$
۴۸ ساعت						
متری بوزین	$-۳/۴۰ \pm ۰/۵۵^{**}$	$۰/۴۴ \pm ۰/۰۷^{**}$	$۳/۹۳ \pm ۰/۱۰^{**}$	$۱۴/۲۱ \pm ۰/۸۰^{**}$	$۲۷/۰۷ \pm ۳/۴۰^{**}$	$۰/۳۱^{ns}$
هالوسولفورون	$-۱۴/۷۸ \pm ۵۷/۰۵^{ns}$	$۰/۵۳ \pm ۰/۰۴^{**}$	$۳/۸۰ \pm ۰/۰۹^{**}$	$۳۵/۴۲ \pm ۱۳/۹۱^{**}$	$۴۱/۰۹ \pm ۳۹/۶۹^{ns}$	$۰/۰۷^{**}$
فلومیوکسازین	$-۲/۹۴ \pm ۰/۷۵^{**}$	$۰/۳۲ \pm ۰/۰۴^{**}$	$۳/۷۷ \pm ۰/۱۸^{**}$	$۱۲۸/۳۱ \pm ۱۰/۰۸^{**}$	$۲۷۰/۴۸ \pm ۶۵/۰۴^{**}$	$۰/۷۷^{ns}$

ns و ** : به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

بنابر گزارش لیانگ و زو (Liang and Zu, 2003) تغییرات زیست‌توده نسبت به درصد زنده‌مانی، شاخص حساس‌تری در شناسایی اثرات سمیت آفت‌کش‌ها بر کرم‌های خاکی می‌باشد. از آنجایی که زیست‌توده کرم‌های خاکی منعکس‌کننده رشد جمعیت بوده و تعداد، بیانگر تکثیر و زنده‌مانی است، می‌توان چنین نتیجه گرفت که رشد و زیست‌توده کرم‌های خاکی قبل از اینکه تکثیر و زنده‌مانی رخ دهد، تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش غلظت و زمان، زیست‌توده کرم‌های خاکی کاهش می‌یابد. محققان زیادی نیز تأثیر منفی علف‌کش‌ها بر زیست‌توده کرم‌های خاکی را گزارش کرده‌اند. خیاو (Xiao et al., 2004) گزارش کرده است که زیست‌توده کرم‌های خاکی یک پارامتر حساس به منظور بررسی علف‌کش استوکلر روی کرم‌های خاکی بود. (Travlos et al., 2017) در بررسی تأثیر متری‌بوزین بر زیست‌توده کرم‌های خاکی در خاک طبیعی به این نتیجه رسیدند که کاربرد دو برابر دز توصیه شده متری‌بوزین (۷۵۰ گرم در هکتار)، زیست‌توده کرم‌های خاکی را ۲۲ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. نتایج نشان داد که زمانیکه کرم‌های خاکی در معرض علف‌کش متری‌بوزین قرار گرفت، زخم‌های سطحی در بدن کرم‌های خاکی ایجاد شد؛ همچنین ضایعات خونی در قسمت‌های مختلف بدن کرم‌های خاکی باعث مرگ آن‌ها گردید. علاوه بر ضایعات خونی، تکه تکه شدن بدن نیز در اثر کاربرد متری‌بوزین مشاهده شد (مشاهدات آزمایشگاهی محقق).

زیست‌سنجی تأثیر اختلاط علف‌کش‌ها بر زیست‌توده کرم‌های خاکی

همانطور که در جدول (۲ و ۳) ملاحظه می‌شود آزمون عدم برآزش در سطح ($P < 0.01$) برای مدل لجستیک لگاریتمی نسبت به نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین معنی‌دار نشد. پراکنش داده‌ها در طی منحنی نیز روند خوبی داشت (شکل ۲ و ۳). جدول (۲ و ۳)، پارامترهای مختلف مدل لجستیک لگاریتمی را نشان می‌دهد. همانطوریکه ملاحظه می‌شود نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون، LC_{50} متفاوتی دارند. بعد از نسبت‌های اختلاط (۰:۱۰۰) و (۱۰۰:۰) درصد، نسبت اختلاط (۵۰:۵۰) درصد کمترین LC_{50} را در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار به خود اختصاص دادند. نتایج حاصل از اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین نشان داد که از لحاظ سمیت، نسبت اختلاط (۷۵:۲۵) درصد نسبت به دیگر اختلاط‌ها سمیت بالاتری در ۴۸ ساعت بعد از اعمال تیمار داشتند. با مقایسه LC_{50} اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین، می‌توان نتیجه گرفت که سمیت نسبت-های مختلف اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون بالاتر از اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین می‌باشد (جدول ۲ و ۳).

بطور کلی، غلظت‌های بالای یک آفت‌کش می‌تواند به طریق مستقیم و غیر مستقیم بر زیست‌توده کرم‌های خاکی اثر گذار باشد. آلاینده‌ها می‌توانند از طریق مستقیم بر فیزیولوژی کرم‌های آلوده، با تغییر تعادل انرژی و در نتیجه تلاش کرم برای جلوگیری از تجمع آلاینده در بافت‌های حساس خود اثرگذار باشند. در کرم‌های خاکی بر خلاف سایر بی‌مهرگان خاکزی، سموم شیمیایی از دو راه جذب بدن می‌شوند: ۱- جذب پوستی ۲- جذب بلعی. چون کرم‌های خاکی در تماس مستقیم با آب بوده و دیواره بدن آن‌ها نفوذپذیری زیادی دارد (برای تصفیه و تبادل گازهای تنفسی، مقدار قابل توجهی از آب و دیگر مولکول‌ها از دیواره بدن کرم مبادله می‌شوند) (Shan et al., 2014). مواد شیمیایی حل شده در محیط از قبیل یون‌های فلزی آزاد، می‌توانند از این طریق وارد بدن کرم خاکی شوند. در روش دوم، آلاینده‌های فلزی جذب خاک و اجزای آلی شده که به عنوان غذای کرم خاکی مورد استفاده قرار می‌گیرند یا وارد آب شده که مستقیماً بلعیده می‌شوند. از نظر تئوری در جذب پوستی باید غلظت مواد شیمیایی در بافت‌ها، با غلظت آن ماده در آب نسبت مستقیم داشته باشد (Allen, 1997)؛ بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که غلظت ماده مورد نظر در آب تعیین‌کننده فراهمی زیستی آن ماده برای کرم‌های خاکی می‌باشد.

کاهش زیست‌توده کرم‌های خاکی در اثر استفاده از علف‌کش‌ها، ممکن است باعث کاهش مصرف مواد غذایی برای دوری از سمیت باشد. این استراتژی در بررسی اثرات فلزات سنگین (Burrows and Edwards 2002) و آفت‌کش‌ها (Wang et al., 2016) دیده شده است. کاهش بیشتر زیست‌توده کرم‌های خاکی در اثر کاربرد اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون می‌تواند ناشی از پایداری زیاد علف‌کش‌های ذکر شده و پایداری کم علف‌کش فلومیوکسازین باشد. نیمه عمر علف‌کش متری‌بوزین، بسته به شرایط آب و هوایی و بافت خاک، ۶۰ روز (Stenrød et al., 2008)، هالوسولفورون ۶ تا ۹۸ روز (Grey et al., 2007) و فلومیوکسازین ۱۱/۹ تا ۱۷/۵ روز (Vencill 2002) می‌باشد.

مدل افزایش غلظت (مدل ایزوبول)

نتایج نشان داده شده در شکل‌های (۴ و ۵) مربوط به اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین می‌باشد. نمودارهای هم اثر حاصل از اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین شامل: خط عمود (محور y) نسبت (۰:۱۰۰) درصد هالوسولفورون یا فلومیوکسازین، خط افقی (محور x) نسبت (۰:۱۰۰) درصد متری‌بوزین و خط‌های اریب نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین می‌باشد (شکل‌های ۴ و ۵). بر روی خط‌های منقطع (نقطه‌چین) خط‌های مشکی و توپری قرار دارد

کش‌ها بر روی یکدیگر اثر بگذارند منجر به ایجاد اثر افزایشی یا کاهش‌ی دو علف‌کش نسبت به میزان پاسخ پیش‌بینی شده خواهد شد. با توجه به نمودار ایزوبول مدل اثر افزایش غلظت و همچنین بر اساس LC_{50} نسبت‌های مختلف اختلاط علف‌کش مشخص شد که تمامی نسبت‌های اختلاط علف‌کش‌های متری‌بوزین با هالوسولفورون و اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین در ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش، واکنش هم‌کاهی نشان دادند (شکل-های ۴ و ۵). عبارتی دیگر LC_{50} بدست آمده برای هر یک از نسبت‌های اختلاط علف‌کش‌ها بسیار بیشتر از مقدار LC_{50} بدست آمده در کاربرد خالص علف‌کشت‌هاست و همانطور که در شکل‌های (۴ و ۵) مشخص است، تمامی نسبت‌های اختلاط بالاتر از خط ایزوبول قرار گرفته‌اند و این امر نشان‌دهنده حالت آنتاگونیستی یا هم‌کاهی بین علف‌کش‌ها است.

که نشان دهنده خطای استاندارد LC_{50} هر یک از نسبت‌ها می‌باشد. خط مستقیمی که تمام منحنی‌ها را قطع می‌کند خط اثر افزایش غلظت (هم‌اثر) است، نقاطی که بصورت معنی‌داری پایین‌تر از این خط قرار می‌گیرد، اثرات تشدیدکنندگی (هم‌افزا) و نقاطی که به طور معنی‌داری بالاتر از این خط قرار گیرند نشان‌دهنده اثرات بازدارنده (هم‌کاهی) در اختلاط دو علف‌کش می‌باشد. با توجه به اینکه تمامی دامنه خط‌های استاندارد خط هم‌اثر را قطع نمی‌کند هر یک از نسبت‌ها، در سطح معنی‌داری ۵ درصد، حالت کاهندگی را دارد (شکل‌های ۴ و ۵). در رسم نمودارهای هم‌اثر مبنا بر این است که زمانی که دو علف‌کش با هم مخلوط می‌شوند اختلاط دو علف‌کش به صورت افزایش غلظت است و دو علف‌کش هیچ اثر متقابلی با یکدیگر نداشته و حالت تشدیدکنندگی و یا کاهندگی بر روی یکدیگر ندارند یعنی اثر دو علف‌کش در حالت اختلاط با اثر هر یک از علف‌کش‌ها در حالت خالص برابر است. در صورتیکه علف

جدول ۲- پارامترهای حاصل از برازش داده‌های زیست‌توده گرم‌های خاکی به معادله سیگموئیدی چهار پارامتره در اثر کاربرد اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون در نسبت‌های اختلاط مختلف ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

متری‌بوزین: هالوسولفورون	شیب خط	حد پایین		حد بالا	۲۴ ساعت	
		LC ₅₀ (μg ai. cm ⁻²)	LC ₉₀ (μg ai. cm ⁻²)		عدم برازش	عدم برازش
۰:۱۰۰	-۸/۴۰ ± ۲/۴۹**	۰/۴۱ ± ۰/۰۷**	۵/۴۳ ± ۰/۱۵**	۵۸/۱۳ ± ۹/۰۰**	۴۴/۷۵ ± ۳/۷۶**	۰/۴۹ ^{ns}
۹۰:۱۰	-۴/۹۰ ± ۱/۱۱**	۰/۵۵ ± ۰/۰۸**	۴/۵۲ ± ۰/۱۸**	۲۳۵/۴۷ ± ۲۳/۰۴**	۱۵۰/۴۲ ± ۷/۵۱**	۰/۴۹ ^{ns}
۷۵:۲۵	-۵/۳۹ ± ۰/۵۴**	۰/۳۹ ± ۰/۰۷**	۶/۷۰ ± ۰/۱۶**	۱۵۴/۴۵ ± ۸/۶۱**	۱۰۲/۷۷ ± ۳/۶۹**	۰/۴۹ ^{ns}
۵۰:۵۰	-۷/۱۱ ± ۰/۹۱**	۰/۶۱ ± ۰/۰۷**	۷/۳۷ ± ۰/۱۶**	۱۰۸/۰۹ ± ۴/۶۶**	۷۹/۳۸ ± ۳/۲۴**	۰/۴۹ ^{ns}
۱۰۰:۰	-۴/۱۲ ± ۰/۷۶**	۰/۳۸ ± ۰/۰۱**	۴/۶۴ ± ۰/۱۱**	۱۰۳/۲۷ ± ۱۲/۸۴**	۶۰/۵۹ ± ۲/۸۱**	۰/۴۹ ^{ns}
۴۸ ساعت						
۰:۱۰۰	-۷/۰۲ ± ۲/۹۹*	۰/۷۹ ± ۰/۱۵**	۵/۳۷ ± ۰/۱۹**	۲۹/۶۴ ± ۶/۶۷**	۲۱/۶۸ ± ۲/۳۱**	۰/۱۸ ^{ns}
۹۰:۱۰	-۲۰/۳۳ ± ۵/۳۲/۹۱ ^{ns}	۱/۲۰ ± ۰/۱۳**	۴/۷۴ ± ۰/۱۹**	۹۹/۰۲ ± ۳۰/۹۶ ^{ns}	۸۸/۹۱ ± ۲۰/۶۲**	۰/۱۸ ^{ns}
۷۵:۲۵	-۲/۸۹ ± ۰/۶۹**	۰/۷۶ ± ۰/۱۴**	۶/۹۶ ± ۰/۴۲**	۱۹۳/۹۰ ± ۴۴/۶۹**	۹۰/۷۵ ± ۷/۵۵**	۰/۱۸ ^{ns}
۵۰:۵۰	-۶/۷۸ ± ۱/۵۵**	۱/۱۸ ± ۰/۱۳**	۷/۳۷ ± ۰/۲۸**	۱۰۹/۹۶ ± ۸/۹۱**	۷۷/۷۸ ± ۵/۳۱**	۰/۱۸ ^{ns}
۱۰۰:۰	-۵/۹۰ ± ۲/۱۷**	۰/۶۶ ± ۰/۱۹**	۴/۵۱ ± ۰/۱۶**	۴۸/۶۹ ± ۱۰/۲۸**	۳۳/۵۶ ± ۳/۴۲**	۰/۱۸ ^{ns}

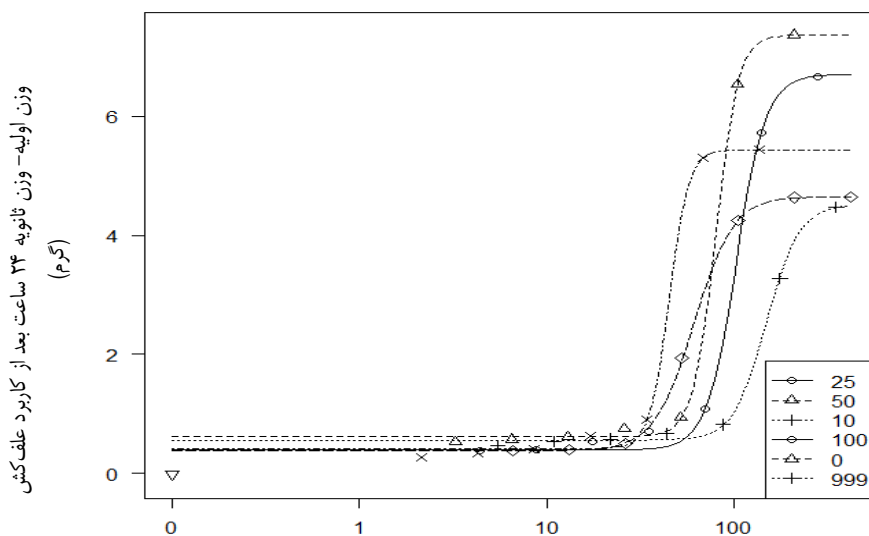
ns, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، (متری‌بوزین: هالوسولفورون: ۹۰:۱۰) (۱۰٪ متری‌بوزین + ۹۰٪ هالوسولفورون)، ۷۵:۲۵ (۲۵٪ متری‌بوزین + ۷۵٪ هالوسولفورون)، ۵۰:۵۰ (۵۰٪ متری‌بوزین + ۵۰٪ هالوسولفورون)، ۰:۱۰۰ (۱۰۰٪ متری‌بوزین + ۰٪ هالوسولفورون)، ۱۰۰:۰ (۰٪ متری‌بوزین + ۱۰۰٪ هالوسولفورون) {۱۰۰٪ هالوسولفورون}

جدول ۳- پارامترهای حاصل از برازش داده‌های زیست‌توده گرم‌های خاکی به معادله سیگموئیدی چهار پارامتره در اثر کاربرد اختلاط متری‌بوزین به‌مراه فلومیوکسازین در نسبت‌های اختلاط مختلف ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

متری‌بوزین: فلومیوکسازین	شیب خط	حد پایین		حد بالا	۲۴ ساعت	
		LC ₅₀ (μg ai. cm ⁻²)	LC ₉₀ (μg ai. cm ⁻²)		عدم برازش	عدم برازش
۰:۱۰۰	-۸/۴۰ ± ۲/۵۸**	۰/۴۱ ± ۰/۰۸**	۵/۴۳ ± ۰/۱۶**	۵۸/۱۳ ± ۹/۳۰**	۴۴/۷۶ ± ۳/۸۸**	۰/۷۷ ^{ns}
۹۶:۴	-۹/۰۲ ± ۳/۱۸**	۰/۶۰ ± ۰/۰۸**	۴/۶۲ ± ۰/۱۶**	۴۱۰/۵۴ ± ۷۵/۱۰**	۳۲۱/۸۱ ± ۳۵/۹۶**	۰/۷۷ ^{ns}
۹۰:۱۰	-۷/۳۵ ± ۱/۳۹**	۰/۴۸ ± ۰/۰۷**	۴/۸۸ ± ۰/۱۶**	۳۲۲/۴۶ ± ۳۲/۳۹**	۲۳۹/۲۰ ± ۱۶/۲۴**	۰/۷۷ ^{ns}
۷۵:۲۵	-۱/۹۱ ± ۰/۵۸**	۰/۴۴ ± ۰/۱۱**	۵/۶۰ ± ۰/۱۳۸**	۷۷۸/۶۳ ± ۵۱۶/۳۷ ^{ns}	۲۴۷/۰۱ ± ۸۰/۵۳**	۰/۷۷ ^{ns}
۱۰۰:۰	-۵/۱۱ ± ۱/۱۴**	۰/۳۰ ± ۰/۰۹**	۵/۱۶ ± ۰/۱۲**	۴۱۵/۴۷ ± ۳۳/۹۱**	۲۷۰/۴۰ ± ۱۰/۶۱**	۰/۷۷ ^{ns}
۴۸ ساعت						
۰:۱۰۰	-۶/۶۳ ± ۲/۲۹**	۰/۷۹ ± ۰/۱۳**	۵/۳۸ ± ۰/۱۵**	۲۹/۶۷ ± ۵/۴۳**	۲۱/۳۱ ± ۱/۷۱**	۰/۱۶ ^{ns}
۹۶:۴	-۷/۸۹ ± ۴/۱۱*	۱/۰۳ ± ۰/۱۱**	۴/۶۲ ± ۰/۲۲**	۴۰۸/۹۱ ± ۱۱۳/۹۸**	۳۰۹/۵۵ ± ۴۵/۵۹**	۰/۱۶ ^{ns}
۹۰:۱۰	-۵/۷۸ ± ۱/۵۹**	۰/۸۵ ± ۰/۱۰**	۴/۸۹ ± ۰/۲۳**	۳۲۷/۷۳ ± ۵۵/۶۱**	۲۲۴/۱۹ ± ۱۹/۲۲**	۰/۱۶ ^{ns}
۷۵:۲۵	-۱/۱۳ ± ۰/۴۶**	۰/۷۰ ± ۰/۲۳**	۵/۱۴ ± ۱/۱۲**	۸۶۰/۰۰ ± ۱۰۵/۵۷**	۱۲۵/۰۹ ± ۵۸/۳۹**	۰/۱۶ ^{ns}
۱۰۰:۰	-۴/۵۸ ± ۱/۱۰**	۰/۵۸ ± ۰/۱۶**	۵/۰۰ ± ۰/۱۳**	۱۹۹/۰۶ ± ۲۱/۹۰**	۱۲۳/۲۶ ± ۷/۸۲**	۰/۱۶ ^{ns}

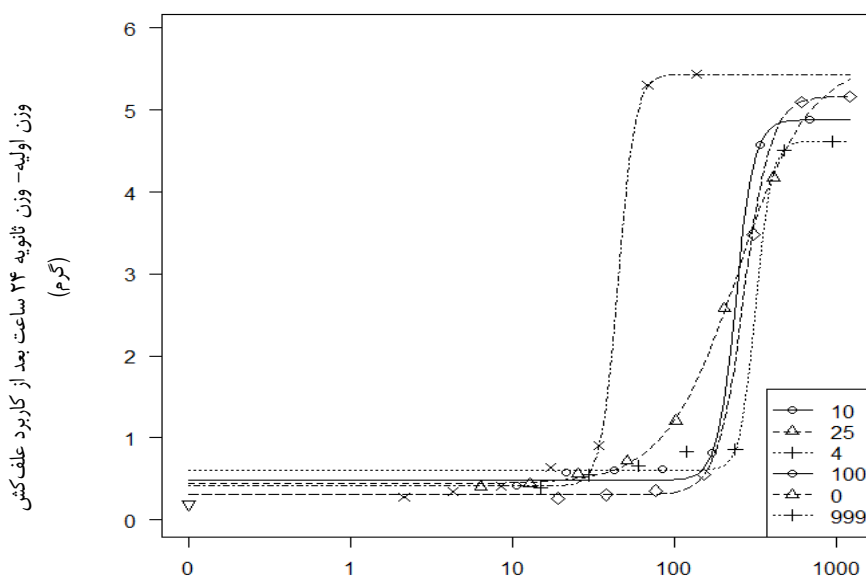
ns, * و **: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، (متری‌بوزین: فلومیوکسازین: ۹۶:۴) (۴٪ متری‌بوزین + ۹۶٪ فلومیوکسازین)، ۹۰:۱۰ (۱۰٪ متری‌بوزین + ۹۰٪ فلومیوکسازین)، ۷۵:۲۵ (۲۵٪ متری‌بوزین + ۷۵٪ فلومیوکسازین)، ۵۰:۵۰ (۵۰٪ متری‌بوزین + ۵۰٪ فلومیوکسازین)، ۰:۱۰۰ (۱۰۰٪ متری‌بوزین + ۰٪ فلومیوکسازین)، ۱۰۰:۰ (۰٪ متری‌بوزین + ۱۰۰٪ فلومیوکسازین) {۱۰۰٪ فلومیوکسازین}

الف



دز کل متری بوزین با هالوسولفورون (میکروگرم ماده مؤثره بر سانتی‌متر مربع)

ب



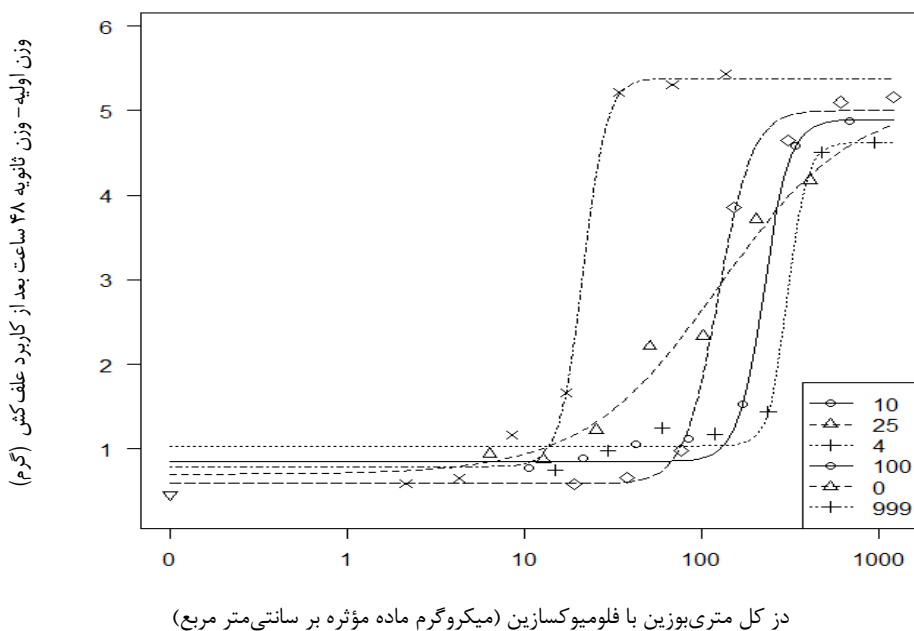
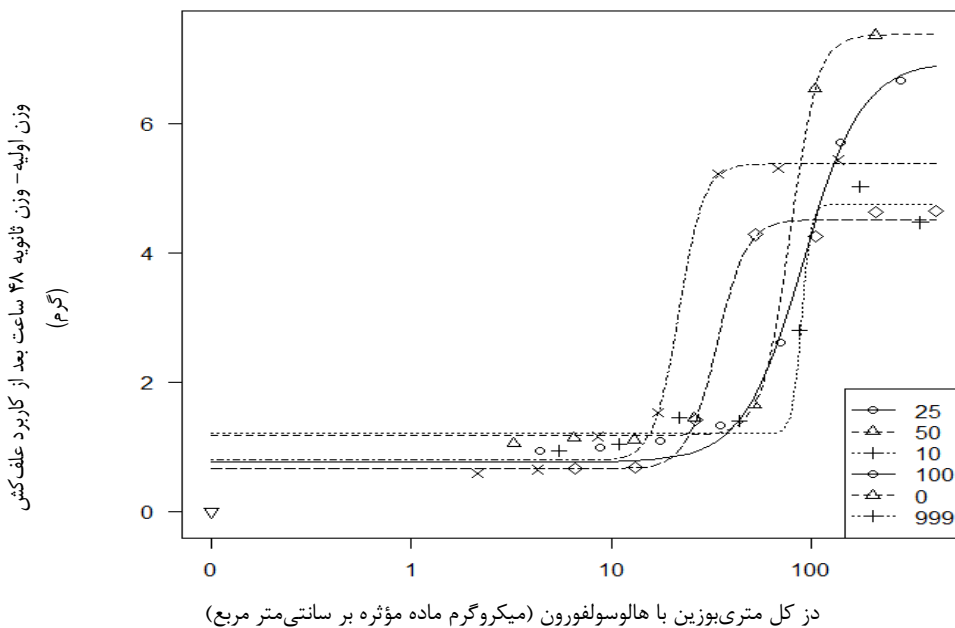
دز کل متری بوزین با فلومیوکسازین (میکروگرم ماده مؤثره بر سانتی‌متر مربع)

شکل ۲- تأثیر دزهای علف‌کش‌های متری بوزین با هالوسولفورون

(الف) و متری بوزین با فلومیوکسازین (ب) بر زیست‌توده کرم‌های خاکی ۲۴ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

{الف: ۱۰ (۱۰٪ متری بوزین + ۹۰٪ هالوسولفورون)، ۲۵ (۲۵٪ متری بوزین + ۷۵٪ هالوسولفورون)، ۵۰ (۵۰٪ متری بوزین + ۵۰٪ هالوسولفورون)، ۱۰۰ (۱۰۰٪ متری بوزین + ۰٪ هالوسولفورون)، ۰ (۰٪ متری بوزین + ۱۰۰٪ هالوسولفورون) و ۹۹۹ تیمار شاهد بدون علف‌کش در نرم افزار R} و {ب: ۴ (۴٪ متری بوزین + ۹۶٪ فلومیوکسازین، ۱۰ (۱۰٪ متری بوزین + ۹۰٪ فلومیوکسازین)، ۲۵ (۲۵٪ متری بوزین + ۷۵٪ فلومیوکسازین)، ۱۰۰ (۱۰۰٪ متری بوزین + ۰٪ فلومیوکسازین)، ۰ (۰٪ متری بوزین + ۱۰۰٪ فلومیوکسازین) و ۹۹۹ تیمار شاهد بدون علف‌کش در نرم افزار R}

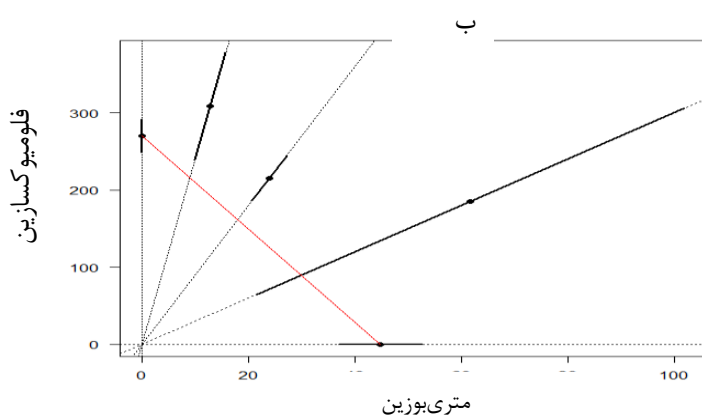
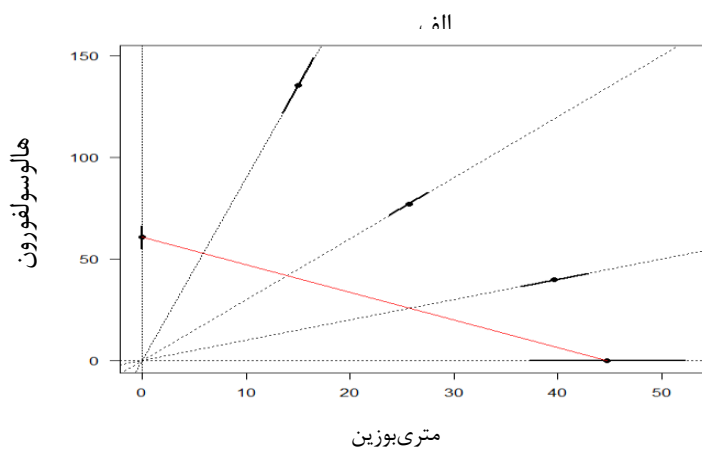
الف



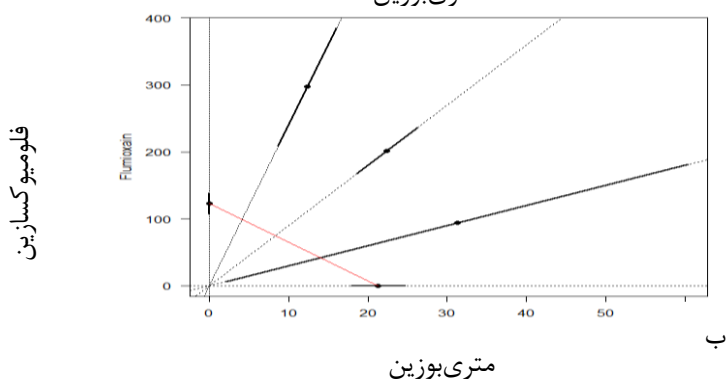
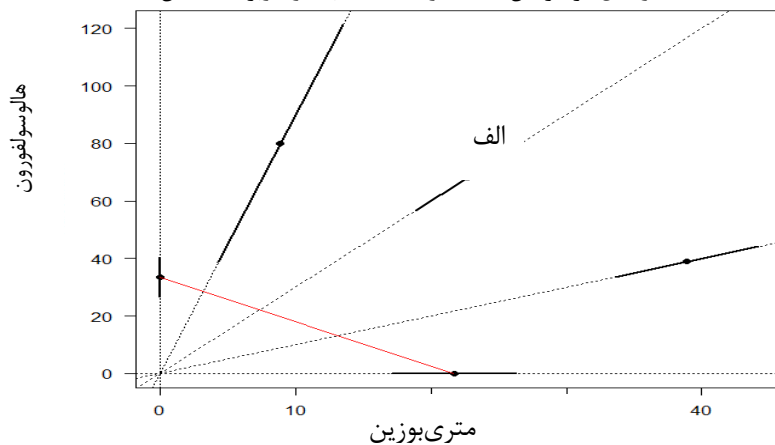
شکل ۳- تأثیر دزهای علف‌کش‌های متری بوزین به‌مراه هالوسولفورون

(الف) و متری بوزین به‌مراه فلومیوکسازین (ب) بر زیست‌توده گرم‌های خاکی ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف‌کش

{الف: ۱۰٪ متری بوزین + ۹۰٪ هالوسولفورون)، ۲۵ (۲۵٪ متری بوزین + ۷۵٪ هالوسولفورون)، ۵۰ (۵۰٪ متری بوزین + ۵۰٪ هالوسولفورون)، ۱۰۰ (۱۰۰٪ متری بوزین + ۰٪ هالوسولفورون)، ۰ (۰٪ متری بوزین + ۱۰۰٪ هالوسولفورون) و ۹۹۹ تیمار شاهد بدون علف‌کش در نرم افزار R} و {ب: ۴ (۴٪ متری بوزین + ۹۶٪ فلومیوکسازین، ۱۰ (۱۰٪ متری بوزین + ۹۰٪ فلومیوکسازین)، ۲۵ (۲۵٪ متری بوزین + ۷۵٪ فلومیوکسازین)، ۱۰۰ (۱۰۰٪ متری بوزین + ۰٪ فلومیوکسازین)، ۰ (۰٪ متری بوزین + ۱۰۰٪ فلومیوکسازین) و ۹۹۹ تیمار شاهد بدون علف‌کش در نرم افزار R}



شکل ۴- نمودار هم اثر (ایزوبول) مدل لجستیک چهار پارامتره برای نشان دادن اثر اختلاط متری بوزین با هالوسولفورون (الف) و متری بوزین با فلومیوکسازین (ب) در مدل اثر افزایش غلظت در ۲۴ ساعت بعد از کاربرد علف کش



شکل ۵- نمودار هم اثر (ایزوبول) مدل لجستیک چهار پارامتره برای نشان دادن اثر اختلاط متری بوزین با هالوسولفورون (الف) و متری بوزین با فلومیوکسازین (ب) در مدل اثر افزایش غلظت در ۴۸ ساعت بعد از کاربرد علف کش

نتیجه گیری

علف کش‌ها نیاز دارند. با توجه به نتایج این پژوهش، پیشنهاد می‌شود که زیست‌سنجی علف‌کش‌های متری‌بوزین، هالوسولفورون و فلومیوکسازین بصورت خالص و اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون و متری‌بوزین با فلومیوکسازین در خاک مصنوعی و یا خاک طبیعی انجام شود؛ همچنین زیست‌سنجی علف‌کش‌های ذکر شده در حالت خالص و اختلاط علف‌کش‌ها بر روی گونه‌های مختلف کرم‌های خاکی انجام شود. با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق، به نظر می‌رسد سمیت علف‌کش متری‌بوزین و هالوسولفورون و اختلاط متری‌بوزین با هالوسولفورون نسبت به علف‌کش فلومیوکسازین و اختلاط متری‌بوزین با فلومیوکسازین بر زیست‌توده کرم‌های خاکی سمیت بیشتری داشته است، در نتیجه استفاده از علف‌کش‌های متری‌بوزین و هالوسولفورون و اختلاط آنها در غلظت‌های بالاتر از میزان توصیه شده اثرات سویی بر زیست‌توده کرم‌های خاکی دارد و کشاورزان می‌بایست از استفاده این علف‌کش‌ها بصورت خالص و اختلاط آنها در غلظت‌های بالاتر از میزان توصیه شده پرهیز نمایند. بنابراین پیشنهاد می‌شود اختلاط علف‌کش‌هایی با باقی‌ماندگی کمتر در غلظت‌های وسیعتر و دماهای مختلف مورد بررسی قرار گیرد.

"هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

- Alebrahim M.T., Rashed Mohassel M.H., Wilkakson S., Baghestani M.A. and Ghorbani R. (2012). Evaluating of 6 unregistered herbicides efficacy in Iran potato fields and herbicide relation to cytochromes P450 mono- oxygenase enzyme. Ph.D. Thesis. Ferdowsi. University of Mashhad, Iran. (In Persian).
- Allen H.E. (1997). Standards for metal should not be based on total concentrations. SETAC-Europe news, 8: 7-9.
- Blouin M., Zuily-Fodil Y., Pam- Thi A.T., Laffray D., Reversat G., Pando A., Tondoh J. and Lavelle P. (2005). Below ground organism activities affect plant above ground phenotype, inducing plant tolerance to parasites. *Ecology Letters*, 8, 202-208.
- Burrows L.A. and Edwards C.A. (2002). The use of integrated soil microcosms to predict effects of pesticides on soil ecosystems. *European Journal of Soil Biology*, 38 (3-4), 245-249.
- Chand M., Singh S., Bir D., Singh N. and Kumar V. (2014). Halosulfuron Methyl: A New post emergence herbicide in India for effective control of *Cyperus rotundus* in sugarcane and its residual effects on the succeeding crops. *Sugar Tech*, 16, 67-74
- Chen J., Saleem M., Wang C., Liang W. and Zhang Q. (2018). Individual and combined effects of herbicide tribenuron-methyl and fungicide tebuconazole on soil earthworm *Eisenia fetida*. *Scientific Reports*, 8, 2967.
- Correia F.V. and Moreira J.C. (2010). Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia fetida*) in Laboratory Tests. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 85, 264-268.
- EPA. 1996. Ecological Effects Test Guide lines. Earthworm subchronic toxicity test. United States Environmental Protection Agency.
- Grey T.L., Culpepper A.S. and Webster T.M. (2007). Residual herbicide dissipation from soil covered with low-density polyethylene mulch or left bare. *Weed Science*, 55, 638-643.
- Jonker M.J., Svendsen C., Bedaux J.J.M., Bongers M. and Kammenga J.E. (2005). Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 2701-2713
- Kumar K. and Kumawat P. (2018). A review of the effect of herbicides on the earthworms. *International Journal of Zoology Studies*, 3(2), 120-125.
- Liang J. and Zhou Q. (2003). Single and Binary-Combined Toxicity of Methamidophos, Acetochlor and Copper Acting on Earthworms *Eisenia Foetida Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71, 1158-1166.
- OECD (1984). OECD Guideline for Testing of Chemicals, Earthworm Acute Toxicity. OECD, Paris, France. No. 207. <http://www.oecd>.

- org/chemicalsafety/risk-assessment/1948293.pdf.
- Owojori O.J. and Reinecke A.J. (2010). Effects of natural (flooding and drought) and anthropogenic (copper and salinity) stressors on the earthworm *Aporrectodea caliginosa* under field conditions. *Applied Soil Ecology*, 44,156-163.
- Ritz C., Baty F., Streibig J.C. and Gerhard D. (2015). Dose-Response Analysis Using R. *Plos One*, 10(12), 0146021.
- Shan J., Wang Y., Wang L., Yan X. and Ji R. (2014). Effects of the geophagous earthworm *Metaphire guillelmi* on sorption, mineralization, and bound-residue formation of 4-nonylphenol in an agricultural soil. *Environmental Pollution*, 189, 202–207.
- Shipitalo M.J. and Le Bayon R.C. (2004). Quantifying the effects of earthworms on soil aggregation and porosity. In: Edwards CA (Ed) *Earthworm Ecology*, CRC Press, Boca Raton, 441 pp.
- Sizmur T., and Hodson M.E. (2009). Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? A review. *Environmental Pollution*, 157(7), 1981-89.
- Sorensen H., Cedergreen N. and Skovgaard M. (2007). An isobole-based statistical model and test for synergism/ antagonism in binary mixture toxicity experiments. *Environmental and Ecological Statistics*, 14, 383– 397.
- Stenrød M., Perceval J., Benoit P., Almvik M., Bolli R.I., Eklo O.M., Sveistrup T.E. and Kværner J. (2008). Cold climatic conditions: Effects on bioavailability and leaching of the mobile pesticide metribuzin in a silt loam soil in Norway. *Cold Regions Science and Technology*, 53 (1), 4– 15.
- Streibig J.C., Kudsk P. and Jensen J.E. (1998). A general joint action model for herbicide mixture. *Pesticide Science*, 53, 21- 28.
- Travlos I.S., Gkotsi T., Roussis I., Kontopoulou C.K., Kakabouki I. and Bilalis D.J. (2017). Effects of the herbicides benfluralin, metribuzin and propyzamide on the survival and weight of earthworms (*Octodrilus complanatus*). *Plant Soil and Environment*, 63(3), 117–124.
- Vasilakoglou I., Dhima K., Paschalidis K., Gatsis T., Zacharis K. and Galanis M. (2013). Field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.) and redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) control in potato by pre- or post-emergence applied flumioxazin and sulfosulfuron. *Chilean Journal of Agriculture Research*, 73(1), 24-30.
- Vencill W.K. (2002). *Herbicide Handbook*. 8th ed. Lawrence, KS: Weed Science Society of America. Pp. 477.
- Wang Y., An X., Shen W., Chen L., Jiang J., Wang Q. and Cai L. (2016). Individual and combined toxic effects of herbicide atrazine and three insecticides on the earthworm, *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology*, 2016.
- Xiao H., Zhou Q.X. and Liang J.D. (2004). Single and joint effects of acetochlor and urea on earthworm *Eisenia foetide* populations in phaeozem. *Environment Geochemistry Health*, 26, 277–283.
- Yahyaabadi M. and Asadi A. (2010). Earthworm population response to tillage and residue management in central Iran. 19th World Congress of Soil Science, Brisbane, Australia.
- Zhang Q., Saleem M. and Wang C. (2017). Probiotic strain *Stenotrophomonas acidaminiphila* BJ1 degrades and reduces chlorothalonil toxicity to soil enzymes, microbial communities and plant roots. *AMB Express*, 7, 227.
- Zhao W., Sachsenmeier K., Zhang L., Sult E., Hollingsworth R.E. and Yang H. (2014). A new bliss independence model to analyze drug combination data. *Journal of Biomolecular Screening*, 19,817-821.