

پیامد کاربرد دیازینون بر فراوانی و تنوع برخی ریزجانداران خاک در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه امانی^{۱*}، علی اکبر صفری سنجانی^۲، فیروز ابراهیمی^۳، شهرام نظریان^۳

تاریخ دریافت: ۹۷/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۲

۱- دانشجوی دکتری، گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۲- استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه جامع امام حسین(ع)، تهران

*مسئول مکاتبه: Email: amani.fatemeh@gmail.com

چکیده

استفاده‌ی گسترده از آفت‌کش‌های فسفره‌ی آلی به ویژه دیازینون علیه آفات گیاهی سبب آلودگی پهنه وسیعی از بوم‌سازدهای خشکی و آبی خاک شده است. بنابراین در یک بررسی پیامد این آفت‌کش ارگانوفسفره بر برخی ریزجانداران مفید خاک بررسی شد. در یک پژوهش آزمایشگاهی آفت‌کش دیازینون در غلظت‌های ۰، ۴، ۱۲، ۵۰ mg.kg^{-1} به خاک افزوده و گرماگذاری شد. در زمان‌های گوناگون از خاک نمونه برداری شد و پس از رقیق‌سازی در محیط کشت‌های قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، پسودوموناس‌ها، باکتری‌های روده‌ای و ازتوباکترها در سه تکرار کشت شدند. تجزیه آماری به شیوه تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری بررسی شد. شاخص‌های تنوع گروه‌های ریزجانداران کشت پذیر در خاک تیمار شده با غلظت‌های گوناگون دیازینون نیز بررسی شد. در سنجش با شاهد آزمایش، در کاربرد 4 mg.kg^{-1} دیازینون در خاک فراوانی اکتینومیست‌ها و ازتوباکترها کاهش و فراوانی سودوموناس‌ها به اندازه چشم‌گیری افزایش یافتند و فراوانی قارچ‌ها و باکتری‌های روده‌ای ناهمانندی چشم‌گیری نداشتند. غلظت 12 mg.kg^{-1} و 50 mg.kg^{-1} دیازینون فراوانی همه ریزجانداران بررسی شده را کاهش داد. غنای گونه‌ای خاک در تیمار 4 mg.kg^{-1} دیازینون بیش از شاهد آزمایش و در دیگر غلظت‌ها کاهش چشم‌گیری داشت. تنوع زیستی و یکنواختی گونه‌ای در همه‌ی غلظت‌های دیازینون در برابر شاهد آزمایش کاهش یافت، ولی شناسه چیرگی در سنجش با شاهد آزمایش افزایش داشت. بنابراین اغلب ریزجانداران بررسی شده خاک با این غلظت از آفت‌کش ناسازگار بودند و این موضوع می‌تواند سلامت و حاصلخیزی خاک را کاهش دهد.

واژه‌های کلیدی: اکتینومیست، تنوع زیستی، حشره‌کش ارگانوفسفره، خاک‌های آلوده، قارچ، غنای گونه‌ای

The Effect of diazinon Application on Soil Microorganisms Frequency and Biodiversity in the laboratory condition

Fatemeh Amani^{1*}, Ali Akbar Safari Sinangani², Firouz Ebrahimi³, Shahram Nazarian³

Received: June 12, 2018 Accepted: June 23, 2019

1- PhD student, Dept. Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University. Hamadan, Iran.

2- Prof., Dept. of Soil Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University. Hamadan, Iran.

3- Assist. Prof., Dept. of Biological Sciences, Faculty of Science, Imam Hossein University, Tehran Iran.

*Corresponding Author Email: Email: amani.fatemeh@gmail.com

Abstract

Application of organophosphate pesticides especially diazinon is a common phenomenon that cause pollution wide area of terrestrial and aquatic ecosystem. Therefore, an investigation of the effect of this organophosphorus pesticide on some beneficial soil microorganisms was investigated. In a laboratory research, diazinon in the concentration of 0, 4, 12, 50 mg.kg⁻¹ was added to the soil and incubated. Then the soil sampled in different time of incubation, after preparing proper dilution, fungi, actinomycete, pseudomonas, intestinal bacteria and azotobacter cultivated in the specific medium in three replicates. The analysis was considered as completely randomized design (repeated measurement test). The effect of diazinon on biodiversity index of the cultivable microorganisms also evaluated. In comparison to the control, after application of 4 mg.kg⁻¹ diazinon in the soil the frequency logarithm of actinomycete and azotobacter decreased and pseudomonas increased. The frequency logarithm of intestinal bacteria and fungi were similar to untreated soil. In concentration of 12 and 50 mg.kg⁻¹ the frequency logarithm of all the studied microorganisms reduced. Soil richness in the treatment of 4 mg.kg⁻¹ diazinon was more than control and significantly decreased in other concentrations. Biological diversity and evenness decreased in all concentrations of applied diazinon but dominance index increased in comparison with the control. Therefore, most studied soil microorganisms were incompatible with these concentrations of pesticide and this could reduce soil health and fertility.

Keywords: Actinomycete, Biodiversity, Fungi, Organophosphorus Insecticide, Polluted Soil, Richness

و همکاران ۲۰۰۶). از طرف دیگر تنوع زیستی، مجموعه‌ی پیچیده بوم شناختی است که جانداران در آن زندگی می‌کنند و این شناسه تنوع همه گوناگونی‌های میان گونه‌ای، درون گونه‌ای و نیز گوناگونی زیستگاه‌ها را در بر می‌گیرد. تنوع ریزجانداران خاک همانند یکی از ویژگی‌های پایه‌ای زیستی خاک است و یکی از مهمترین شناسه‌های نشان دهنده سلامت خاک

مقدمه

آفت کش‌ها به گونه‌ی گسترده‌ای برای کاهش زیان آفت‌های گیاهی در کشاورزی استفاده می‌شوند. در جهان سالانه 3×10^9 آفت کش در کشاورزی به کار می‌رود ولی کمتر از ۱/۰ درصد بکاررفته به هدف می‌رسند و مانده آن سبب آلودگی خاک می‌شود (کریس

ریزجانداران خاک را کاهش داد و پیامد زیانبار و آسیب‌زایی بر کارایی آنزیم‌ها در خاک داشت. (مانوز- لئوز و همکاران ۲۰۱۳). در پژوهش دیگری نشان داده شد که افزایش گلایفوسیت (علف کش ارگانوفسفره) در سه اندازه به خاک در آغاز سبب بهبود کارکرد تنفسی ریزجانداران خاک شد، اما پس از آن تنفس کاهش یافت (لین و همکاران ۲۰۱۲).

از میان آفت‌کش‌های گوناگون بکاررفته در کشاورزی، دیازینون^۴ (با نام تجاری بازودین^۵ و دیاکاپ^۶) یک حشره کش ارگانوفسفره‌ای است که به فراوانی از آن برای مهار آفت‌های گیاهان دانه‌ای، کتان، میوه‌ای، مغزی، سبزی‌ها، چمنکاری‌ها استفاده شده است (آگاروال و همکاران ۲۰۱۳). با وجود استفاده گسترده از این آفت‌کش در ایران پیامدهای زیستی این آفت‌کش در خاک بررسی نشده است. هدف از این پژوهش شناخت چگونگی پیامد کاربرد آفت‌کش ارگانوفسفره دیازینون بر گروه‌های گوناگون ریزجانداران مفید خاک است تا پیامد این آفت‌کش ارگانوفسفره بر ریزجانداران خاک آشکارتر شود.

مواد و روش‌ها

آفت‌کش و مواد شیمیایی

ماده تکنیکال دیازینون (درصد خلوص ۹۷٪) از شرکت رازی شیمی خرم آماده شد. استونیتریل و همه مواد شیمیایی استفاده شده در پژوهش از شرکت مرک (Merk Co.) خریداری شد. محیط کشت PDA از شرکت Sigma-aldrich تهیه شد.

نمونه برداری خاک و بررسی ویژگی‌های آن

برای انجام این پژوهش از خاک رویین (۲-۵ سانتی متر) خاک‌های باغات سربندان از حومه منطقه دماوند در استان تهران با عرض جغرافیایی ۴/۳۴۷' ۳۵°۳۸' و طول جغرافیایی ۱۶/۲۹۳۶' ۵۲°۱۸' نمونه برداری انجام شد. خاک‌ها به گونه‌ای برگزیده شدند که در پنج سال گذشته از آفت‌کش ارگانوفسفره دیازینون

است که در حفظ کیفیت خاک و کشاورزی پایدار نقش به‌سزایی دارد.

با رشد روز افزون کاربرد آفت‌کش‌ها در کشاورزی، پیامد این مواد شیمیایی بر ترکیب ریزجانداران خاک و فرایندهای آن نگاه بسیاری را بسوی خود کشیده است (باکستر و کامینگ ۲۰۰۸). آفت‌کش‌های به کار رفته می‌توانند برای ریزجانداران بومی خاک آسیب‌زا باشند، بوم‌سازه خاک را ویران کنند (لیتل فیلد-ویر و همکاران ۲۰۰۸ و ونگ و همکاران ۲۰۰۶) و یا بر فرایندهای زیست‌شیمیایی از راه برهم زدن کارایی آنزیمی و ریزجانداران پیامد بد داشته باشند (ماهیا و همکاران ۲۰۰۸).

پژوهشگران گزارش‌های زیادی در باره پیامدهای بد و آسیب‌زای آفت‌کش‌ها بر تنوع ریزجانداران و کارکرد آنها انجام داده‌اند. چن و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که کاهش ناگهانی در تنفس و زیتوده میکروبی در پی افزایش قارچ‌کش‌های ارگانوفسفره شاید در اثر کاهش فعالیت یا کشته شدن گروهی از قارچ‌ها در خاک باشد که این کار موجب افزایش کارکرد باکتری‌ها می‌شود. گاهی آفت‌کش‌ها پیامد بازدارنده برگشت پذیر بر ریزجانداران خاک دارند که در آغاز افزایش، ریزجانداران را کاهش داده و سپس به همانگونه پیشین برمی‌گردد. گاهی فراوانی ریزجانداران در آغاز افزودن آفت‌کش افزایش می‌یابد، ولی با گذشت زمان پس از افزایش فراوانی، دوباره به حالت ابتدایی بازگشته یا بازهم افزایش می‌یابد. این یافته نشان دهنده توان دگرگونی سوخت و ساز ریزجانداران خاک است که می‌تواند سبب افزایش توان آنها در شکست (تجزیه) آفت‌کش‌ها و افزایش فراوانی آنها شود (هاسین و همکاران ۲۰۰۹). در همین راستا دیفنکونازول^۲ (قارچ‌کش) و دلتامترین^۲ و اتوفومزات^۲ در غلظت‌های ۵، ۵۰، ۵۰۰ mg.kg⁻¹ در یک خاک لوم شنی بکار رفت. نتایج نشان داد که غلظت ۵۰۰ mg.kg⁻¹ کارکرد گروهی

^۴Difenoconazole

نمونه‌های شاهد (خاک بدون دیازینون)، نیز به همان گونه تیمار شدند. هر نمونه در دمای °C ۲۵-۲۶ در تاریکی گرما گذاری شد و برای اندازه گیری دیازینون مانده در خاک و کشت ریزجانداران گوناگون در زمان‌های ۲، ۴، ۷، ۱۸، ۴۰، ۳۰ روز با استفاده از یک آگر دو سانتی متری ۳ گرم از هر تیمار خاک برداشته شد (هوا و همکاران ۲۰۰۹).

محیط کشت ریزجانداران و شمارش آنها

برای کشت و شمارش قارچ‌ها از محیط کشت آماده^۱ PDA و برای کشت و شمارش باکتری‌های روده‌ای از محیط کشت آماده^۲ EMB استفاده شد. برای ساخت محیط کشت های اکتینومیست‌ها (RBSCNA^۳)، با افزودن ۱۰۰ g starch، ۱۰۰ g vitamin، Casein (Difco)، ۲۰۰ g K₂HPO₄، ۲۰۰ g NaCl، ۲۰۰ g KNO₃، ۰/۳ g free)، ۰/۰۰۲-۰/۰۱۰ g CaCl₂، ۰/۰۰۵ MgSO₄.7H₂O، ۰/۰۰۳۵ g Rose Bengal، ۰/۰۰۲-۰/۰۰۱ g FeSO₄، ۱۰۰ g agar، سودوموناس‌ها با افزودن Peptone (gelatin)، ۲۰۰ g K₂SO₄، ۱/۴ g MgSO₄. 7H₂O، ۲۰۰ g glycerol، ۱۰۰ g Irgasan، ۰/۰۲۵ g sucrose، ازتوباکترها^۴ ۲۰۰ g K₂HPO₄، ۲۰۰ g CaCO₃، ۰/۲ g MgSO₄. 7H₂O، ۰/۱۰۵ g KH₂PO₄، ۱۰۰ g Na₂MoO₄، ۰/۰۱۰ g FeCl₃، ۰/۰۱۰ g CaCl₂، ۱۰۰ ml ۲ برموتیمول بلوی ۵ درصد در اتانول، ۰/۰۰۲ g agar ۱۰ گرم در یک لیتر آب حل شد. سپس pH به ۷/۲ رسانده و سترون شد. پس از سترون کردن به محیط کشت سودوموناس آنتی بیوتیک ایرگاسان^۵ و برای محیط کشت اکتینومیست رزبنگال که یک ماده بازدارنده (باکترواستاتیک) برای باکتری‌ها بوده و از رشد قارچ‌ها نیز جلوگیری می‌کند، افزوده شد (صفری سنجانی و همکاران، ۲۰۱۰).

در آنها استفاده نشده بود. نمونه‌ها در آزمایشگاه هوا خشک شده و برای انجام آزمایش‌ها از الک ۲ میلی متری گذرانده شدند. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بر پایه دستورکارهای استاندارد بررسی شدند (اسپارکز و بارتلز ۱۹۹۶).

ویژگی بافت و دانه بندی خاک به روش هیدرومتر اندازه گیری شد. از ویژگی‌های شیمیایی، pH خاک با دستگاه pHسنج مدل مترام ۷۴۴، رسانایی الکتریکی (EC) با رسانایی سنج الکتریکی مدل دلبیو تی دلبیو^۱ ۷۲۰، هر دو در نسبت ۱ به ۲ خاک به آب، درصد کربنات کلسیم معادل (ECC^۲) به روش خنثی کردن با اسید کلریدریک، درصد کربن آلی به روش اکسایش تر (والکی و بلک^۳)، اندازه گیری نیتروژن به روش کج‌دال^۴ پتاسیم با استفاده از اسید کلریدریک ۲ نرمال و دستگاه فلیم فوتومتر^۱ و فسفر قابل دسترس به وسیله اسپکتروفوتومتری^۷ اندازه گیری شدند (اسپارکز و بارتلز ۱۹۹۶).

آماده سازی تیمارها

۱۵۰ گرم از نمونه‌های خاک آماده شده با اندازه گوناگونی از دیازینون همراه با آب سترون تیمار شدند، به گونه ای که غلظت پایانی دیازینون در خاک، (شاهد آزمایش)، ۴، ۱۲، ۵۰ mgkg⁻¹ خاک خشک بود. غلظت‌های انتخاب شده به ترتیب مقدار پیشنهاد شده و سه برابر مقدار پیشنهاد شده برای مصرف در مزرعه می‌باشند و غلظت (۵۰ mg.kg⁻¹) نیز مقدار بسیار زیاد مصرف در نظر گرفته شد (هوا و همکاران ۲۰۰۹). نمونه‌های خاک درون پتری دیش با استفاده از قاشق پلاستیکی سترون با دیازینون آمیخته شد و سپس از الک دو میلی متری گذرانده شد تا آفت کش بکاررفته به گونه‌ای یکنواخت پخش شود. سپس نمونه‌ها با فویل‌های آلومینیومی برای جلوگیری از تجزیه نوری و جلوگیری از آلودگی گرد و خاک پوشانده شدند.

از آغاز تا پایان دوره نگهداری خاک رطوبت در ۶۰ درصد گنجایش نگهداری آب به روش وزنی دوره ای با اضافه کردن آب سترون در خاک نگهداری شد.

^۱ Potato Dextrose Agar

^۲ Eosin methylene blue

^۳ Rose Bengal starch casein nitrate agar

^۴ LG

^۵ Irgasan

استفاده از پنج میلی لیتر استونیتریل برای مدت سی دقیقه بر شیکر مکانیکی و در دور ۲۵۰ rpm قرار داده شد و سپس در دور ۳۵۰۰ rpm برای مدت پنج دقیقه سانترفیوژ شد. محلول بالایی (عصاره استونیتریل) در آغاز از کاغذ صافی (واتمن ۰/۴۸ mm) و سپس از فیلتر ۰/۴۵ میکرون برای پالایش بهتر گذرانده شد. پس از آن ۵ میلی لیتر آب مقطر در یک لوله سانترفیوژ ده میلی لیتری ریخته شد. ۵۰ میکرولیتر تترا کلرید کربن (فاز جدا کننده) به یک میلی لیتر از استونیتریل استخراج شده (در گام نخست) افزوده شد. پس از آن آمیخته به دست آمده بی درنگ در لوله سانترفیوژ دارای آب با استفاده از سرنگ پنج میلی لیتری افزوده شد. نمونه برای یک دقیقه تکان داده شد. محلول ابری (استونیتریل، آب و تتراکلریدکربن) در لوله سانترفیوژ دارای قطره‌های ریز تتراکلریدکربن همراه با دیازینون است. برای جداسازی فاز آلی از آبگونه به مدت پنج دقیقه در دور ۴۰۰۰ rpm سانترفیوژ شد و فاز تتراکلریدکربن در کف مخروطی لوله گردآوری شد. با یک میکروسرنگ (سرنگ همیلتون) آن را برداشته و تا نزدیک نقطه خشک شدن نگه داشته شد و دوباره در یک حجم ویژه استون حل شد و به دستگاه کروماتوگرافی مایع (HPLC) تزریق شد (ینگ و همکاران ۲۰۱۲).

دیازینون جداسازی شده از خاک با استفاده از کروماتوگرافی (HPLC Cecil 1100) با ستون Zorbax SB-C18 column (۲µm) (۴,۶×۲۵۰ Rm) اندازه گیری شد. دمای ستون ۲۵ درجه سانتی گراد بود و فاز جابجاکننده آن آمیخته ای از استونیتریل/آب مقطر به نسبت ۳۰/۷۰ با نرخ جابجایی ۲ ml.min⁻¹ بود. طول موج استفاده شده برای اندازه گیری دیازینون ۲۵۴ nm بود و زمان نگهداشت آن در ستون ۱۱ دقیقه بود.

داده پردازی و تجزیه و تحلیل آماری

نتایج شمارش ریزجانداران که هر یک از سه تکرار به دست آمد. جهت آسانتر شدن کار با داده‌های بزرگ پس از لگاریتم گیری داده‌ها، تجزیه واریانس شد. آزمون آماری بکاررفته، تحلیل واریانس با اندازه

برای آماده سازی سوسپانسیون از خاک یک گرم از آن را در ارلن دارای ۹۹ میلی لیتر آب سترون ریخته و ارلن برای ۱۵ دقیقه بر شیکر با دور ۱۲۰ دور در دقیقه گذاشته شد و سری‌های رقت تهیه شدند. در این بررسی بهترین رقت‌ها برای شمارش قارچ‌ها^{۱-۴}، برای اکتینومیست‌ها^{۴-۱۰}، برای سودوموناس‌ها^{۵-۱۰}، برای باکتری‌های روده ای^{۴-۱۰} و برای ازتوباکترها^{۲-۱۰} بودند. از هر رقت به اندازه ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون به کمک پیت سترون برداشته و بر محیط کشت پخش شد. از هر رقت سه تکرار در سه پتری مایه زنی شد. سپس پتری دیش‌ها را در دمای ۲۸±۲ درجه قرار داده شد. اکتینومیست‌ها^۴ به ریخت پرگنه‌های کوچک خشک، گرد، پودری، صورتی و یا سفید آشکار شد. سودوموناس‌ها^۱ به ریخت پرگنه‌های گرد و سفید رنگ دیده شد. در کشت گاه (EMB) پرگنه‌های اشرفیشیا کولی^۲ که تخمیرکننده لاکتوز هستند به رنگ سبز با جلای فلزی و باکتری‌های غیرتخمیری مانند سالمونلا^۳ و شیگلا^۴ بی رنگ تا ارغوانی دیده شدند، ازتوباکترها^۵ به ریخت کلنی‌های سفید، آبکی و لزج آشکار شد که پس از سه تا شش روز از سپیدی به رنگ قهوه ای، قهوه ای تیره تا سیاه و لزج دیده شدند. فراوانی کلنی‌هایی با ویژگی‌های یاد شده در سه پتری (سه تکرار) در هر رقت پس از ۵ روز و فراوانی اکتینومیست‌ها^۱ پس از ۹ روز شمارش شد (صفری سنجانی و همکاران ۲۰۱۰).

جداسازی و اندازه گیری دیازینون خاک

یک گرم خاک نمونه برداری شده در هریک از تیمارهای آزمایش با دقت وزن و در یک تیوپ پنجاه میلی لیتری سانترفیوژ ریخته شد. سپس خاک با

۱ *Pseudomonas*

۲ *Escherichia coli*

۳ *Salmonella*

۴ *Shigella*

۵ *Azotobacter*

۶ *Actinomyces*

شاخص چیرگی: نشان دهنده فراوانی جمعیت برخی از گونه‌ها نسبت به دیگر گونه‌ها است. در این پژوهش از شاخص غلبه سیمپسون (فرمول ۵) استفاده شد (شانون ۲۰۰۱، واشنگتن ۱۹۸۴).

$$D_D = \sum_{i=1}^S P_i^2 \quad \text{فرمول [۵]}$$

جهت انجام داده پردازی از نرم افزار اکسل استفاده شد و همه تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از برنامه آماری Statistica 6.0 انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های خاک

خاک آزمایش شده دارای رس ۳۲/۷۰٪ و سیلت ۲۶/۶۰٪ و شن ۴۰/۷۰٪ بود. بنابراین بافت خاک لوم رس با اسیدیته نسبتاً خنثی بود. برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک بکاررفته در جدول ۱ آمده است.

بازمانده دیازینون در خاک

دگرگونی غلظت‌های گوناگون دیازینون افزوده شده به خاک در زمان گرماگذاری در شکل ۱ آمده است. از آنجا که دیازینون با انرژی نورانی شکسته می‌شود (زانگ و همکاران ۲۰۱۱) و خاک‌های تیمار شده با دیازینون در تاریکی نگهداری شدند، بنابراین دگرگونی اندازه این آفت کش ارگانوفسفره در زمان‌های نخست اندک بود. از سوی دیگر چه بسا ریزجانداران تجزیه کننده این آفت کش ارگانوفسفره در خاک، با سازگاری و شکست این آمیزه سبب کاهش اندک این آفت کش با گذشت زمان گرماگذاری شده است.

گیری‌های تکراری در هر ریزجاندار با سطح آفت کش (۰، ۴، ۱۲ و ۵۰ mgkg⁻¹) و زمان‌های اندازه گیری ۲، ۴، ۷، ۱۸، ۳۰ و ۴۰ روز بود. آزمون میانگین پیامد ساده تیمار دیازینون و زمان گرماگذاری و برهمکنش آن با زمان، با استفاده از روش دانکن در پایه آماری ۵ درصد انجام شد.

در این پژوهش تنوع ریزجانداران، شناسه یکنواختی، شناسه غلبه و غنای گونه‌ای نیز برای هر خاک تیمار شده با دیازینون به روش‌های زیر برآورد و در تیمارهای سم (۰، ۴، ۱۲ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تحلیل واریانس یک سویه شد و سپس آزمون میانگین با استفاده از روش دانکن در پایه آماری ۵ درصد انجام شد.

شناسه غنای گونه‌ای نشان دهنده وجود گروه‌های گوناگونی از ریزجانداران در خاک است. شمار گروه‌ها همان غنای گونه‌ای است که در این پژوهش استفاده شده است (شانون ۲۰۰۱، واشنگتن ۱۹۸۴).

$$S = R \quad \text{فرمول [۱]}$$

شناسه تنوع گونه‌ای یا گروهی شانون-وینر (H) یکی از بهترین شناسه‌ها برای ارزیابی تنوع زیستی بوم‌سازها می‌باشد که از فرمول زیر برآورد می‌شود (شانون ۲۰۰۱، واشنگتن ۱۹۸۴).

$$H' = \sum_{i=1}^S (p_i)(\log_2 P_i) \quad \text{فرمول [۲]}$$

که در آن H' شناسه تنوع شانون-وینر، S: شمار گروه در نمونه و P_i نسبت فراوانی گروه یا گونه iام به فراوانی همه گونه‌ها است (شانون ۲۰۰۱، واشنگتن ۱۹۸۴).

شناسه یکنواختی نیز پخش و فراوانی گروه‌ها و گونه‌ها را در خاک نشان می‌دهد، برای بررسی شناسه یکنواختی از شناسه یکنواختی شانون-وینر (فرمول ۳) و شناسه یکنواختی سیمپسون (فرمول ۴) استفاده شد (شانون ۲۰۰۱، واشنگتن ۱۹۸۴).

$$E_H = \frac{H}{H_{Max}} = \frac{-\sum_{i=1}^S p_i \ln(P_i)}{\ln(S)} \quad \text{فرمول [۳]}$$

$$E_D = 1 / \sum_{i=1}^S (p_i)^2 \times S \quad \text{فرمول [۴]}$$

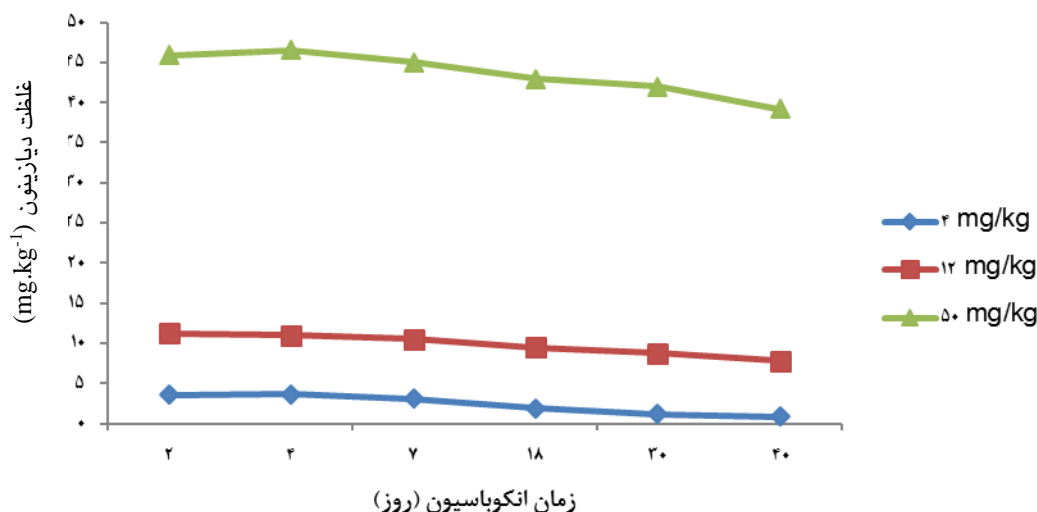
محیط کشت PDA در جدول ۲ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود، تنها پیامد ساده کاربرد دیازینون و

پیامد کاربرد دیازینون بر فراوانی قارچ‌ها
تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده از شمارش
قارچ‌های کشت پذیر خاک تیمار شده با دیازینون بر

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک نمونه برداری شده.

خاک	بافت	ECC (%)	OC (%)	EC (dS.m ⁻¹)	pH	K (ppm)	P (ppm)	N (%)
دماوند	لوم رس	۹/۵۵	۱/۱	۰/۸۹	۷/۶۰	۷۲۰	۲۳	۰/۳

EC^g: رسانایی الکتریکی؛ pH: اسیدیته، هردو در عصاره ۱ به ۲ خاک به آب؛ OC: کربن آلی؛ ECC: کربنات کلسیم معادل؛ P, K به ترتیب فسفر و پتاسیم در دسترس؛ N: نیتروژن کل.



جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پیامد غلظت‌های گوناگون دیازینون و زمان‌های نمونه برداری بر فراوانی ریزجانداران خاک.

منابع تغییر	درجه آزادی	قارچ	اکتیو میست	باکتری روده‌ای	سودوموناس	ازتوباکتر
غلظت	۳	۰/۱۳۳**	۰/۵۷۲**	۰/۳۶۹**	۰/۱۹۱**	۰/۵۸۰**
خطا	۸	۰/۰۱۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲
زمان	۵	۰/۰۱۷*	۰/۰۲۳**	۰/۰۲۳**	۰/۰۳۰**	۰/۰۱۸**
زمان × غلظت	۱۵	۰/۰۰۷ ^{ns}	۰/۰۲۰**	۰/۰۱۵**	۰/۰۱۲**	۰/۰۱۲**
خطا	۴۰	۰/۰۰۶	۰/۰۰۳	۰/۰۰۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳

**،* به ترتیب در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار و ns غیر معنی دار می باشد.

کش به وسیله باکتری‌ها می‌داند که سرانجام می‌تواند خوراکی برای قارچ‌ها شود و به این گونه برای آنها سودمند باشد. در این پژوهش نیز به نظر می‌رسد افزایش فراوانی قارچ‌ها در زمان ۱۸ روز از آغاز گرماگذاری وابسته به این فرایند باشد. شاید قارچ‌ها در پی رشد بهتر سودوموناس‌ها (که در بند ۴-۳ آمده است)، به کربن و انرژی بیشتری دسترسی داشتند و افزون بر این برهم‌کنش زیستی که گونه‌ای همسفرگی می‌تواند بشمار آید، خود قارچ‌ها هم با گذشت زمان به این آفت کش در خاک سازگار شده و گونه‌های پایدار فراوان تر شده اند. در همین راستا در پژوهش دیگری استفاده از کلرپیریفوس در دو غلظت ۰/۵ و 50 mg.kg^{-1} سبب افزایش شمار قارچ‌ها شد (دو تا و همکاران ۲۰۱۰) که این نشان از سودمند بودن پیامد این آفت کش برای برخی از قارچ‌های خاک دارد.

در برابر این گزارش‌ها، در پژوهش ونگ و همکاران (۲۰۰۸) دیده شد که غلظت بالای متامیدوفوس (ارگانوفسفره) سبب کاهش زیتوده قارچی و زیتوده کربن کل (Cmic) شد. برداشت آنها این بود که قارچ‌ها به این ماده سمی، بیشتر از دیگر ریزجانداران پاسخ دهنده بوده که سبب کاهش رشد و زیتوده آنها شده است. واکنش بین قارچ‌ها و این ماده سمی هنوز شناخته شده نیست.

هنگام کاربرد 50 mg.kg^{-1} دیازینون در خاک دگرگونی چشم گیری میان لگاریتم فراوانی قارچ‌های خاک در زمان‌های گوناگون گرماگذاری دیده نشد. که نشان دهنده سمی بودن این آفت کش در همه زمان‌های گرما گذاری بر این گروه از ریزجانداران بود (شکل ۲).

زمان گرماگذاری بر این گروه از ریزجانداران خاک از دیدگاه آماری معنی‌دار است و پیامد برهم کنش دیازینون - زمان بر این گروه از ریزجانداران خاک چشم گیر نبود.

آزمون میانگین لگاریتم فراوانی قارچ‌ها (جدول ۳) هنگام کاربرد دیازینون در غلظت‌های گوناگون نشان داد که لگاریتم فراوانی قارچ‌های کشت‌پذیر در غلظت 4 mg.kg^{-1} تفاوت چشم گیری از دیدگاه آماری با شاهد آزمایش نداشت. اما غلظت 12 mg.kg^{-1} کاهش چشمگیری در فراوانی قارچ‌ها در برابر خاک تیمار نشده (کنترل) داشت. پیامد بازدارنده کاربرد دیازینون در سطح 4 mg.kg^{-1} و 12 به یک اندازه بود به گونه ای که این دو غلظت از دیدگاه آماری در یک گروه بودند. کاربرد 50 mg.kg^{-1} دیازینون در خاک بر روی لگاریتم فراوانی قارچ‌های کشت پذیر پیامد بد چشم گیر داشت و این گروه از ریزجانداران را به پایین ترین اندازه خود در برابر دیگر غلظت‌های به کار برده شده رساند. در همین راستا کاربرد پرفنفوس^۱ که یک آفت‌کش ارگانوفسفره است، پیامد بازدارنده بر فراوانی قارچ‌ها در هفته دوم و چهارم و ششم پس از تیمار داشت (ایسن هاور و همکاران ۲۰۰۹).

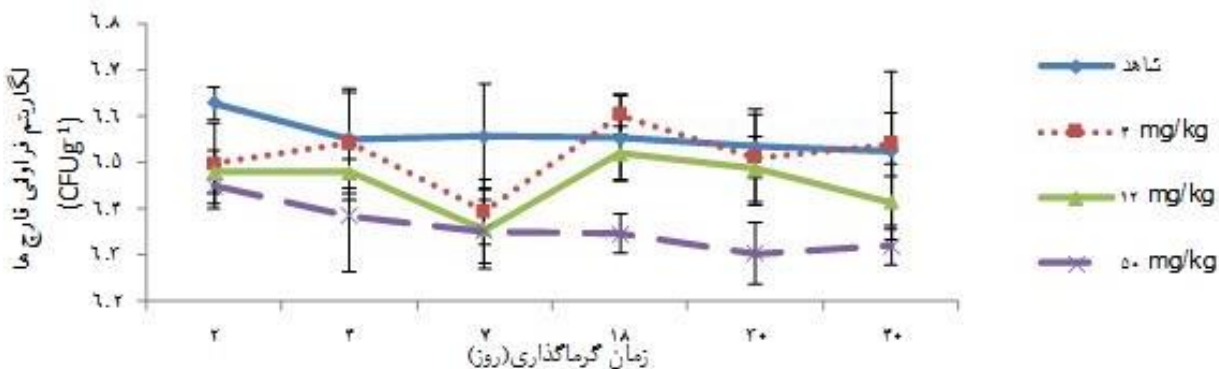
بررسی میانگین لگاریتم فراوانی قارچ‌های کشت پذیر در زمان‌های گوناگون گرماگذاری نشان داد که فراوانی آنها هنگام کاربرد 4 و 12 mg.kg^{-1} دیازینون و در هفتمین روز کاهش و هجدهمین روز از آغاز زمان گرما گذاری افزایش داشت (شکل ۲) و پس از آن با گذشت زمان گرماگذاری، دگرگونی چشمگیری نداشت. در این راستا نشان داده شد که افزایش کلرپیریفوس سبب افزایش فراوانی قارچ‌ها شد و این برانگیختگی جمعیتی تا پانزدهمین روز پس از افزایش ادامه داشت (پندی و سینگ ۲۰۰۴؛ ایسنهائر ۲۰۰۹). این پژوهشگران افزایش فراوانی قارچ‌ها را وابسته به تجزیه این آفت

^۱ Profenfos

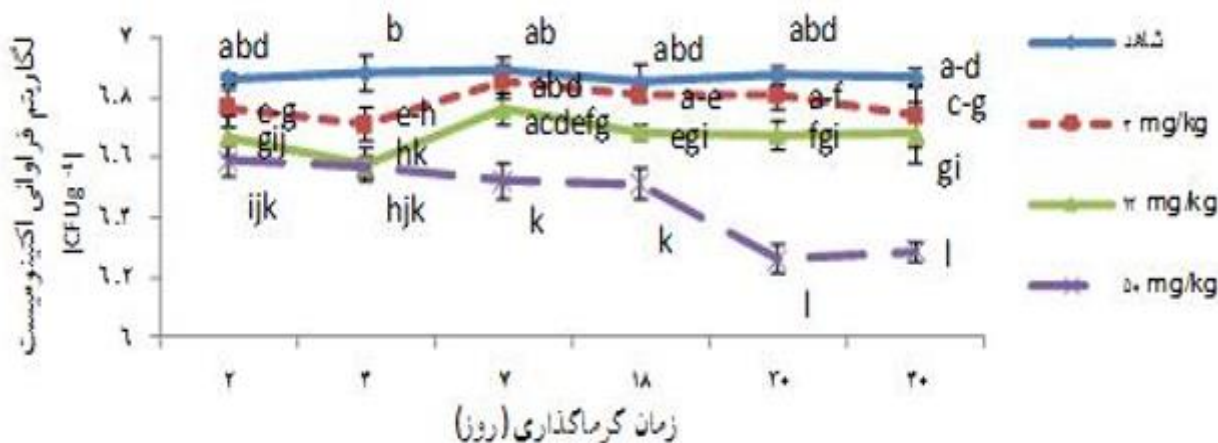
جدول ۳- آزمون میانگین لگاریتم فراوانی ریزجانداران ($CFUg^{-1}$) در غلظت‌های گوناگون دیازینون (آزمون دانکن)

ازتوباکتر Log (fi) ($CFUg^{-1}$)	باکتری روده‌ای Log (fi) ($CFUg^{-1}$)	سودوموناس Log (fi) ($CFUg^{-1}$)	اکتینومیست Log (fi) ($CFUg^{-1}$)	قارچ Log (fi) ($CFUg^{-1}$)	غلظت سم دیازینون ($mg.kg^{-1}$)
a $\bar{4}/\bar{78}(\pm 0/06)$	a $\bar{6}/\bar{67}(\pm 0/05)$	b $\bar{8}/\bar{18}(\pm 0/03)$	a $\bar{6}/\bar{87}(\pm 0/04)$	a $\bar{6}/\bar{56}(\pm 0/09)$	۰
b $\bar{4}/\bar{64}(\pm 0/08)$	a $\bar{6}/\bar{65}(\pm 0/05)$	a $\bar{8}/\bar{25}(\pm 0/02)$	b $\bar{6}/\bar{78}(\pm 0/07)$	ab $\bar{6}/\bar{51}(\pm 0/10)$	۴
c $\bar{4}/\bar{49}(\pm 0/10)$	b $\bar{6}/\bar{53}(\pm 0/10)$	c $\bar{8}/\bar{15}(\pm 0/06)$	c $\bar{6}/\bar{68}(\pm 0/08)$	b $\bar{6}/\bar{45}(\pm 0/08)$	۱۲
d $\bar{4}/\bar{36}(\pm 0/06)$	c $\bar{6}/\bar{35}(\pm 0/14)$	d $\bar{8}/\bar{01}(\pm 0/13)$	d $\bar{6}/\bar{45}(\pm 0/14)$	c $\bar{6}/\bar{36}(\pm 0/08)$	۵۰

* میانگین‌های با حروف یکسان اختلاف معنی داری ندارند. اعداد داخل پرانتز انحراف معیار استاندارد است.



شکل ۲- میانگین لگاریتم فراوانی قارچ‌ها در خاک‌های تیمار شده با دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری



شکل ۳- میانگین لگاریتم فراوانی اکتینومیست‌های خاک‌های تیمار شده با دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری
* میانگین‌های با حروف یکسان در هر خط اختلاف معنی داری ندارند.

پیامد دیازینون بر فراوانی سودوموناس‌ها

تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده از شمارش سودوموناس‌های کشت پذیر خاک‌های تیمار شده با دیازینون بر محیط کشت‌های سودومونوس‌ها در جدول ۲ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود، پیامد ساده کاربرد دیازینون و زمان گرماگذاری و پیامد برهم کنش دیازینون - زمان بر آنها از دیدگاه آماری بر این گروه از ریزجانداران خاک چشم گیر بود.

آزمون میانگین فراوانی سودوموناس‌ها هنگام کاربرد دیازینون در غلظت‌های گوناگون نشان داد که کاربرد دیازینون در غلظت 4 mg.kg^{-1} خاک موجب افزایش فراوانی و کاربرد غلظت‌های بیشتر (۱۲ و 50 mg.kg^{-1}) دیازینون موجب کاهش یافتن فراوانی سودوموناس‌های کشت پذیر در برابر شاهد آزمایش شد. کاربرد دیازینون در غلظت 50 mg.kg^{-1} بیشترین پیامد بازدارنده را بر سودوموناس‌های کشت پذیر خاک داشت (جدول ۳).

آزمون میانگین کاربرد دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری نشان داد (شکل ۴) که هنگام کاربرد 4 mg.kg^{-1} دیازینون دگرگونی چشمگیری در فراوانی سودوموناس‌ها در زمان‌های گوناگون گرما گذاری دیده نشد. فراوانی سودوموناس‌ها هنگام کاربرد 12 mg.kg^{-1} دیازینون پس از گذشت هفت روز از گرما گذاری کاهش چشمگیری در برابر زمان‌های آغازین گرماگذاری داشت. کاربرد 50 mg.kg^{-1} دیازینون گذشته از دو زمان پایانی گرما گذاری (۳۰ و ۴۰ روز) که کاهش چشمگیری در فراوانی سودوموناس‌ها دیده شد، دگرگونی چشمگیری در زمان‌های گوناگون گرماگذاری آنها دیده نشد. ^{۳۳}

بنابراین سودوموناس‌ها در برابر دیگر ریزجانداران در خاک آلوده به دیازینون رشد بهتری دارند که به توانایی تجزیه آنها و یا پایداری آنها در برابر این آلودگی باز میگردد. به هر حال سودوموناس‌ها تا غلظت ویژه‌ای می‌توانند در برابر آفت کش دیازینون در خاک پایدار باشند. گزارش شده که گونه‌های سودوموناس^۱ و سراتیا^۲ به کاربرد آفت کش‌ها در خاک پایدارند (گرنیت و همکاران ۲۰۰۲). همچنین در پژوهشی دیده شد که فراوانی باکتری‌های کشت پذیر در خاک‌های تیمار شده با آفت‌کش فورات^۳ افزایش یافتند (داس و همکاران ۲۰۰۵). ونگ و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که آلودگی متامیدوفوس (ارگانوفسفره) به گونه چشم‌گیری سبب افزایش باکتری‌های گرم منفی شد ولی بر باکتری‌های گرم مثبت پیامدی نداشت. در برابر آن در پژوهشی دیگر نشان داده شد که فراوانی باکتری‌های G^+ و G^- در پی افزایش کلریپیرفوس به زیستگاه آنها کاهش یافت (فرانکو و اندرو ۲۰۱۶).

پیامد دیازینون بر فراوانی باکتری‌های روده‌ای

تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده از شمارش باکتری‌های روده‌ای کشت پذیر خاک‌های تیمار شده با دیازینون در محیط کشت ویژه باکتری‌های روده‌ای در جدول ۲ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود، پیامد ساده کاربرد دیازینون و زمان گرماگذاری و پیامد برهم کنش دیازینون - زمان بر این گروه از ریزجانداران خاک از دیدگاه آماری چشم گیر بود.

آزمون میانگین لگاریتم فراوانی باکتری‌های روده‌ای هنگام کاربرد دیازینون در غلظت‌های گوناگون در خاک نشان داد که فراوانی این گروه از باکتری‌ها هنگام کاربرد 4 mg.kg^{-1} دگرگونی چشمگیری با شاهد نداشت. ولی کاربرد 12 mg.kg^{-1} و بویژه 50 mg.kg^{-1} دیازینون در خاک موجب کاهش چشمگیر این گروه از باکتری‌ها شد (جدول ۳).

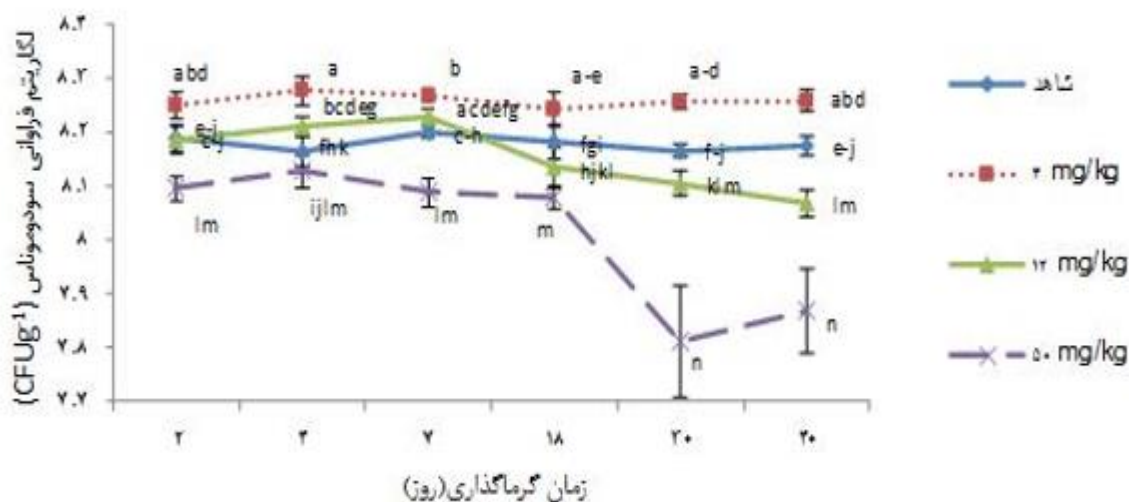
^۱*Pseudomonas sp.*

^۲*Serratia sp.*

^۳phorate

در تیمار 12 mg.kg^{-1} در آغاز گرماگذاری باکتری‌های روده ای در برابر آفت کش وارد شده در خاک پاسخ چشم گیری نداشتند ولی با گذشت زمان گرماگذاری این گروه از باکتری‌ها در برابر این آفت کش پایداری نداشته و فراوانی آنها کاهش یافت. هنگام کاربرد 50 mg.kg^{-1} دیازینون این باکتری‌ها پایداری نداشته و شمار آنها از آغاز در برابر خاک تیمار نشده کاهش یافت.

در زمان‌های گوناگون گرماگذاری، هنگام کاربرد 4 mg.kg^{-1} دیازینون فراوانی باکتری‌های روده‌ای دگرگونی چشمگیری نداشت، ولی در کاربرد 12 mg.kg^{-1} لگاریتم فراوانی باکتری‌های روده ای در زمان‌های نخست (۲ و ۴ روز) گرماگذاری بالاتر از زمان‌های دیگر گرما گذاری بود (شکل ۵). فراوانی باکتری‌های روده ای در کاربرد 50 mg.kg^{-1} دیازینون در خاک‌ها گذشته از کاهش چشمگیر در زمان پایانی گرماگذاری دگرگونی چشمگیری در دیگر زمان‌های گرماگذاری نداشت. بنابراین کاربرد غلظت 4 mg.kg^{-1} دیازینون پیامدی بر فراوانی باکتری‌های روده ای کشت پذیر نداشت ولی



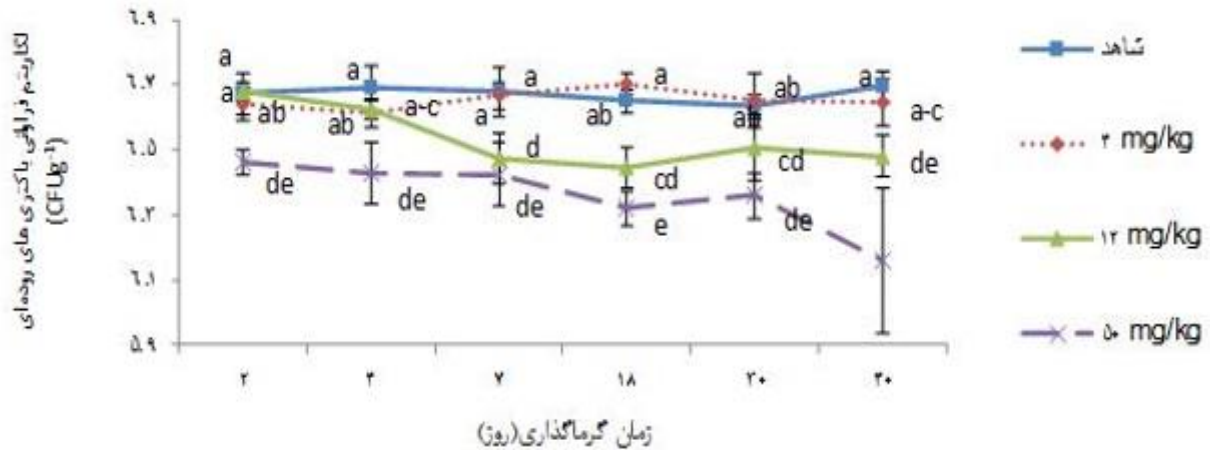
شکل ۴- میانگین لگاریتم فراوانی سودوموناس خاک‌های تیمار شده با دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری
*میانگین‌های با حروف یکسان در هر خط اختلاف معنی داری ندارند.

آزمون میانگین فراوانی ازتوباکترها هنگام کاربرد دیازینون در غلظت‌های گوناگون نشان داد که کاربرد دیازینون در خاک سبب کاهش فراوانی ازتوباکترها شد. کاربرد ۴، ۱۲ و 50 mg.kg^{-1} دیازینون به ترتیب سبب کاهش چشم گیر بیشتری در لگاریتم فراوانی ازتوباکترهای کشت پذیر در خاک شد (جدول ۳). آزمون میانگین کاربرد دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری نشان داد که هنگام کاربرد 4 mg.kg^{-1} دیازینون، در گام‌های آغازین گرماگذاری (دو و چهار

پیامد آفت کش دیازینون بر فراوانی ازتوباکترها
تحلیل واریانس داده‌های بدست آمده از شمارش ازتوباکترهای کشت پذیر بر محیط کشت بدون نیتروژن (LG) از خاک‌های تیمار شده با دیازینون در جدول ۲ آمده است. همان گونه که دیده می‌شود، پیامد ساده کاربرد دیازینون و زمان گرماگذاری و پیامد برهم کنش دیازینون - زمان بر آنها از دیدگاه آماری بر فراوانی این گروه از ریزجانداران خاک چشم گیر بود.

روند دگرگونی فراوانی باکتری‌ها هنگام کاربرد mg.kg^{-1} 12^{-1} همانند روند یاد شده در غلظت mg.kg^{-1} ۴ بود.

پیامد بد چشم‌گیری بر لگاریتم فراوانی باکتری‌ها (روز) نداشت، ولی با گذشت زمان گرماگذاری موجب کاهش لگاریتم فراوانی ازتوباکترهای کشت پذیر شد (شکل ۶).



شکل ۵- میانگین لگاریتم فراوانی باکتری‌های روده ای خاک‌های تیمار شده با دیازینون در زمان‌های گوناگون گرماگذاری *میانگین‌های با حروف یکسان در هر خط اختلاف معنی داری ندارند.

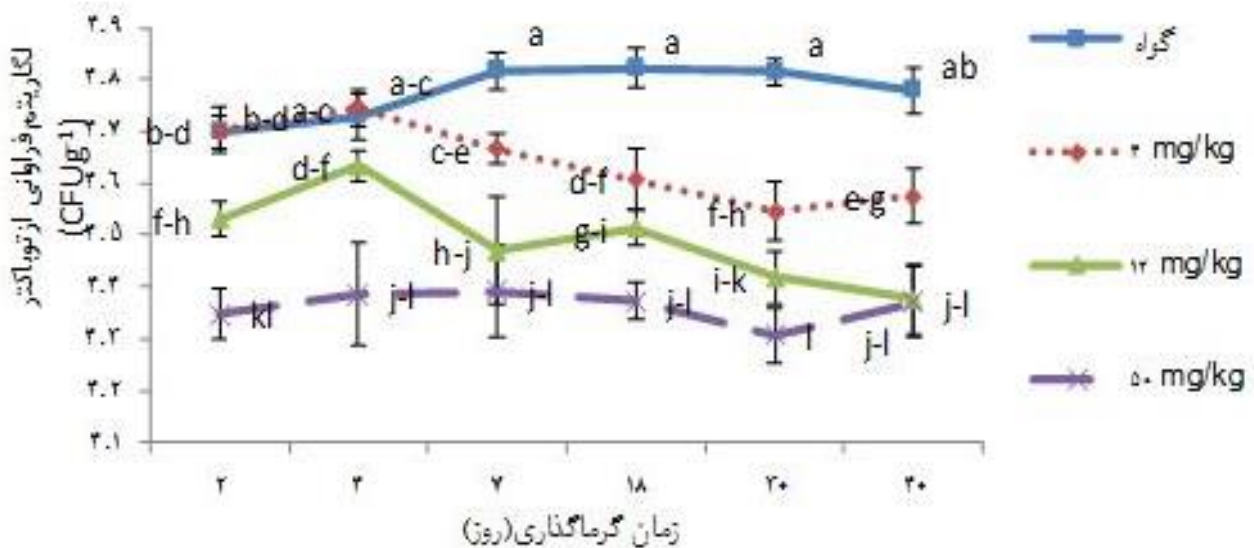
گزارش‌های یاد شده پانزده روز پس از کاربرد دیازینون به خاک یک افزایش چشمگیر در فراوانی ازتوباکترها گزارش شده است (سردار و کله ۲۰۰۵). ناهمخوانی یافته‌های این گزارش‌ها به گونه و غلظت آفت کش بکاررفته و ویژگی‌های خاک‌های آزمایش شده و شرایط انجام آزمایش وابسته است.

پیامد دیازینون بر تنوع

تنوع زیستی یکی از شناسه‌های پایداری در هر بوم سازگان (اکوسیستم) شمرده می‌شود. هر بوم سازگانی که تنوع زیستی بیشتری داشته باشد، پایداری بوم شناختی و حاصلخیزی بیشتری داشته و یک بوم سازگان پایدار و پویا خواهد بود. تنوع زیستی یک سازوکار بوم شناسی بنیادی برای سنجش دو جامعه از دیدگاه‌های گوناگون و بررسی ناهنجاری‌های زیستگاه‌ها و شناخت پایداری آنها است (ماگورن و مک گیل ۲۰۱۱).

کاربرد غلظت mg.kg^{-1} ۵۰ دیازینون در خاک لگاریتم فراوانی ازتوباکترها را از آغاز گرماگذاری به اندازه چشم‌گیری کاهش داد و با گذشت زمان دگرگونی چندانی نداشت.

گزارش شده است که هنگام کاربرد کلرپیریفوس در غلظت mg.kg^{-1} ۱۰-۳۰۰ به خاک لومی شمار باکتری‌های هوازی تثبیت کننده نیتروژن و شمار باکتری‌های عمومی و تثبیت نیتروژن کاهش یافت (دوتا و همکاران ۲۰۱۰). درپژوهش دیگری نیز کاربرد کلرپیریفوس به خاک نیتروژن و فسفر فراهم گیاهی را کاهش داد که گمان می‌رود به پیامد زیان بار این آفت کش بر ریزجانداران خاک باز گردد (سردار و کله ۲۰۰۵). در واقع پیامد بازدارنده این آفت‌کش بر روی توده‌های ریزجانداران می‌تواند سبب کاهش کارایی آنزیم‌های آنها شود. از سوی دیگر این آمیزه‌ها با پوشاندن رویه دانه‌های آلی و کانی در خاک موجب کاهش برهمکنش میان جایگاه‌های پیوند آنزیم‌ها و بستری آنها می‌شود (فرانکو-اندرو ۲۰۱۶). در برابر



شکل ۶- میانگین لگاریتم فراوانی ازتوباکترهای خاکهای تیمار شده با دیازینون در زمانهای گوناگون گرماگذاری
*میانگینهای با حروف یکسان در هر خط اختلاف معنی داری ندارند.

سبب یک برانگیختگی جمعیتی یا افزایش غنای گونه ای در این غلظت از دیازینون شده است. ولی با افزایش غلظت دیازینون از 4 mg.kg^{-1} تا غلظت 50 mg.kg^{-1} در خاک کاهش آماری چشمگیری در غنای گونه ای دیده شد. که به نظر می رسد غلظت های زیاد افزایش دیازینون پیامد زیانبار بر بیشتر گروه های میکروبی داشته است.

تحلیل واریانس کاربرد غلظت های گوناگون دیازینون بر شناسه های تنوع در جدول ۴ آمده است ($P < 0.01$). آزمون میانگین شناسه های تنوع در جدول ۵ نشان می دهد که با افزایش غلظت دیازینون در خاک از صفر تا 4 mg.kg^{-1} غنای گونه ای به اندازه چشم گیری افزایش یافت. که همانطور که در قسمت های قبل دیده شد افزایش این غلظت از دیازینون موجب تحریک برخی از گروه های ریزجانداران شد که این موضوع

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) پیامد غلظت های گوناگون دیازینون بر شناسه های دگرگونی

منابع تغییر	df	غنای گونه ای	تنوع شانون وینر	یکنواختی شانون وینر	یکنواختی سیمپسون	چیرگی گونه ای
دیازینون	۳	$1/21 \times 10^{17}^{**}$	$0/006^{**}$	$00/00^{**}$	$0/002^{**}$	$0/001^{**}$

*,** به ترتیب در سطح ۰/۰۵ و ۰/۰۱ معنی دار و ns غیر معنی دار می باشد.

جدول ۵- آزمون میانگین شناسه‌های تنوع ریزجانداران بررسی شده در خاک در غلظت‌های گوناگون دیازینون (mg.kg^{-1}) (آزمون دانکن).

غلظت دیازینون (mg/kg)	غنای گونه‌ای	تنوع شانون وینر	یکنواختی شانون وینر	یکنواختی سیمپسون	چیرگی گونه‌ای
۰	$b_{1/0.0} * 10.9 (\pm 7150.907/0.0)$	$a_{0/42} (\pm 0.006)$	$a_{0/26} (\pm 0.003)$	$a_{0/24} (\pm 0.001)$	$b_{0/82} (\pm 0.003)$
۴	$a_{19/17} * 10.9 (\pm 160.48439/69)$	$b_{0/34} (\pm 0.023)$	$b_{0/21} (\pm 0.015)$	$b_{0/22} (\pm 0.002)$	$a_{0/86} (\pm 0.011)$
۱۲	$c_{9/32} * 10.8 (\pm 20563218/65)$	$b_{0/34} (\pm 0.012)$	$b_{0/21} (\pm 0.008)$	$b_{0/22} (\pm 0.001)$	$a_{0/86} (\pm 0.005)$
۵۰	$d_{6/88} * 10.8 (\pm 20963097/52)$	$b_{0/32} (\pm 0.007)$	$b_{0/20} (\pm 0.004)$	$b_{0/22} (\pm 0.000)$	$a_{0/87} (\pm 0.003)$

* میانگین‌های با حروف یکسان اختلاف معنی داری ندارند. عددهای داخل پرانتز انحراف معیار استاندارد است.

آزمون میانگین شناسه تنوع شانون-وینر نیز نشان داد (جدول ۵) که این شناسه به گونه چشمگیری در خاک‌های تیمار شده دیازینون کاهش یافته است. ولی میان این شناسه در خاک‌های تیمار شده با غلظت‌های گوناگون دیازینون ناهمانندی چشم گیری دیده نشد. به نظر می‌رسد افزایش دیازینون سبب کاهش چشمگیر تنوع ریزجانداران شده است هرچند در غلظت mg.kg^{-1} ۴ یک برانگیختگی جمعیتی (غنای گونه ای) دیده شد. یکی از خرده‌هایی که به شناسه تنوع شانون وینر گرفته می‌شود، توانایی این شناسه در جداسازی زیستگاه‌هایی است که غنای گروهی آنها به گونه معنی داری متفاوت است (مرگران ۲۰۱۳). بنابراین با آنکه کاهش تنوع در اثر افزایش غلظت دیازینون دیده شده است، گمان می‌رود که این شناسه توانایی خوبی در شناسایی تغییرات تنوع ریزجانداران در غلظت‌های mg.kg^{-1} ۱۲ و ۵۰ را ندارد.

جدول ۵ همچنین آزمون میانگین شناسه یکنواختی (پخش فراوانی گروه‌ها) را نشان می‌دهد. هر اندازه شناسه یکنواختی (سیمپسون و شانون وینر) بیشتر باشد، نشان دهنده این است که فراوانی ریزجانداران هر گروه ناهمانندی چندانی ندارد. در پژوهش کنونی با افزایش غلظت دیازینون تا mg.kg^{-1} ۵۰ در خاک این

شناسه به اندازه چشم گیری کاهش یافته است که نشان دهنده چیرگی برخی از گروه‌های ریزجانداران در هنگام آلودگی با این آفت کش است. این پیامد در آزمون میانگین شناسه چیرگی گروه‌ها نیز دیده می‌شود. همانگونه که آزمون میانگین شناسه چیرگی در جدول ۵ نشان می‌دهد با کاربرد دیازینون در خاک این شناسه در برابر خاک تیمار نشده افزایش یافت ولی میان آن در کاربرد غلظت‌های گوناگون دیازینون دگرگونی چشمگیری دیده نشد.

پیامد تنوع ریزجانداران بر کارکرد خاک روشن نیست. برخی بر این باور هستند که کاهش در یکنواختی ریزجانداران خاک پیامد اندکی بر کارکرد خاک دارد زیرا گونه‌ها و فراوانی ریزجانداران با کارکرد همانند در بوم سازگان خاک فراوان است و بنابراین می‌توانند کار هم‌دیگر را در خاک انجام دهند (جاکوبسن و هلمسو ۲۰۱۴). بررسی‌های آزمایشگاهی نیز نشان داده است که سخن یاد شده برای فرایندهای بنیادی در خاک مانند معدنی شدن کربن و تثبیت نیتروژن درست است. ولی کاهش غنای گونه‌ای زمانی که خاک در برابر یورش آفت‌ها و بیماری‌ها باشد، می‌تواند آسیب‌زا باشد و سرانجام پیامد بدی بر حاصلخیزی خاک داشته باشد. زیرا رسیدن آلودگی باکتریایی و جانداران بیماری‌زا از

بررسی شده مانند سودوموناس‌ها افزایش یافت. پایداری این گروه از ریزجانداران در برابر کاربرد دیازینون می‌تواند به توانایی تجزیه این ریزجانداران یا پایداری آنها به کاربرد دیازینون باشد. ولی کاربرد دیازینون در غلظت‌های بیش از 4 mg.kg^{-1} پیامد بازدارنده چشمگیری بر ریزجانداران بررسی شده خاک داشت.

اگر چه در کاربرد 4 mg.kg^{-1} دیازینون شناسه غنای گونه‌ای ریزجانداران بررسی شده افزایش داشت ولی کاربرد همین اندازه و بیش از آن در خاک، شناسه‌های تنوع زیستی و یکنواختی ریزجانداران بررسی شده در خاک را به اندازه چشمگیری کاهش داد. برآوردهای این پژوهش همراه با پژوهش‌های مزرعه‌ای می‌تواند در نگه داشتن کیفیت خاک و در نهایت کشاورزی پایدار سودمند باشد.

پس مانده‌ها و همچنین آمیزه‌های ویژه می‌تواند فرآورده‌های گیاهی و جانوری کشتزارها و آبهای زیرزمینی و رو زمینی را آلوده کند. تنوع ریزجانداران چندکارکردی در بوم سازگان می‌توانند آسیب این بیماریزها را کاهش دهند (جاکوبسن و هلمسو ۲۰۱۴). بنابراین بسیاری از آفت کش‌ها پیامدهای زیان‌باری بر ریزجانداران دارند (جاکوبسن و هلمسو ۲۰۱۴) که می‌تواند تراز بندی (تعادلات) بیوشیمیایی را در خاک بر هم زند که سرانجام سبب کاهش حاصلخیزی خاک شود (هاسین ۲۰۰۹).

نتیجه گیری کلی

پژوهش کنونی نشان می‌دهد کاربرد دیازینون در غلظت 4 mg.kg^{-1} بر برخی از ریزجانداران خاک پیامد بد دارد به گونه‌ای که فراوانی برخی از ریزجانداران

منابع مورد استفاده

- Abdel-Mallek A, Moharram A, Abdel-Kader M and Omar S. 1994. Effect of soil treatment with the organophosphorus insecticide Profenfos on the fungal flora and some microbial activities. *Microbiol Research*, 149(2):167-171.
- Aggarwal V, Deng X, Tuli A and Goh KS. 2013. Diazinon—Chemistry and Environmental Fate: A California Perspective. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 223:107-140.
- Baxter J and Cummings S. 2008. The degradation of the herbicide bromoxynil and its impact on bacterial diversity in a top soil. *Journal of Applied Microbiology*, 104(6):1605-1616.
- Carriger JF, Rand GM, Gardinali PR, Perry WB, Tompkins MS and Fernandez AM. 2006. Pesticides of potential ecological concern in sediment from south Florida canals: an ecological risk prioritization for aquatic arthropods. *Soil Sediment Contamination*, 15(1):21-45.
- Chen S-K, Edwards CA and Subler S. 2001. Effects of the fungicides benomyl, captan and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(14):1971-1980.
- Das A and Mukherjee D. 2000. Soil application of insecticides influences microorganisms and plant nutrients. *Applied Soil Ecology*, 14(1):55-62.
- Das AC, Chakravarty A, Sen G, Sukul P and Mukherjee D. 2005. A comparative study on the dissipation and microbial metabolism of organophosphate and carbamate insecticides in orchaqualf and fluvaquent soils of West Bengal. *Chemosphere*, 58(5):579-584.
- Dutta M, Sardar D, Pal R and Kole RK. 2010. Effect of chlorpyrifos on microbial biomass and activities in tropical clay loam soil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160(1):385-391.
- Eisenhauer N, Klier M, Patsch S, Sabais AC, Scherber C, Weisser WW and Scheu S. 2009. No interactive effects of pesticides and plant diversity on soil microbial biomass and respiration. *Applied Soil Ecology*, 42(1):31-36.

- Franco-Andreu L, Gómez I, Parrado J, García C, Hernández T and Tejada M. 2016. Behavior of two pesticides in a soil subjected to severe drought. Effects on soil biology. *Applied Soil Ecology*, 105:17-24.
- Grant R, Daniell T and Betts W. 2002. Isolation and identification of synthetic pyrethroid-degrading bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 92(3):534-540.
- Hua F, Yunlong Y, Xiaoqiang C, Xiuguo W, Xiaoe Y and Jingquan Y. (2009) Degradation of chlorpyrifos in laboratory soil and its impact on soil microbial functional diversity. *Journal of Environmental Sciences*, 21(3):380-386.
- Hussain S, Siddique T, Saleem M, Arshad M and Khalid A. 2009. Impact of pesticides on soil microbial diversity, enzymes, and biochemical reactions. *Advances in Agronomy*, 102: 159-200.
- Jacobsen CS, Hjelmsø MH. 2014. Agricultural soils, pesticides and microbial diversity. *Current Opinion in Biotechnology*, 27:15-20.
- Lane M, Lorenz N, Saxena J, Ramsier C and Dick RP. 2012. The effect of glyphosate on soil microbial activity, microbial community structure, and soil potassium. *Pedobiologia*, 55(6):335-342.
- Littlefield-Wyer J, Brooks P and Katouli M. 2008. Application of biochemical fingerprinting and fatty acid methyl ester profiling to assess the effect of the pesticide Atradox on aquatic microbial communities. *Environmental Pollution*, 153(2):393-400.
- Magurran AE and McGill BJ. 2011. *Biological diversity: frontiers in measurement and assessment*. Oxford University Press.
- Magurran, A.E. 2013. *Measuring biological diversity*. John Wiley & Sons, New York, USA.
- Mahía J, Cabaneiro A, Carballas T and Díaz-Raviña M. 2008. Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. *Biology and Fertility of Soils*, 45(1):99-105.
- Muñoz-Leoz B, Garbisu C, Charcosset J-Y, Sánchez-Pérez JM, Antigüedad I and Ruiz-Romera E. 2013. Non-target effects of three formulated pesticides on microbially-mediated processes in a clay-loam soil. *Science of the Total Environment*, 449:345-354.
- Pandey S and Singh DK. 2004. Total bacterial and fungal population after chlorpyrifos and quinalphos treatments in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) soil. *Chemosphere*, 55(2):197-205.
- Safari Sinegani AA, Sharifi Z and Safari Sinegani M. 2010. *Method in applied microbiology in Method in applied micobiology*. Bu-Ali Sina University Press. Hamadan. (in Persian).
- Sardar D and Kole RK. 2005. Metabolism of chlorpyrifos in relation to its effect on the availability of some plant nutrients in soil. *Chemosphere*, 61(9):1273-1280.
- Shannon CE. 2001. A mathematical theory of communication. *ACM SIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review*, 5(1):3-55.
- Singh J. and Singh DK. 2005. Bacterial, azotobacter, actinomycetes, and fungal population in soil after diazinon, imidacloprid, and lindane treatments in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) fields. *Journal of Environmental Sciences Health B*, 40(5):785-800.
- Sparks DL, Page AL, Helmke PA, Loeppert RH, 1996. *Methods of Soil Analysis Part 3- Chemical Methods*. Soil Science Society of America Book Series 5.3. SSSA, ASA, Madison, WI, USA.
- Tu C. 1970. Effect of four organophosphorus insecticides on microbial activities in soil. *Journal of Applied Microbiology*, 19(3):479-484.
- Tu C. 1972. Effect of four nematocides on activities of microorganisms in soil. *Journal of Applied Microbiology*, 23(2):398-401.
- Wang M-C, Gong M, Zang H-B, Hua X-M, Yao J, Pang, Y-J and Yang Y-H. 2006. Effect of methamidophos and urea application on microbial communities in soils as determined by microbial

biomass and community level physiological profiles. *Journal of Environmental Sciences Health B*, 41(4):399-413.

- Wang M-C, Liu Y-H, Wang Q, Gong M, Hua X-M, Pang Y-J, Hu S and Yang Y-H. 2008. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic, and genetic characteristics of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(3):778-788.
- Yang Z, Liu Y, Liu D and Zhou Z. 2012. Determination of organophosphorus pesticides in soil by dispersive liquid-liquid microextraction and gas chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 50(1):15-20.
- Zhang Y, Hou Y, Chen F, Xiao Z, Zhang J and Hu X. 2011. The degradation of chlorpyrifos and diazinon in aqueous solution by ultrasonic irradiation: effect of parameters and degradation pathway. *Chemosphere*, 82(8):1109-1115.