نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۲، ص. ۲۳۰-۲۲۰

Agroecology
Vol. 5, No. 3, Fall 2013, p. 220-230

بررسی اثرات اکولوژیکی سطوح مختلف قارچ‌کش متالاکسیل بر میزان زیست توده میکروبی خاک‌های کشت شده و کشت نشده ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط مزرعه‌ای

مهشید منصورزاده[1*] و فایز رئیسی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۸/۲۰

چکیده

قارچ‌کش‌ها از جمله سموم پر مصرف در ایران و جهان است و کاربرد آنها می‌تواند بر فعالیت ریزجانداران خاکزی به خصوص قارچ‌ها تأثیرگذار باشد و تغییر در ترکیب و جمعیت میکروبی خاک می‌تواند حاصلخیزی خاک را تحت تأثیر قرار دهد. هدف این آزمایش ارزیابی تأثیر سطوح مختلف قارچ‌کش متالاکسیل بر میزان کربن و نیتروژن زیست توده میکروبی و نسبت آنها و نیز ضریب متابولیکی در شرایط کشت ذرت و بدون کشت تحت شرایط مزرعه ای بود. در این آزمایش، سطوح ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار قارچ‌کش متالاکسیل در خاک‌های تحت کشت ذرت و بدون کشت به صورت کرت‌های خرد شده، در قالب طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار در یک خاک آهکی مطالعه شد. میزان کربن و نیتروژن زیست توده میکروبی، همچنین ضریب متابولیکی طی دو مرحله در روزهای ۳۰ و ۹۰ پس از شروع آزمایش اندازه‌گیری شد. نتایج این بررسی نشان داد که در خاک تحت کشت ذرت کربن و نیتروژن زیست توده میکروبی در هر دو مرحله (به جز کربن زیست توده میکروبی مرحله دوم) در سطح ۳۰ کیلوگرم در هکتار در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌دار ($p\leq$۰/۰۱) افزایش (بین ۱۵-۸۰ درصد) یافت، درحالی‌که در محیط کشت نشده کاهش (بین ۳۴-۱ درصد) پیدا نمودند. نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی در محیط کشت نشده با افزایش سطح سم کاهش (۱۵ و ۵۳ درصد) یافت، در حالی‌که در محیط کشت شده روند مشخصی نداشت. از سوی دیگر، روند تغییرات ضریب متابولیکی حاکی از آن بود که در محیط کشت شده با ذرت این شاخص در تیمارهای حاوی متالاکسیل در هر دو سطح ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار در مقایسه با شاهد کاهش (۴۸ درصد) یافت، در حالی‌که محیط کشت نشده در مرحله اول سطح ۳۰ کیلوگرم در هکتار بالاترین میزان این شاخص را داشت و در مرحله دوم مقدار آن با افزایش سطح متالاکسیل افزایش پیدا کرد. به‌طور کلی، مصرف قارچ‌کش متالاکسیل باعث کاهش و افزایش شاخص‌های زیستی در خاک‌های تیمار شده گردید و جهت و میزان این تغییرات به میزان مصرف سم، زمان سپری شده پس از مصرف آن و حضور یا عدم حضور گیاه در خاک بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: حضور گیاه، ضریب متابولیکی، قارچ‌کش، کربن، نیتروژن میکروبی

مقدمه

سموم دفع آفات با کنترل علف‌های هرز، بیماری‌های گیاهی و حشرات مضر به انسان خدمات فراوانی کرده‌اند، اما غلظت‌های زیاد برخی از این سموم می‌تواند برای انسان، گیاهان، ریزجانداران و سایر جانداران مضر باشد (Eisenhauer et al., 2009; Lock & Zablotowicz, 2004) در کشور ما نیز آفت‌کش‌ها به گونه‌ای بی‌رویه مصرف می‌شوند و کاربرد آنها رو به فزونی است. آفت‌کش‌ها به سبب داشتن مواد شیمیایی مضر بر موجودات خاکی تأثیر می‌گذارند (Mansourzadeh & Raiesi, 2012). این موجودات که در لایه‌های کم عمق زمین قرار دارند بیشترین تأثیر را از این مواد می‌گیرند. ورود این گونه سموم به محیط زیست می‌تواند اثرات ویرانگری بر گروه خاصی از موجودات بگذارد که شاید مورد نظر مصرف‌کنندگان این مواد نباشد (Paul & Clark, 1996). بنابراین، شرایط و نحوه استفاده از این سموم را باید به نحوی تنظیم کرد که آسیب وارد شده به محیط زیست به حداقل برسد و یا اصولاً آسیبی وارد نگردد، تا خصوصیات جامعه زیستی خاک که از مهمترین شاخص‌های سلامت، پایداری و حاصلخیزی خاک و اکوسیستم هستند، در معرض خطر و تهدید قرار نگیرند (Pedersen, 1988).

با توجه به استفاده روز افزون سموم شیمیایی در کشاورزی به منظور مبارزه با آفات و بیماری‌ها و از آنجا که خاک یکی از دریافت-

۱ و ۲- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد و دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد
(*- نویسنده مسئول: Email: mahshidmansourzadeh@yahoo.com)

کنندگان اصلی این گونه سموم است و متعاقب آن اثرات زیانبار این ترکیبات بر جامعه زیستی خاک می‌تواند توازن اکولوژیکی گونه‌های زیستی خاک را مختل سازد (Eisenhauer et al., 2009; Erfan Manesh & Afiyouni, 2002)، در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در مورد تأثیر انواع آفت‌کش بر فعالیت‌های زیستی خاک در دنیا انجام شده است. از این رو، به نظر می‌رسد که تأثیر این گونه مواد بر فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی خاک‌های آهکی که از لحاظ کربن قابل دسترس فقیر هستند نیز، بایستی به دقت بیشتری مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد (Mansourzadeh & Raiesi, 2012). در هر صورت باید به این نکته توجه داشت که حتی امروزه نیز سموم شیمیایی، نیرومندترین سلاح مبارزه با آفات به شمار می روند و احتمالاً بشر هرگز از آنها کاملاً بی‌نیاز نخواهد شد. بدین ترتیب اصل مهم، کاربرد صحیح و دقیق این مواد است تا ضمن مبارزه با آفات، حداقل اثرات سوء به محیط زیست وارد شود (Lock & Zablotowicz, 2004; Rakhshani, 2002).

چنانچه گفته شد 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 (Mansourzadeh & Raiesi, 2012). میزان مصرف سموم نیز حائز اهمیت است چرا که می‌تواند موجب اختلال در فراوانی جمعیت، فعالیت و ترکیب ریزجانداران خاک شود (Lock & Zablotowicz, 2004). در برخی مطالعات مشاهده شده است که استفاده از این ترکیبات به صورت بالقوه می‌تواند اثرات زیانباری بر برخی ریزجانداران آبزی و خاکزی بگذارد (Roger et al., 1994) و نیز برخی دیگر از شاخص‌های زیستی خاک نظیر کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی و ضریب متابولیکی را دستخوش تغییر نماید (Hart & Brookes, 1999). توده میکروبی بخش زنده ماده آلی است که هم منبع و مخزن عناصر غذایی و کانون تغییر و تحولات ماده آلی خاک به‌شمار می‌آید (Bottomly, 1994; Anderson, 2003). عموماً، کاهش زیست‌توده میکروبی نشان دهنده تحرک و معدنی شدن نسبی عناصر غذایی در بافت‌های میکروبی می‌باشد (Landi et al., 2000). نسبت کربن به نیتروژن (C/N) زیست توده میکروبی نشان‌دهنده سهم نسبی قارچها به باکتری‌های خاک است و مشخص می‌کند که تغییرات اعمال شده روی خاک و یا آلاینده‌ها چه تأثیری بر فراوانی این موجودات دارد. معمولاً این نسبت بسته به ترکیب جمعیت میکروبی خاک بین ۱۵-۵ تغییر می کند، به طوری‌که بالا بودن این نسبت حاکی از بیشتر بودن سهم قارچ به باکتری و بالعکس می‌باشد (Suman et al., 2006). qCO_2 یا تنفس ویژه به‌صورت نسبت CO_2 حاصل از تنفس به ازای هر واحد کربن زیست توده میکروبی در واحد زمان بیان می‌شود (Suman et al., 2006). افزایش تنش و استرس ناشی از ورود آلاینده‌ها به خاک بر جامعه میکروبی موجب افزایش این ضریب بیولوژیکی می‌شود. لذا این ضریب، شاخص مناسبی برای تعیین اثر تنش‌های محیطی از جمله مصرف سموم دفع آفات بر زیست‌توده میکروبی می‌باشد (Suman et al., 2006). این پارامتر فیزیولوژیکی همچنین برای مطالعه تأثیر آلودگی بر میزان نیاز انرژی میکروبی و احتمالاً هدر رفت کربن از طریق زیست توده میکروبی پیشنهاد شده است (Landi et al., 2000).

هنگام بررسی اثر آلاینده‌های مختلف بر ویژگی‌های میکروبی و بیوشیمیایی خاک، اغلب زیست توده میکروبی (کربن و نیتروژن) و تنفس ویژه میکروبی اندازه‌گیری می‌شود (Broos et al., 2007). بنابراین عکس‌العمل این دو شاخص به مصرف قارچ‌کش‌ها می تواند به ارزیابی وضعیت ریزجانداران خاک در خاک‌های آلوده به این ترکیبات کمک نماید.

بررسی‌های گوناگون در مورد تأثیر این قارچ‌کش بر خصوصیات بیولوژیک خاک صورت گرفته است. در یک بررسی آزمایشگاهی سوکول (Sukul, 2006) تأثیر مصرف متالاکسیل در غلظت‌های مختلف را بر زیست‌توده میکروبی و فعالیت‌های بیوشیمیایی خاک مطالعه کرد. وی گزارش نمود که در پایان دوره آزمایش کربن زیست توده میکروبی نسبت به روز اول به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. در مطالعه‌ای دیگر، به خاک لوم شنی در سه اکوسیستم جنگلی، مرتعی و زراعی متالاکسیل با غلظت ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم اضافه گردید و اثرات آن بر سرعت تجزیه، تنفس پایه، تنفس ناشی از سوبسترا و نیز مقادیر qCO_2 در دمای ۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت مزرعه مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که همبستگی مثبت بین ثابت سرعت تجزیه متالاکسیل، تنفس پایه و تنفس ناشی از سوبسترا در هر سه اکوسیستم وجود داشت و رابطه بین سرعت تجزیه و تنفس خاک با افزایش کربن آلی افزایش یافت، ولی تأثیر میزان رس و pH خاک بر این رابطه جزئی بود (Jones & Ananyeva, 2001). همچنین افزایش معنی‌دار در مقدار qCO_2 در هر سه اکوسیستم نسبت به خاک شاهد مشاهده شد. به‌طوری که مقدار این پارامتر در اکوسیستم جنگلی ۲۵ درصد و در خاک مرتعی و زراعی ۲۰ درصد از خاک تیمار نشده بیشتر بود (Jones & Ananyeva, 2001). علاوه بر این، مدت زمان اغتشاش در میزان qCO_2 در خاک جنگلی طولانی‌تر از خاک مرتعی و زراعی بود (به ترتیب ۴۸، ۲۱ و ۱۵ روز).

به‌طورکلی و بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده در چند دهۀ گذشته، اثر سموم بر فعالیت جامعه زیستی خاک بسیار متناقض است و روند یکسانی را نشان نمی‌دهد. به نظر می‌رسد که اثر سموم بر فعالیت میکروبی به نوع و غلظت سم، شرایط فیزیکی محیط و خصوصیات خاک (از جمله بافت، نوع رس، ترکیب جمعیت میکروبی و

میزان مادهٔ آلی) بستگی دارد. از این رو، در این تحقیق به اثر سطوح مختلف قارچ‌کش متالاکسیل، از سموم متداول در ایران، بر برخی شاخص‌های فعالیت میکروبی (از جمله کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی و ضریب متابولیکی) در یک خاک آهکی پرداخته شد.

لازم به ذکر است که در این تحقیق فرض شده است که مصرف قارچ‌کش سبب کاهش زیست توده میکروبی خاک و متعاقب آن افزایش qCO_2 میکروبی می‌شود و این کاهش در سطوح بالاتر مصرف این قارچ‌کش بیشتر است. همچنین، کشت گیاه ذرت از اثرات زیانبار این قارچ‌کش بر زیست توده میکروبی و تنفس ویژه خاک می‌کاهد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به منظور بررسی اثر مصرف سطوح مختلف قارچ‌کش متالاکسیل[1] در شرایط مزرعه‌ای بر برخی شاخص‌های زیستی خاک شامل میزان کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی، نسبت آنها (MBC/MBN) ($mgC.mgN^{-1}$) و نیز ضریب متابولیکی (qCO_2) صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل: سه سطح قارچ‌کش متالاکسیل پنج درصد به صورت جامد به میزان ۰، ۳۰ و ۶۰ کیلوگرم در هکتار و دو محیط تحت کشت ذرت و بدون کشت (بایر) ذرت بودند که در سه تکرار تحت شرایط مزرعه‌ای به صورت آزمایش کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با در نظر گرفتن عامل کشت و عدم کشت به عنوان فاکتور اصلی و دوزهای مختلف این سموم به عنوان فاکتور فرعی اجرا گردید. برای اجرای طرح با استفاده از ادوات کشاورزی زمین مورد نظر در قالب ۳۶ کرت به ابعاد ۵×۳ متر مربع با در نظر گرفتن یک متر فاصله بین کرت‌های فرعی و دو متر

بین کرت‌های اصلی (عامل اصلی کشت و بدون کشت و عوامل فرعی دوزهای مصرف سم) به صورت جوی و پشته کرت‌بندی گردید و در هر کرت تعداد چهار ردیف جوی و پشته ایجاد شد. جوی‌های آبیاری به گونه‌ای ایجاد شدند که آب کرت‌ها با یکدیگر مخلوط نگردد. لازم به ذکر است که کودهای فسفات آمونیوم به میزان۷۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت و اوره به میزان ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار به صورت سرک (۶۰ کیلوگرم در هکتار قبل از کاشت و مابقی پیش از گلدهی) برای تأمین میزان نیتروژن و فسفر مورد نیاز و جلوگیری از بروز احتمالی کمبود این عناصر به تمامی کرت‌ها اضافه گردید.

قارچ‌کش فنیل آمید[2] با نام متالاکسیل (ان- ۲ و ۶ دی متیل فنیل- ان - متوکسی استیل آلانین متیل استر) یک ترکیب کایرال است که بیشتر به شکل انانتیومری R دیده می‌شود (شکل ۱). این قارچ‌کش جزء آسیل آلانیدها بوده و قارچ‌کشی سیستمیک است و از لحاظ شیمیایی در گروه بنزوئیدها قرار می‌گیرد، به شدت در آب محلول و نسبتاً فرار می‌باشد. از این قارچ‌کش برای مصارف عمومی استفاده می‌شود (Monkiedjea et al., 2007). این قارچ‌کش به صورت فعال علیه پاتوژن‌های قارچی کاربرد دارد و مخلوط آن به صورت برگپاشی برای محصولات گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به کار می‌رود. متالاکسیل در دامنه وسیعی از pH، دما و نور پایدار می‌باشد (Monkiedjea et al., 2007). قارچ‌کش متالاکسیل به صورت دانه‌هایی بنفش رنگ و جامد و از انواع کند رها شونده است که باید به صورت جامد و به روش نواری در فاصله پنج سانتی‌متری از ردیف کاشت روی پشته‌ها به صورت یکنواخت قرار گیرد، سپس تا عمق حدوداً ۱۵ سانتی‌متری به زیر خاک برده شود. لذا برای اعمال سطوح مختلف این قارچ‌کش پس از محاسبه مقدار لازم برای کرت‌های مورد نظر به طریق فوق این قارچ‌کش به کرت‌های مورد نظر اضافه گردید. پس از این مرحله و قبل از انجام عملیات کاشت، زمین به منظور ترکیب یکنواخت سم و نیز رسیدن رطوبت به حدی که بتوان کشت ذرت را به آسانی انجام داد، آبیاری شد و در مرحله بعد در نیمی از کرت‌ها ذرت کاشته شد. واریته انتخابی ذرت (*Zea mays* L.)، بذر علوفه‌ای ۷۰۴ (S.C. 704) بود که از مرکز تحقیقات کبوتر- آباد واقع در استان اصفهان به مقدار لازم تهیه گردید. کاشت ذرت با رعایت ۷۵ سانتی‌متر فاصله بین ردیف‌ها و ۱۵ سانتی‌متر فاصله بین بوته‌ها در عمق ۷/۵ تا ۵ سانتی‌متری سطح خاک صورت گرفت.

آبیاری زمین مورد نظر به روش جوی و پشته در فواصل زمانی هر چهار روز یکبار و مراقبت‌های لازم شامل وجین علف‌های هرز در صورت نیاز و نیز مصرف کود نیتروژن به صورت سرک طی فصل کشت انجام شد. تمامی عملیات اجرا شده روی کرت‌های کشت شده عیناً بر کرت‌های کشت نشده نیز اعمال گردید. مدت زمان رشد گیاه ذرت از زمان کاشت تا برداشت ۱۰۰ روز به طول انجامید و در اوایل آبان ماه هنگامی‌که دانه‌های ذرت علوفه‌ای به مرحلهٔ خمیری رسیدند (۶۰ تا ۷۰ درصد رطوبت) محصول به‌طور کامل، برداشت گردید. بافت خاک مورد آزمایش لوم رسی شنی (با میانگین رس ۲۵ درصد) و میزان شوری آن $EC=۰/۴۳dS.m^{-1}$ بود. درصد کربن آلی خاک نیز ۰/۴۳٪ برآورد گردید. میزان کربنات کلسیم معادل خاک ۴۷ درصد و pH آن ۸/۴۷ بود. نیتروژن کل ۰/۰۳۴ درصد و فسفر و پتاسیم قابل جذب به ترتیب ۱۵/۷ و ۹۴/۳ پی‌پی‌ام به دست آمد (جدول ۱).

جهت اندازه‌گیری برخی شاخص های میکروزیستی شامل کربن و نیتروژن زیست‌توده میکروبی و محاسبه ضریب متابولیکی در دو مرحله در طول فصل رشد (۳۰ و ۹۰ روز پس از کاشت)، از تمامی کرت‌ها از عمق cm ۳۰-۰ نمونه خاک تهیه گردید. با استفاده از لوله-

1- Metalaxyl
2- Phenylamide

های فلزی (اوگر) به طول ۳۵ سانتی‌متر و قطر پنج سانتی‌متر از هر کرت ۶-۵ نمونه از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متر برداشت و پس از مخلوط کردن این نمونه‌ها و الک کردن (دو میلی‌متر) یک نمونه ۱۰۰ گرمی تازه از هر کرت تهیه شد. پس از انتقال این نمونه‌ها به آزمایشگاه میزان کربن زیست‌توده میکروبی به روش تدخین با کلروفرم-انکوباسیون و سپس تیتراسیون برگشتی با سود باقیمانده و نیتروژن (Jenkinson & Powlson, 1976; Raiesi, 2004) زیست‌توده میکروبی نیز با استفاده از روش تدخین با کلروفرم-انکوباسیون و اندازه‌گیری آمونیوم و نیترات به روش رنگ-سنجی اندازه گیری گردیدند (Jenkinson & Ladd, 1981) و نتایج به صورت وزنی ($mg.kg^{-1}$ soil) ارائه شد. با استفاده از شاخص فوق نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی (MBC/MBN) به‌دست آمد. qCO_2 نیز به صورت دی اکسید کربن آزاد شده ناشی از تنفس از هر واحد زیست‌توده میکروبی در واحد زمان محاسبه (Suman et al., 2006) و بر حسب $\mu gCO_2 - C\ mg^{-1}MBC\ day^{-1}$ گزارش شد. لازم به ذکر است که تنفس میکروبی برای محاسبه این شاخص میزان دی‌اکسیدکربن تولید شده از خاک تدخین نشده طی ۱۰ روز انکوباسیون می‌باشد.

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار فیشر (Fisher's protected LSD) در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. بعضی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم گردید. قبل از انجام آنالیزهای آماری نرمال بودن داده‌ها و همگنی واریانس تیمارها با استفاده از نرم‌افزار آماری Minitab نسخه ۱۴ مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

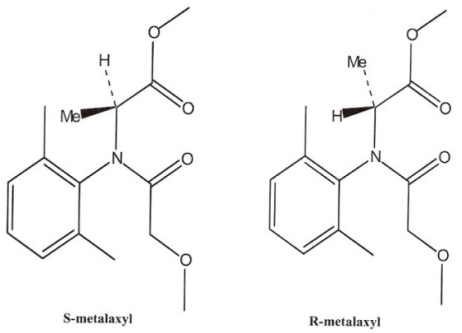
۱- کربن زیست توده میکروبی (MBC)

اندازه‌گیری کربن زیست توده میکروبی خاک شاخصی حساس برای بررسی تأثیرات مضر آلاینده‌ها بر جمعیت میکروبی خاک می‌باشد (Pedersen, 1988). در این تحقیق کربن زیست توده میکروبی در دو مرحله (۳۰ و ۹۰ روز پس از کاشت) اندازه‌گیری گردید. در مرحله اول میانگین کربن زیست توده میکروبی در تیمارهای مختلف متالاکسیل از ۱۷۴ mgC kg^{-1} در سطح $kg.ha^{-1}$ ۶۰ تا ۱۰۲ mgC kg^{-1} در سطح $kg.ha^{-1}$ ۳۰ محیط کشت نشده متغیر بود (شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که در مرحله اول اثر محیط بر این شاخص معنی‌دار نبود که این امر احتمالاً ممکن است به دلیل تغییر سایر عوامل محیطی مانند رطوبت خاک باشد، ولی اثر میزان سم ($p\leq۰/۰۱$) و تأثیر متقابل محیط و سطح سم ($p\leq۰/۰۵$) معنی‌دار بودند.

جدول ۱- برخی از خصوصیات خاک

Table 1- Soil characteristics

بافت Texture	آهک (درصد) $CaCO_3$ (%)	اسیدیته pH	نیتروژن (درصد) Nitrogen (%)	کربن آلی (درصد) OC (%)	هدایت هیدرولیکی (دسی زیمنس بر متر) EC ($dS.m^{-1}$)
لوم رسی شنی Sandy clay loam	47.33	8.47	0.199	0.434	0.43



N- 2,6- dimethyl phenyl-N-methoxyacethyl alanine methyl ester
Molecular weight: 279.3, chemical formula: $C_{15}H_{21}NO_4$

شکل ۱- فرمول شیمیایی، نام علمی و وزن مولی انانتیومرهای متالاکسیل (Monkiedje & Spiteller, 2005)

Fig. 1- Chemical formula, IUPAC name and molecular weight of metalaxyl enantyomers (Monkiedje & Spiteller, 2005)

کربن زیست‌توده میکروبی خاک در شرایط کاشت ذرت در مرحله اول در تیمار شاهد بیشترین مقدار و در تیمار $kg.ha^{-1}$ ۳۰ متالاکسیل کمترین مقدار را دارا بود و نسبت به شاهد ۳۲ درصد کاهش نشان داد، درحالی‌که سطح $kg.ha^{-1}$ ۶۰ متالاکسیل تفاوت چندانی (۱/۵ درصد کمتر) با شاهد نداشت (جدول ۲). این درحالی است که در محیط کشت نشده سطح $kg.ha^{-1}$ ۶۰ سبب افزایش معنی دار (۴۷ درصد) میزان کربن زیست‌توده میکروبی در مقایسه با شاهد گردید، درصورتی‌که تیمار $kg.ha^{-1}$ ۳۰ این قارچ‌کش سبب کاهش ۱۴ درصدی این شاخص نسبت به شاهد. این نتایج حاکی از آن است که سطح $kg.ha^{-1}$ ۳۰ متالاکسیل اثرات سوء بر جامعه میکروبی خاک و ریزوسفر داشته است. در صورتی که سطح $kg.ha^{-1}$ ۶۰ متالاکسیل در محیط کشت نشده احتمالاً ارزش غذایی سم بر اثرات سوء آن برتری داشت به‌طوری‌که برای اغلب ریزجانداران خاک به عنوان منبع غذا و انرژی مصرف گردیده و سبب افزایش زیست‌توده میکروبی نیز شده است. ایزنهاور و همکاران (Eisenhauer et al., 2009) نشان دادند که سموم مختلف در مراحل مختلف تجزیه اثرات متفاوتی بر فعالیت-های زیستی خاک داشتند و مصرف آنها سبب کاهش و یا افزایش شاخص های زیستی خاک گردید.

در مرحله دوم اثر هر سه عامل محیط ($p\leq$۰/۰۵)، سطح سم متالاکسیل ($p\leq$۰/۰۰۱) و اثرات متقابل آنها ($p\leq$۰/۰۰۱) بر کربن زیست‌توده میکروبی معنی‌دار بود. میزان کربن زیست‌توده میکروبی در ۹۰ روز از $mgC\ kg^{-1}$ ۲۴۲ در تیمار $kg.ha^{-1}$ ۳۰ محیط کاشت ذرت تا $mgC\ kg^{-1}$ ۸۷/۵ در تیمار $kg.ha^{-1}$ ۶۰ محیط کشت نشده متغیر بود (شکل ۲). نکته حائز اهمیت این است که در این مرحله در محیط کشت نشده تیمار $kg.ha^{-1}$ ۳۰ سبب افزایش معنی‌دار این شاخص به میزان ۸۱ درصد نسبت به شاهد گردید، درصورتی‌که تیمار $kg.ha^{-1}$ ۶۰ در همین محیط میزان کربن زیست توده میکروبی را هشت درصد در مقایسه با شاهد کاهش داد (جدول ۲)، ولی این کاهش معنی‌دار نبود. این تغییرات را می‌توان به تغییر در تنوع، فعالیت و جمعیت ریزجانداران موجود در ریزوسفر ناشی از حضور باقیمانده متالاکسیل و متابولیت‌های حاصل از تجزیه آن نسبت داد. در تیمار شاهد خاک بایر میزان این شاخص به‌طور معنی‌دار (حدود ۳۵ درصد) بالاتر از دو تیمار دیگر بود و کربن زیست توده میکروبی در تیمارهای حاوی متالاکسیل با یکدیگر تفاوت چندانی نداشت. شاید این نتایج را بتوان به دلیل عدم حضور گیاه و ریزوسفر که عامل حمایت‌کننده رشد میکروب‌های تجزیه‌کننده متالاکسیل هستند و در نتیجه استمرار اثرات سمی این قارچ‌کش بر میکروب‌های خاک نسبت داد. در این مرحله میزان کربن زیست توده میکروبی در محیط تحت کاشت ذرت ۵۶ درصد بیشتر از محیط کشت نشده بود که این امر نشان از حضور و فعالیت بیشتر ریزجانداران در محیط ریزوسفر خاک می‌باشد.

این نتایج نشان‌دهنده این مطلب است که تأثیر مصرف متالاکسیل بر کربن زیست توده میکروبی می‌تواند کاهش و یا افزایش این شاخص را سبب گردد که بستگی به میزان مصرف، نوع محیط و زمان سپری شده پس از مصرف دارد. مطالعه سوکول (Sukul, 2006) نیز نشان داد که مصرف متالاکسیل در خاک پس از ۶۰ روز سبب کاهش میزان کربن زیست‌توده میکروبی شد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس (آماره F) اثر قارچ‌کش متالاکسیل بر کربن (MBC) و نیتروژن (MBN) بر زیست توده میکروبی، نسبت آنها (MBC/MBN) و نیز ضریب متابولیکی (qCO_2) طی دو مرحله زمانی (مرحله اول ۳۰ و مرحله دوم ۹۰ روز پس از آزمایش)

Table 2- Results of ANOVA (F values) for the effect of metalaxyl on MBC, MBN, MBC/MBN and qCO_2 at two intervals (at 30 and 90 days after the onset of experiment)

منابع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	کربن زیست توده میکروبی MBC[1]		نیتروژن زیست توده میکروبی MBN[2]		MBC/MBN		ضریب متابولیکی qCO_2	
		مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage
نوع محیط Environment type	1	4.85 $^{n.s}$	64.2 *	22.2*	225**	7.30 $^{n.s}$	15.5 $^{n.s}$	81.0 *	3.92 $^{n.s}$
سطح سم Rate of metalaxyl	2	4.45 **	115 ***	27.3**	61.9 **	22.3**	85.3 ***	56.7**	3.02 $^{n.s}$
محیط×سطح سم Environment×rate of metalaxyl	2	10.2 *	193 ***	103***	125***	56.3 **	47.1**	61.0**	29.1**

n.s، * ، ** و ***: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ ،۱ و ۰/۱ درصد

ns, *, ** and ***: are non significant and significant at 5, 1 and 0.1 %, respectively.

1- Microbial Biomass of Carbon

2- Microbial Biomass of Nitrogen

ال- قمری و همکاران (EL-Ghamry et al., 2000) نشان دادند مصرف متسولفورون- متیل کربن زیست توده میکروبی را هفت روز پس از مصرف کاهش داد. همچنین، وانگ و همکاران (Wang et al., 2009) گزارش کردند که مصرف درازمدت قارچ-کش‌های حاوی مس کربن زیست توده میکروبی را در مقایسه با شاهد کاهش داد.

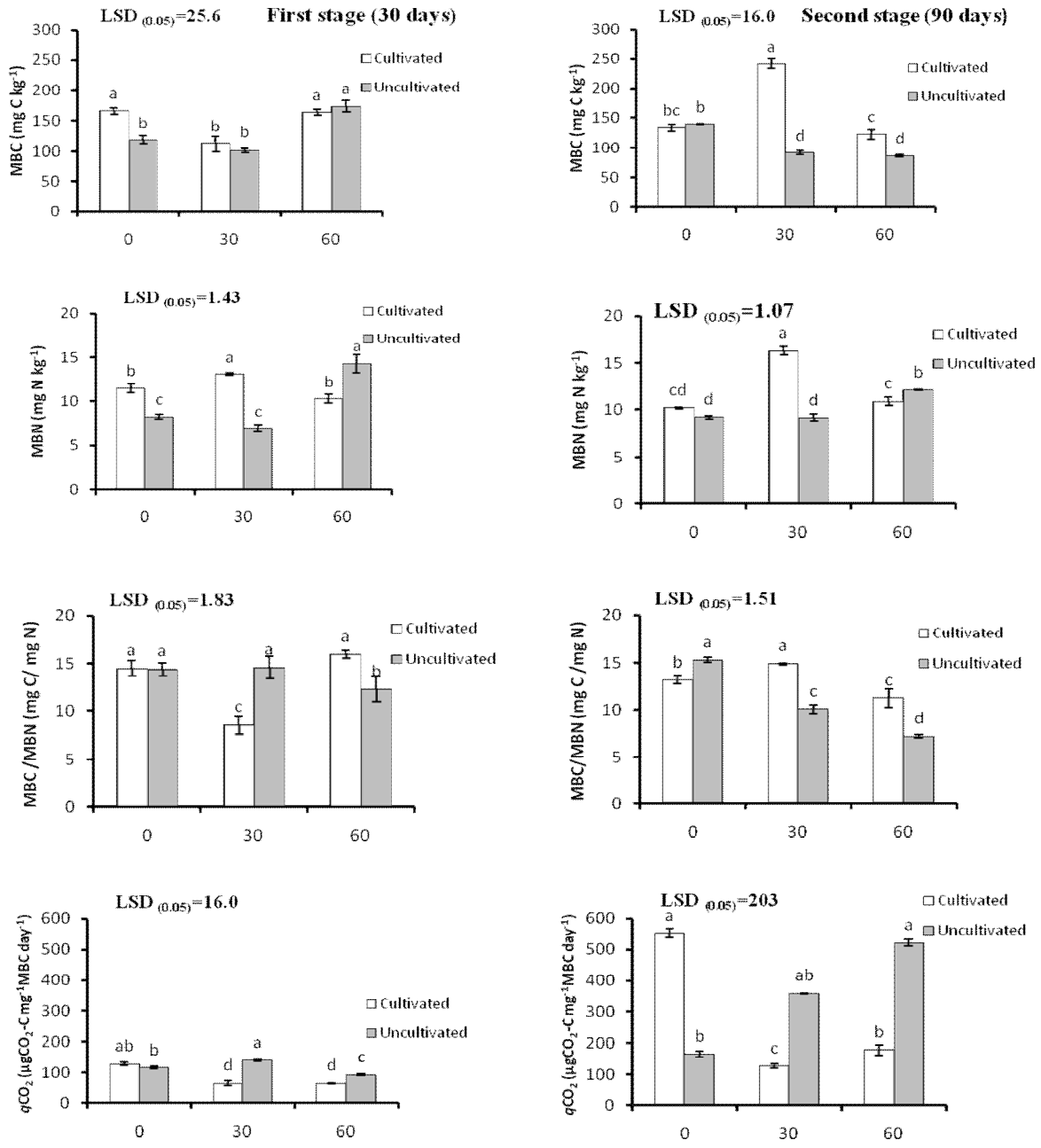
۲- نیتروژن زیست توده میکروبی (MBN)

از جمله شاخص های حساس به حضور آلاینده‌ها و سموم دفع آفات نیتروژن زیست توده میکروبی است (Kujur & Patel, 2012). که در ۳۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش اندازه‌گیری گردید. همان-طورکه در جدول ۱ مشاهده می‌شود در مرحله اول اثر نوع محیط ($p\leq۰/۰۵$)، سطح سم ($p\leq۰/۰۱$) و اثرات متقابل آنها ($p\leq۰/۰۰۱$) بر نیتروژن زیست‌توده میکروبی معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) نشان داد که در محیط کشت شده سطح ۳۰ $kg.ha^{-1}$ متالاکسیل سبب افزایش ۱۵ درصدی نیتروژن زیست توده میکروبی گردیده است، درصورتی‌که سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ منجر به کاهش ۱۰ درصدی این شاخص نسبت به شاهد شد (جدول ۲). از این نتایج می-توان چنین استنباط کرد که در سطح ۳۰ $kg.ha^{-1}$ جمعیت و فعالیت ریزجانداران ریزوسفر به گونه‌ای تغییر یافته است که نیتروژن بیشتر صرف تشکیل زیست توده میکروبی شده و کمتر معدنی گردیده است، درحالی‌که در سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ فرآیند معدنی شدن بیشتر رخ داده است. برعکس در محیط کشت نشده تیمار ۳۰ $kg.ha^{-1}$ نیتروژن توده زنده میکروبی را ۱۵ درصد کاهش داده است که شاید به دلیل اثر سوء این سم بر جمعیت ریزجانداران خاک، توده زنده میکروبی کاهش یافته است؛ درحالی که سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ این شاخص را ۷۳ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. احتمالاً علت این افزایش در این سطح متالاکسیل مرگ و میر بیشتر قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها (با درصد نیتروژن کمتر) نسبت به باکتری‌ها (با درصد نیتروژن بیشتر) باشد که باعث شده است نیتروژن زیست توده میکروبی نسبت به شاهد افزایش یابد. میزان این شاخص در محیط کشت ۱۸ درصد بیشتر از محیط کشت نشده است که این نتیجه با توجه به حضور ریشه‌ها و ترشحات آن به عنوان منبع تغذیه میکروب‌ها دور از انتظار نیست. مطالعه مارتینز- تولدو و همکاران (Martinez-Toledo et al., 1998) نشان داد که مصرف قارچ کش کاپتان ۳۰ روز پس از مصرف به‌طور معنی-دار جمعیت قارچ‌های خاک را کاهش داد، در حالی‌که میزان باکتری-های خاک افزایش یافت که علت آن را به اثر سمی قارچ‌کش بر جامعه قارچی خاک و نیز اثر تغذیه‌ای آن به‌عنوان منبع کربن برای باکتری‌های خاک نسبت داده اند.

در مرحله دوم نیز اثر نوع محیط و سطح سم متالاکسیل ($p\leq۰/۰۱$) و اثر متقابل محیط و سطح سم ($p\leq۰/۰۰۱$) بر نیتروژن زیست توده میکروبی معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۲) نشان داد که میزان نیتروژن زیست توده میکروبی در تیمار ۳۰ $kg.ha^{-1}$ محیط کشت حدود ۶۰ درصد در مقایسه با شاهد بیشتر بود که این امر ممکن است به دلیل افزایش نسبت باکتری‌ها به قارچ‌های ریزوسفر در مقایسه با شاهد و نیز کاهش معدنی شدن نیتروژن به دلیل اثر منفی این قارچ‌کش بر ریزجانداران مؤثر بر معدنی شدن نیتروژن باشد. درحالی‌که در سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ مقدار نیتروژن زیست توده میکروبی تنها هفت درصد بیشتر از شاهد بود که این نتایج ناشی از واکنش متفاوت ریزجانداران مختلف خاک به حضور باقی‌مانده این قارچ‌کش و متابولیت‌های آن در خاک می‌باشد که برآیند آن موجب شده است تا در محیط کشت نشده میزان نیتروژن زیست‌توده میکروبی در تیمار ۳۰ $kg.ha^{-1}$ با تیمار شاهد تفاوتی نداشته باشد. در-صورتی‌که همین شاخص در تیمار ۶۰ $kg.ha^{-1}$ متالاکسیل ۳۲ درصد در مقایسه با شاهد بیشتر بود (جدول ۲) که این موضوع احتمالاً ناشی از تأثیر مثبت عناصر غذایی موجود در بقایای متالاکسیل و متابولیت-های حاصل از تجزیه آن (کربن و نیتروژن) بر جمعیت و فعالیت باکتری‌های خاک می‌باشد. چنانچه ملاحظه می‌شود در این مرحله به-طورکلی در تیمارهای حاوی متالاکسیل افزایش نیتروژن زیست توده میکروبی نسبت به شاهد دیده می‌شود. شاید وجود نیتروژن در ترکیب این قارچ‌کش و نیز اثر کمتر آن بر جمعیت باکتریایی خاک با نسبت کربن به نیتروژن پایین‌تر دلیل این افزایش باشد. مشابه مرحله اول میزان این شاخص در محیط کشت حدود ۲۱ درصد بیشتر از محیط کشت نشده بود. مونکیجه و همکاران (Monkiedjea et al., 2007) مشاهده کردند که نیتروژن زیست‌توده میکروبی در خاک‌هایی که در آنها قارچ‌کش مصرف شده بود کمتر از خاک شاهد بود. چن و همکاران (Chen et al., 2001) نیز نشان دادند که میزان نیتروژن زیست‌توده میکروبی در خاک‌های تیمار شده با قارچ‌کش‌های بنومیل، کلروتانولیل و کاپتان کمتر از خاک شاهد بود.

نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی (MBC/MBN)

یکی دیگر از شاخص‌هایی که برای ارزیابی تأثیر آفت‌کش‌ها بر فعالیت ریزجانداران استفاده می‌شود، نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی است (Kujur & Patel, 2012). تغییر این نسبت دلیل واضحی بر تغییر میزان جمعیت میکروبی خاک و نیز شاخص خوبی از تغییر ساختار جامعه میکروبی خاک می‌باشد (Khan & Huang, 1998).



شکل ۲- اثر سطوح قارچ‌کش متالاکسیل بر کربن (MBC) و نیتروژن (MBN) زیست توده میکروبی، MBC/MBN و ضریب متابولیکی (qCO_2) در خاک‌های تحت کشت ذرت و بدون کشت طی دو مرحله (۳۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش)

اعداد میانگین سه بلوک (n=۳) هستند و خطوط عمودی روی ستون‌ها مقادیر انحراف استاندارد را نشان می‌دهند. میانگین‌ها دارای حروف مشترک در هر شکل، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Fig. 2- Effects of different levels of metalaxyl on MBC, MBN, MBC/MBN and qCO_2 in soils cultivated with corn and uncultivated at two intervals (at 30 and 90 days after the onset of experiment).

Values are means (n=3) and vertical lines are standard deviations. Mean values followed by the same letters are not significantly different at p<0.05 (Fisher's LSD test)

جدول ۳- اثر بازدارندگی قارچ کش متالاکسیل بر کربن و نیتروژن زیست توده میکروبی و نسبت کربن به نیتروژن زیست توده میکروبی و نیز ضریب متابولیکی در خاک های تحت کشت ذرت و بدون کشت طی دو مرحله (مرحله اول ۳۰ و مرحله دوم ۹۰ روز پس از آزمایش)

Table 3- The inhibition effect of metalaxyl fungicide (in percent) on MBC, MBN, MBC/MBN and qCO_2 in soils cultivated with corn and uncultivated at two intervals (at 30 and 90 days after the onset of experiment)

نوع محیط Environment type	سطح متالاکسیل ($kg.ha^{-1}$) Metalaxyl levels ($kg.ha^{-1}$)	کربن زیست توده میکروبی MBC		نیتروژن زیست توده میکروبی MBN		MBC/MBN		ضریب متابولیکی qCO_2	
		مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage	مرحله اول First stage	مرحله دوم Second stage
کاشته شده	30	+32	-81	-15	-60	+41	-13	+48	+77
Cultivated	60	+1	+8	+10	-7	-10	+15	+48	+68
عدم کشت	30	+14	+34	+16	+1	-2	+34	-21	-115
Uncultivated	60	-47	+38	-73	-32	+15	+53	+20	-214

*اعداد مثبت درصد بازدارندگی و اعداد منفی درصد تحریک کنندگی را نشان می‌دهند.

* Positive and negative numbers show the inhibition and stimulation percentage, respectively.

(اعداد به صورت درصد می باشند).

(Numbers are percentage).

به‌طورکلی، نسبت کربن به نیتروژن سلول‌های قارچی به‌طور متوسط حدود ۱۰ می‌باشد، درحالی‌که نسبت کربن به نیتروژن توده زنده باکتری‌ها حدود چهار می‌باشد (Paul & Clark, 1996; Six et al. 2006). این شاخص نیز برای مراحل نمونه‌برداری ۳۰ و ۹۰ روز آزمایش محاسبه شده است (شکل ۲). نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان می‌دهد که در هر دو مرحله اثر نوع محیط بر این شاخص غیر معنی‌دار است، ولی اثرات سطح سم و نیز اثر متقابل محیط × سطح سم معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بودند. بدین معنا که بین سطوح مختلف سم در محیط کشت شده و کشت نشده تفاوت معنی‌دار وجود داشت. غیر معنی‌دار بودن اثر محیط شاید به این دلیل باشد که تغییر ترکیب جمعیت ریزجانداران در هر دو محیط بر اثر کاربرد این قارچ‌کش به گونه‌ای بوده که برآیند آن تغییری در این شاخص ایجاد نکرده است.

مقایسه میانگین‌های این شاخص که در شکل ۲ ارائه شده است، نشان داد که در مرحله اول در محیط کشت ذرت میزان کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی در سطح $۳۰ kg.ha^{-1}$ نسبت به شاهد به‌طور معنی‌دار (۴۱ درصد) کاهش یافته است، درحالی‌که افزایش این شاخص در سطح $۶۰ kg.ha^{-1}$ معنی‌دار نبود، اما در محیط کشت نشده سطح $۳۰ kg.ha^{-1}$ تأثیری بر این شاخص نداشت، درصورتی‌که در سطح $۶۰ kg.ha^{-1}$ میزان این شاخص ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت که علت این کاهش از بین رفتن بخشی از قارچ‌ها و اکتینومیست‌های خاکزی بر اثر مصرف این قارچ‌کش بود، در نتیجه جمعیت باکتری‌ها که نسبت C/N پایین‌تری دارد افزایش و به دنبال آن این شاخص کاهش یافت.

در مرحله دوم در کشت ذرت این شاخص در سطح $۳۰ kg.ha^{-1}$ متالاکسیل ۱۳ درصد افزایش و در تیمار $۶۰ kg.ha^{-1}$ حدود ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۲). در این مرحله بخش زیادی از متالاکسیل در ریزوسفر تجزیه شده است. این تناقضات احتمالاً به دلیل پاسخ متفاوت ریزجانداران مختلف به حضور بقایای این سم در ریزوسفر خاک می‌باشد. در محیط کشت نشده با افزایش سطح سم میزان این شاخص به‌طور معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) کاهش یافت که نشان می‌دهد بخشی از بقایای این سم و متابولیت‌های حاصل از آن در خاک باقی مانده است و تأثیر سوء آن بر قارچ‌ها و اکتینومیست‌ها همچنان ادامه دارد. این نتایج نشان می‌دهد که قارچ‌کش متالاکسیل در مراحل مختلف تجزیه اثرات متفاوتی بر جمعیت ریزجانداران خاکزی به‌خصوص قارچ‌ها دارد و به‌طورکلی کاهش این نسبت بیانگر مرگ و میر بیشتر گونه‌های قارچی در مقایسه با گونه‌های باکتریایی می‌باشد. از طرف دیگر، نتایج پژوهش ال قمری و همکاران (El-Ghamry et al., 2000) نشان داد که مصرف آفت‌کش متسولفورون متیل سبب افزایش موقت نسبت کربن به نیتروژن زیست‌توده میکروبی خاک شد.

۴- ضریب متابولیکی (qCO_2)

ضریب متابولیکی شاخصی است که با استفاده از دی‌اکسیدکربن حاصل از تنفس پایه به‌عنوان میزان انرژی لازم برای بقاء و رشد سلول و کربن زیست‌توده میکروبی به‌عنوان میزان رشد سلولی محاسبه می‌گردد (Suman et al., 2006; Pereira et al., 2008) و هرگاه که منابع کربن و عناصر غذایی خاک متوسط و یا کم باشد مقدار تنفس میکروبی افزایش می‌یابد، چرا که کربن و عناصر غذایی موجود صرف اعمال حیاتی می‌شوند و کمتر صرف تشکیل بافت‌های جدید میکروبی می‌گردند (Suman et al., 2006). خاکی که qCO_2

بالایی دارد نشان‌دهنده شرایط محیطی ناپایدار و یا وضعیت نامناسب خاک می‌باشد (Pereira et al., 2008). مقدار این شاخص با تغییر در نوع سوبسترا، ترکیب جامعه میکروبی و یا تغییر هر دوی آنها و نیز تغییر وضعیت فیزیولوژیک ریزجانداران ناشی از تغییر نیازهای اساسی آنها در خاک تغییر می‌یابد (Suman et al., 2006)، لذا شاخصی مناسب برای بررسی وضعیت زیستی خاک ناشی از ورود آلاینده ها می‌باشد.

علاوه بر این افزایش qCO_2 نشان‌دهنده کاهش راندمان جذب کربن توسط میکروب‌ها، افزایش فراوانی جمعیت میکروب‌های زایموژن (استراتژی r)، تغییر نسبت یا ترکیب جمعیت باکتری‌ها به قارچ‌ها، کاهش زیست فراهمی کربن، اتلاف کربن به صورت CO_2، خروج آن از خاک و فراوانی ترکیبات (کربن) سهل‌الوصول می‌باشد (Dilly, 2005; Suman et al., 2006; Pereira et al., 2008). به عنوان مثال، هنگامی‌که جمعیت باکتری‌های خاک افزایش یابد، راندمان جذب کربن کاهش و در نتیجه کربن بیشتری صرف تولید انرژی از طریق تبدیل کربن آلی به CO_2 برای زیست توده میکروبی می‌گردد که مسلماً افزایش qCO_2 را به همراه دارد (Dilly, 2005).

در این تحقیق ضریب متابولیکی طی دو مرحله آزمایش محاسبه گردید. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که در مرحله اول نمونه‌برداری (روز ۳۰) اثر نوع محیط بر ضریب متابولیکی معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۵$) بود. سطح سم متالاکسیل اثر معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بر ضریب متابولیکی داشت و اثر متقابل محیط و سطح سم نیز بر این ویژگی معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود. مقایسه میانگین‌های این شاخص (شکل ۲) نشان داد که در کلیه تیمارها میزان qCO_2 در مرحله دوم بزرگتر از مرحله اول بود که این مطلب احتمالاً نشان می‌دهد با گذشت زمان شرایط برای ریزجانداران خاکزی نامساعدتر شده و تنش ناشی از تغییر عوامل محیطی در این مرحله برای میکروفلور خاک نسبت به ۳۰ روز افزایش یافته است. مقایسه ضریب متابولیکی (شکل ۲) در دو محیط حاکی از آن است که در مرحله اول میزان آن در محیط کشت نشده به‌طور معنی دار بیشتر از محیط کشت شده بود و در مرحله دوم نمونه‌برداری با این‌که در محیط کشت نشده باز هم این شاخص بیشتر است، اما تفاوت آن با محیط کشت شده معنی‌دار نبود که پائین‌تر بودن این شاخص در محیط کشت شده به دلیل وجود ترشحات ریشه به‌عنوان منبع تغذیه ای برای ریزجانداران است و در ریزوسفر به دلیل وجود شرایط مساعدتر فعالیت ریزجانداران بیشتر و شرایط تنش‌زا نیز کمتر وجود دارد.

مقایسه میانگین سطوح سم در مرحله اول (شکل ۲) نشان‌دهنده این موضوع است که در محیط کاشت ذرت میزان این شاخص در تیمار شاهد ۴۸ درصد بیشتر از دو تیمار دیگر بود. درصورتی‌که در محیط کشت نشده qCO_2 در سطح ۳۰ $kg.ha^{-1}$ در مقایسه با شاهد ۲۱ درصد بیشتر و در سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ حدود ۲۰ درصد کمتر است که اثرات سمی قارچ‌کش متالاکسیل در سطح ۳۰ $kg.ha^{-1}$ و تأثیرات مثبت سطح ۶۰ $kg.ha^{-1}$ را بر فعالیت ریزجانداران تأیید می‌کند (جدول ۲). در این مرحله qCO_2 در محیط کشت نشده حدود ۳۴ درصد بیشتر از محیط کشت شده بود.

در مرحله دوم نمونه‌برداری طبق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) مشخص شد که تنها اثر متقابل محیط × سطح سم بر این شاخص معنی‌دار ($p\leq ۰/۰۱$) بود و نوع محیط و سطح سم به تنهایی اثر معنی‌دار بر این شاخص نداشته‌اند. مقایسه میانگین سطوح سم (شکل ۲) نشان می‌دهد که در محیط کشت شده بیشترین میزان این شاخص مربوط به تیمار شاهد است که احتمالاً ناشی از ایجاد تنش موقتی در این تیمار بر اثر عاملی غیر از قارچ‌کش می‌باشد؛ در حالی که در محیط کشت نشده تیمار ۶۰ $kg.ha^{-1}$ بالاترین qCO_2 را نشان داد. در این مرحله احتمالاً متابولیت‌های ناشی از تجزیه متالاکسیل سبب بروز سمیت برای ریزجانداران شده‌اند. اگر چه تأثیر محیط بر این شاخص در این مرحله معنی‌دار نبود، ولی با این حال qCO_2 در محیط کشت شده حدود ۲۲ درصد کمتر از محیط کشت نشده بود (جدول ۲). در یک تحقیق ۱۸۰ روزه آزمایشگاهی ویسچتی و همکاران (Vischetti et al., 2008) تأثیر سموم متالاکسیل (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و کلرپریفوس (۱۰ و ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم) را به طور جداگانه و مخلوط بر qCO_2 بررسی کردند. نتایج نشان داد در ابتدا این شاخص افزایش یافت که در پاسخ ریزجانداران به تنش به وجود آمده در محیط ایجاد شد، اما با گذشت ۲۰ روز در تیمارهای جداگانه مصرف این سموم و پس از ۴۰ روز در تیمارهای مخلوط این دو آفت‌کش ضریب متابولیکی به مقدار ثابتی رسید. جونز و آنانیوا (Joens & Ananyeva, 2001) نشان دادند افزودن متالاکسیل میزان qCO_2 را افزایش داد، درصورتی‌که مصرف پروپاکلر تأثیری بر این شاخص نداشت.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که زیست‌توده میکروبی خاک در محیط کشت شده بیش از محیط کشت نشده بود، درحالی‌که ضریب متابولیک میکروبی در محیط کشت شده با ذرت کمتر از محیط کشت نشده بود که نشان می‌دهد حضور گیاه تا اندازه ای از اثرات زیان‌بار این قارچ‌کش می‌کاهد. همچنین در این تحقیق مشخص شد قارچ متالاکسیل هم اثر بازدارندگی و هم اثر تحریک کنندگی بر زیست‌توده میکروبی خاک دارد که در واقع میزان مصرف آن، مدت زمان ماندگاری آن در خاک پس از مصرف، و وجود و یا عدم وجود گیاه این اثرات را مشخص می نمایند. با این حال، برای پی بردن دقیق‌تر به اثر این قارچ‌کش بر میکروب های خاک و انجام هر گونه توصیه برای مصرف یا عدم مصرف آن، سایر آزمایش‌های تکمیلی مانند اثر

متالاکسیل بر فعالیت آنزیم‌های خاک، تنوع میکروبی خاک، سرعت واکنش‌های متابولیکی و بیوشیمیایی خاک و مهمتر اینکه تکرار آنها برای سایر خاک‌ها و گیاهان الزامی است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه شهرکرد برای اجرای این تحقیق قدردانی و سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Anderson, T.H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. Agriculture, Ecosystems and Environment 98: 285–293.
2. Bottomley, P.J. 1994. Microbial Biomass. In: R.W.W. Chair, S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdick, S. Smith, M.A. Tabatabai, and A. Wollum (Eds). Method of Soil Analysis, Part 2. Soil Science Society of America p. 753–773.
3. Broos, K., Macdonald, L.M., Warne M.St.J., Heemsbergen, D.A., Barnes, M.B., Bell, M., and McLaug, M.J. 2007. Limitations of soil microbial biomass carbon as an indicator of soil pollution in the field. Soil Biology and Biochemistry 39: 2693–2695.
4. Chen, S.K., Edwards, C.A., 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 33:1971-1980.
5. Dilly, O. 2005. Microbial energetic in soils. In: F. Buscot, and A. Varma (Eds). Microorganisms in soils: roles in genesis and functions, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany p. 125–138.
6. Eisenhauer, N., Klier, M., Partsch, S., Sabais, A.C.W., Scherber, Ch., Weisser, W.W., and Scheu, S. 2009. No interactive effects of pesticides and plant diversity on soil microbial biomass and respiration. Applied Soil Ecology 42: 31-36.
7. EL-Ghamry, A.M., Xu, J., and Xie, Z. 2000. Changes in soil biological properties with the addition of metsulfuron-methyl herbicide. Journal of Zhejiang University Science 1:442–447.
8. Erfan Manesh, M., and Afyouni, M. 2002. Pollution of environment, water and air (2nd Ed). Arkan Publications, Isfahan, Isfahan, Iran. (In Persian)
9. Hart, M.R., and Brookes, P.C. 1999. Soil microbial biomass and mineralization of soil organic matter after 19 years of cumulative field applications of pesticides. Soil Biology and Biochemistry 28: 1641–1649.
10. Jenkinson, D.S., and Powlson, D.S. 1976. The effect of biocidal treatments on metabolism in soil fumigation with chloroform. Soil Biology and Biochemistry 8: 167–177.
11. Jenkinson, D.S., and Ladd, J.N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In: E.A. Paul, and J.N. Ladd (Eds). Soil Biochemistry, Volume 5. Marcel Dekker, New York, p. 415–471.
12. Jones, W.J., and Ananyeva, N.D. 2001. Correlations between pesticide transformation rate and microbial respiration activity in soil of different ecosystems. Biology and Fertility of Soils 33: 477–483.
13. Khan, K.S., and Huang, C. 1998. Effect of lead-zinc interaction on size of microbial biomass in red soil. Pedosphere 8: 143–148.
14. Kujur, M., and Patel, A.K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorous in dry tropical ecosystem. International Journal of Environmental Sciences 3: 2272–2284.
15. Landi, L., Renella, G., Moreno, J.L., Flachini, L., and Nannipieri, P. 2000. Influence of cadmium on the metabolic quotient, L: D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity; microbial biomass ratio under laboratory conditions. Biology and Fertility of Soils 32: 8–16.
16. Locke, M.A., and Zablotowicz, R.M. 2004. Pesticides in soil – benefits and limitations to soil health. In: P. Schjonning, S. ELmholt, and B.T. Christensen (Eds.). Managing soil quality: challenges in modern agriculture. Chapter 14. CAB international, Wallingford, England, p. 239-260.
17. Mansourzadeh, M., and Raiesi F. 2012. The effect of Eradican (EPTC) on microbial biomass C and N, and urease and arylsulphatase activities in a calcareous soil under field conditions. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science 59:153–167. (In Persian with English Summary)
18. Martinez-Toledo, M.V., Salmeron, V., Rodelas, B., Pozo, C., and Gonzalez-Lopez, J. 1998. Effects of the fungicide Captan on some functional groups of soil microflora. Applied Soil Ecology 7: 245-255.
19. Monkiedje, A., and Spiteller, M. 2005. Degredation of metalaxyl and mefenoxam and effects on the microbiological properties of tropical and temperate soils. Environmental Research and Public Health 2: 272–285.
20. Monkiedje, A. Spiteller, M., Saurelle, N.M., and Sukul, P. 2007. Influence of metalaxyl and mefenoxam based fungicides on chemical and biochemical attributes of soil quality under field conditions in a southern humid forest zone of Cameroon. Soil Biology and Biochemistry 39: 836–842.
21. Paul, E.A., and Clark, F.E. 1996. Soil microbiology and biochemistry, Academic Press, San Diego, California, USA.

22. Pedersen, T.L. 1988. Elements of toxicology and chemical risk assessment, a handbook for nonscientists, attorneys and decision makers (2nd ed). Environmental Corporation, Washington DC, USA.
23. Pereira, J.L., Picanco, M.C., Silva, A.A., Santos, E.A., Tome, H.V.V., and Olarte, J.B. 2008. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. Planta Daninha 26: 56–62.
24. Perie, C., and Munson, A.D. 2000. Ten-year responses of soil quality and conifer growth to silvicultural treatments. Soil Science and Society of America Journal 64: 1815–1826.
25. Raiesi, F. 2004. Soil properties and N application effects on microbial activities in two winter wheat cropping systems. Biology and Fertility of Soils 40: 88–92.
26. Rakhshani, A. 2002. The principles of agricultural toxicology (1st Ed). Farhange Jame Publications, Tehran, Iran. (In Persian)
27. Roger, P.A., Simpson, I., Oficialc, R., Ardales, S., and Jimenez, R. 1994. Effects of pesticides on soil and water microflora and mesofauna in wetland rice fields: a summary of current knowledge and extrapolation to temperate environments. Australian Journal of Experimental Agriculture 34: 1057-1068.
28. Six, J., Freyb, S.D., Thietb, R.K., and Batten, K.M. 2006. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. Soil Science and Society of American Journal 70:555–569.
29. Sukul, P. 2006. Enzymatic activities and microbial biomass in soil as influenced by metalaxyl residues. Soil Biology and Biochemistry 38: 320–326.
30. Suman, A., Lal, M., Singh, A.K., and Gaur, A. 2006. Microbial biomass turnover in Indian subtropical soils under different sugarcane intercropping systems. Agronomy Journal 98: 698–704.
31. Vischetti, C., Monaci, E., Cardinali, A., Casucci, C., and Perucci, P. 2008. The effect of initial concentration, co-application and repeated applications on pesticide degradation in a biobed mixture. Chemosphere 72: 1739–1743.
32. Wang, Q., Zhou, D., and Cang, L. 2009. Microbial and enzyme properties of apple orchard soil as affected by long-term application of copper fungicide. Soil Biology and Biochemistry 41: 1504–1509.