



باقی مانده آفتکش‌ها در خاک‌های شالیزار و اثرات آنها بر جمعیت‌های باکتریایی و ژن‌های چرخه عناصر غذایی در خاک

احسان ترابی^{۱*}، محمدجواد قمری^۲، سید علی ابراهیمی^۳، احمدعلی پوربابایی^۴، خلیل طالبی جهرمی^۵

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران؛ * پست الکترونیکی نویسنده مسئول

مقاله eh_torabi@ut.ac.ir

۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۵- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

چکیده

کاربرد مکرر آفت‌کش‌ها یک عمل کلیدی در کشاورزی است، اما پیامدهای ساختاری و عملکردی بلندمدت آن بر جوامع میکروبی خاک هنوز به طور کافی بررسی نشده است. در این پژوهش اثرات ویژگی‌های زیستگاه (HP) (وضعیت ترکیبی فیزیوشیمیایی و اکولوژیکی خاک)، تنش زمانی (TS) (کاربردهای مکرر) و ویژگی‌های تنش‌زای شیمیایی (CSP) (نوع و غلظت آفت‌کش) را بر کنتیک تجزیه آفت‌کش‌ها ارزیابی شد. برای درک تغییرات جوامع میکروبی خاک، از توالی‌یابی کمی ۱۶S، تجزیه و تحلیل ژن عملکردی پیش‌بینی‌شده (پروفایل‌های KO) استفاده شد. نتایج نشان دادند که TS باعث ایجاد دوگانگی ساختاری در جوامع میکروبی خاک می‌شود. در خاک غنی از کربن آلی (OC)، TS باعث تقویت ساختاری می‌شود که با غنی‌سازی انتخابی ژن‌های عمومی مقاوم به تنش و افزودنی عملکردی فرضی مشخص می‌شود. با این حال، این استحکام ظاهری، هزینه پیش‌بینی‌شده‌ای را برای پتانسیل ژنتیکی چرخه N متحمل شد. برعکس، خاک محدود به کربن آلی، دچار فروپاشی ساختاری گسترده جوامع میکروبی و کاهش گسترده ژن‌های چرخه عناصر غذایی شد پراکندگی در این سیستم شکننده به چند گونه بومی باکتریایی و بسیار تخصصی متکی بود که تخصص‌زدایی جدا شده را نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: آفت‌کش، باکتری، تجزیه چرخه نیتروژن، ماده آلی خاک

کلیدی باید با ویرگول، از هم جدا شوند و در یک خط باشند.

مقدمه

حشره کش فیپرونیل و علف کش تیوبنکارب به طور گسترده در شالیزارها برای کنترل کرم ساقه خوار برنج و علف های هرز استفاده می شوند. با توجه به رواناب و آبشویی آب شالیزار به منابع سطحی و زیرزمینی، استفاده مداوم از این مواد شیمیایی کشاورزی می تواند خطری برای سلامت محیط زیست باشد. بنابراین، ارائه راه حل هایی برای زیست پالایی این مواد شیمیایی کشاورزی و ارزیابی اثرات آنها بر جمعیت های میکروبی خاک ضروری است. در این تحقیق، هدف ما مطالعه باقی مانده، تجزیه و ساختار میکروبیوتا در خاک های شالیزاری تیمار شده با آفت کش ها با استفاده از فناوری های ترکیبی اومیکس سه گانه برای بررسی کاربرد بالقوه بیشتر آنها در زیست پالایی این مواد شیمیایی کشاورزی است.

مواد و روش ها

الف- نمونه برداری

برای بررسی بقایای آفت کش ها، نمونه ها از ۲۰ شالیزار در استان های مازندران و گیلان، ایران، در طول فصل کشت برنج در آگوست ۲۰۲۴ جمع آوری شدند.

ب- طراحی واحدهای آزمایشی

واحدهای آزمایشی با استفاده از ۱۵۰ گرم خاک شالیزار خشک شده در هوا که در ویال های شیشه ای ۳۰۰ میلی لیتری قرار داده شده بودند، ایجاد شدند. برای ایجاد شرایط دارای اکسیژن، ویال ها با درپوش های PTFE مجهز به سوزنی متصل به فیلتر با اندازه منافذ ۰/۲۲ میکرومتر پوشانده شدند (ترابی و همکاران، ۲۰۲۰). سه سری مجزا از تیمارهای خاک انجام شد: (۱) خاک های زیستی (تجزیه آفت کش ها): خاک های غیر اتوکلاو شده (زیستی) با آفت کش های هدف تیمار. (۲) خاک های غیر زیستی (شاهد): خاک های اتوکلاو شده (غیر زیستی) با همان آفت کش ها تیمار شدند. (۳) نمونه های کنترل بدون تیمار آفت کش: خاک های غیر اتوکلاو شده فقط با آب مقطر استریل اصلاح شدند. از یک طرح فاکتوریل برای بررسی تأثیر نوع خاک (آمل و نکا)، نوع آفت کش (فیپرونیل و تیوبنکارب)، رطوبت خاک (۲۰٪ و ۱۰۰ درصد (وزنی/حجمی)) و غلظت آفت کش (۱۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر گرم خاک خشک) بر تجزیه آفت کش ها و جوامع میکروبی استفاده شد. در مجموع ۱۰۸ نمونه کوچک تهیه شد. برای بررسی تأثیر کاربرد مکرر آفت کش ها بر الگوهای پراکندگی آفت کش ها و جوامع میکروبی، زیرمجموعه ای از واحدهای آزمایشی تحت تیمارهای آفت کش بعدی قرار گرفتند. پس از ۹۰ روز انکوباسیون اولیه، این نمونه ها برای بار دوم با همان آفت کش ها و غلظت های کاربرد اولیه تیمار شدند. پس از ۱۸۰ روز انکوباسیون، تیمار سوم آفت کش بر روی همان زیرمجموعه از واحدهای آزمایشی اعمال شد (شکل ۱).

پ- توالی یابی و تجزیه و تحلیل متانومیک

DNA ژنومی کل با استفاده از کیت MagBeads FastDNA™ (MP Biomedicals) از نمونه های خاک شالیزار استخراج شد.

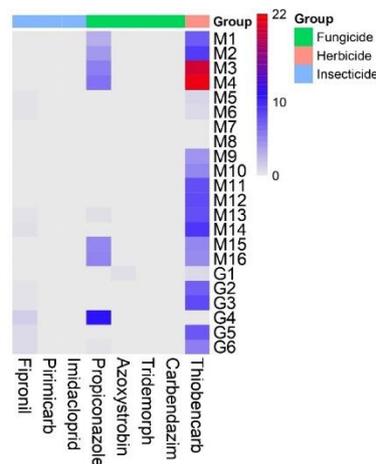
توالی یابی متانومیک توسط شرکت Allwegene بر روی پلتفرم Illumina NovaSeq انجام شد

ت- استخراج و اندازه گیری باقی مانده آفت کش ها

استخراج آفت کش ها از بافت گیاه توسط روش کچرز انجام شد. به منظور اندازه گیری باقی مانده آفت کش ها در نمونه های خاک، از Agilent 6410 UHPLC-MS/MS استفاده شد. جداسازی کروماتوگرافی با استفاده از یک Agilent 1200 UHPLC مجهز به ستون Zorbax Eclipse SB-C₁₈ (۰/۳ × ۰/۵ میلی متر، اندازه ذرات ۱/۸ میکرومتر) انجام شد. فاز متحرک شامل مخلوط گرادیانی از MeCN و آب، حاوی ۰/۱ درصد اسید فرمیک بود.

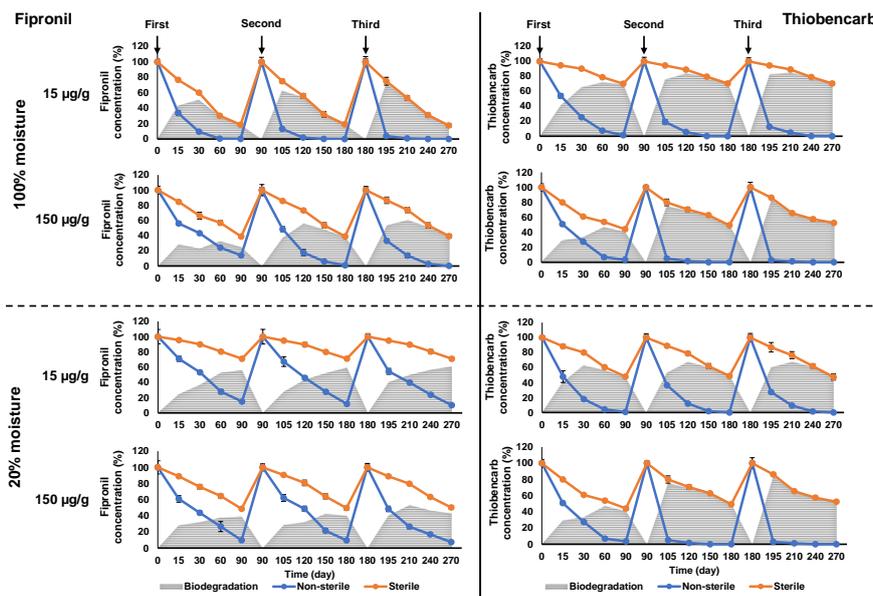
نتایج و بحث

تجزیه و تحلیل چند باقیمانده ای از ۲۲ نمونه خاک از شالیزارهای استان های مازندران و گیلان، بقایای ۱ علف کش (تیوبنکارب)، ۴ قارچ کش (کاربندازیم، تری دمورف، آزوکسی استروبین و پروپیکونازول) و سه حشره کش (ایمیداکلوپرید، پیریمیکارب و فیپرونیل) را در شالیزارها نشان داد (شکل ۱). بیشترین باقیمانده متعلق به علف کش تیوبنکارب بود که عمدتاً در نمونه های جمع آوری شده از قائم شهر مشاهده شد.



شکل ۱- فراوانی بقایای آفت‌کش‌ها در خاک‌های شالیزار شناسایی شده است. میزان آفت‌کش‌ها در نقشه حرارتی نمایش داده شده است. ردیف‌ها نشان‌دهنده مکان‌های نمونه‌برداری و ستون‌ها نشان‌دهنده آفت‌کش‌ها هستند.

یافته‌ها قویاً نشان می‌دهند که تجزیه زیستی میکروبی عامل اصلی تجزیه آفت‌کش‌ها در خاک‌های غیراستریل است و کارایی آن با نوع آفت‌کش، رطوبت خاک، نوع خاک، غلظت آفت‌کش و کاربردهای مکرر تعدیل می‌شود. در مقابل، تجزیه آفت‌کش‌ها در خاک‌های استریل در درجه اول توسط عوامل غیرزیستی مانند هیدرولیز کنترل می‌شود که با افزایش سطح رطوبت تسریع می‌شود. این نتایج بر نیاز به بررسی عمیق جوامع میکروبی خاک و پاسخ آنها به این عوامل برای درک بهتر الگوهای تجزیه آفت‌کش‌ها در خاک تحت شرایط مختلف تأکید می‌کند (شکل ۲).

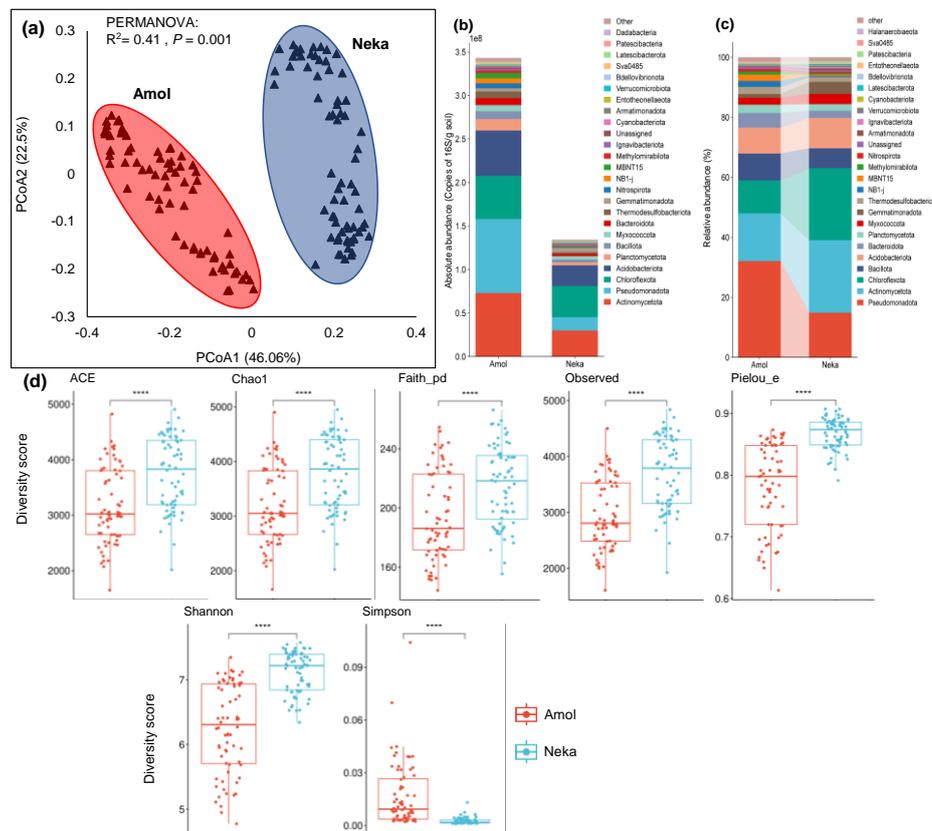


شکل ۲- تأثیر رطوبت خاک (۱۰۰ درصد و ۲۰ درصد حجمی/وزنی) و غلظت اولیه آفت‌کش (۱۵ و ۱۵۰ میکروگرم بر گرم) بر تجزیه فیپرونیل (چپ) و تیوبنکارب (راست) در نمونه‌های میکروسکوپی خاک آمل با استفاده از آفت‌کش‌های زیستی (غیراستریل) و غیرزیستی (استریل).

مقیاس‌بندی چندبعدی غیرمتریک^۱ (NMDS) همراه با آنالیز PERMANOVA نشان داد که نوع خاک عامل اصلی تمایز جوامع باکتریایی است، به طوری که جمعیت‌های مشاهده شده در خاک‌های آمل و نکا تفاوت معنی‌داری داشتند (PERMANOVA, $P = 0.001$) (شکل ۳). به طور کلی، خاک آمل در مقایسه با خاک نکا، فراوانی مطلق بالاتری از جمعیت‌های

¹ = Non-metric Multi-Dimensional Scaling

باکتریایی را نشان داد. این روند به ویژه در ۱۱ شاخه باکتریایی برتر مشهود بود، جایی که ۱۰ شاخه، فراوانی مطلق قابل توجهی بیشتری را در خاک آمل نشان دادند (شکل ۳).

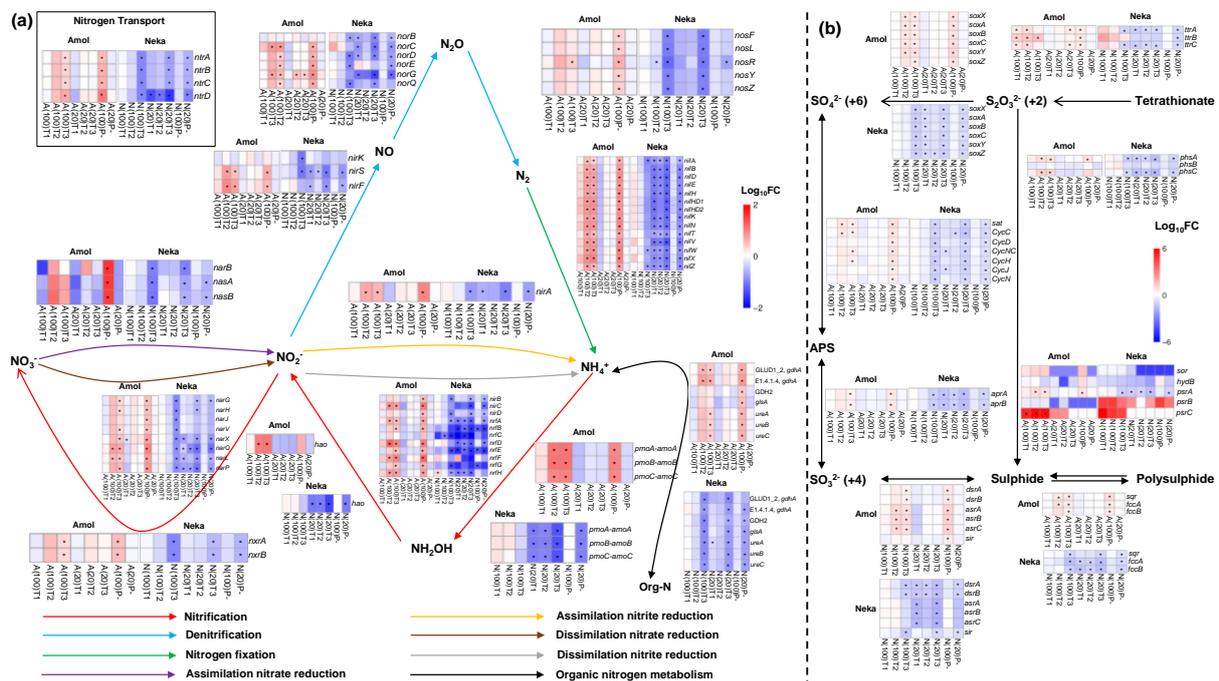


شکل ۳- ترکیب و تنوع جوامع باکتریایی در خاک‌های شالیزاری آمل و نکا. (a) نمودار (NMDS) که نشان‌دهنده جدایی معنی‌دار پروفایل‌های جوامع باکتریایی بین دو نوع خاک است (PERMANOVA, $P = 0.001$). (b) فراوانی مطلق نسبی شاخه‌های باکتریایی برتر در خاک‌های آمل و نکا (c) شاخص‌های تنوع آلفای جمعیت‌های باکتریایی در خاک‌های آمل و نکا.

خاک آمل تحت شرایط بهینه HP، تقویت عملکردی واضحی را نشان داد که منعکس‌کننده نتایج ساختاری است. تیمار A(100)P- به طور مداوم منجر به بیشترین فراوانی برای چرخه N و S در مقایسه با کنترل A0 شد ($P < 0.05$)، که نشان‌دهنده تحریک میکروبی قوی توسط HP به تنهایی است (شکل ۴). تحت کاربرد آفت‌کش‌ها، فراوانی ژن‌های پیش‌بینی شده به طور کلی در T2 و T3 بیشتر بود. و ژن‌های مربوط به نیترات‌زدایی (*nirK-nirF* و *norB-norQ* و *nosF-nosZ*) و تخریب نیتروژن آلی با کاربرد T3 در مقایسه با T2 کاهش یافتند (شکل ۴). برای چرخه S، ژن‌های مرتبط با تبدیل SO_3^{2-} به سولفید (*dsrA-dsrB* و *asrA-asrC*) در A(100)P- افزایش یافتند، در حالی که ژن‌های مرتبط با تبدیل تتراتیونات به $S_2O_3^{2-}$ (*atrA* و *ttrB*) و فراوانی بالای آن را در A(100)T1 نشان دادند (شکل ۴).

در خاک آمل غنی از کربن آلی، تقویت ساختاری با تخصیص مجدد عملکردی همراه بود. در حالی که ظرفیت عملکردی کلی بالا باقی ماند، یک بده‌بستان عملکردی حیاتی مشاهده شد: ظرفیت ژن‌های ضروری برای دنیتریفیکاسیون (چرخه نیتروژن) در کاربرد نهایی T3 در مقایسه با اوج T2 قبلی به طور قابل توجهی کاهش یافت. این کاهش در مخزن ژنتیکی از این فرضیه پشتیبانی می‌کند که منابع متابولیکی ترجیحاً به سمت تخریب زئوبیوتیک لازم برای حفظ سینتیک سریع تحت TS مزمن (T2) و منحرف شده‌اند، که به طور بالقوه منجر به هزینه قابل اندازه‌گیری برای پتانسیل ژنتیکی چرخه نیتروژن سیستم می‌شود (Bech et al., 2023; Yang et al., 2023). در مقابل، خاک نکا که میزان OC محدودتری داشت، با هزینه متابولیکی بیشتری مواجه شد و کاهش عملکردی گسترده‌ای را نشان داد. این امر با کاهش قابل توجه در فراوانی مطلق ژن‌های پیش‌بینی شده KO مربوط به چرخه N و S در تیمارهای مکرر، مشهود بود. این یافته، مهار در سطح جامعه و فروپاشی ساختاری شدید مشاهده شده

از نظر طبقه‌بندی را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که دستیابی به دفع سریع آفت‌کش‌ها به قیمت حفظ اندازه مخزن ژنتیکی برای فرایندهای اساسی حاصلخیزی خاک تمام شده است (Ray et al., 2024; Yasir et al., 2025).



شکل ۴- تغییرات در فراوانی مطلق ژن‌های چرخه نیتروژن و گوگرد در خاک‌های آمل و نکا تحت تنش تیمار پی در پی آفت‌کش و رطوبت خاک.

نتیجه‌گیری این پژوهش تأیید می‌کند که HP و TS کنتیک کلی کاهش (k و DT₅₀) آفت‌کش‌ها را کنترل می‌کند. تجزیه و تحلیل پتانسیل ژنتیکی، بر اساس ظرفیت ژنتیکی پیش‌بینی‌شده (پروفایل‌های KO)، قویاً از این فرضیه پشتیبانی می‌کند که این دوگانگی ساختاری، هزینه‌های اکولوژیکی متمایزی را ایجاد کرده است. در خاک آمل که از نظر ساختاری دارای ماده آلی بیشتری هستند، افزایش فراوانی مطلق باکتری‌ها و ژن‌های چرخه نیتروژن و گوگرد را در بر داشت. در مقابل، خاک نکا که از نظر ساختاری دارای ماده آلی کمتری بود، با سرکوب گسترده‌ی خزانه‌ی ژنی عملکردی پیش‌بینی‌شده برای چرخه‌های بیوژئوشیمیایی اساسی (S و N) مواجه شد که نشان‌دهنده‌ی فروپاشی کل ظرفیت متابولیکی در این خاک است.

فهرست منابع

Bech, T. B., HELLAL, J., Badawi, N., Jakobsen, R., & Aamand, J. (2023). Linking denitrification and pesticide transformation potentials with community ecology and groundwater discharge in hyporheic sediments in a lowland stream. *Water Research*, 242, 120174.

Ray, S. S., Parihar, K., Goyal, N., & Mahapatra, D. M. (2024). Synergistic insights into pesticide persistence and microbial dynamics for bioremediation. *Environmental Research*, 257, 119290.

Torabi, E., Wiegert, C., Guyot, B., Vuilleumier, S., & Imfeld, G. (2020). Dissipation of S-metolachlor and butachlor in agricultural soils and responses of bacterial communities: Insights from compound-specific isotope and biomolecular analyses. *Journal of Environmental Sciences*, 92, 163-175.

Yang, Z., Deng, Y., Zhong, L., Xiao, R., & Su, X. (2023). Responses of soil bacterial and fungal denitrification and associated N₂O emissions to organochloride pesticide. *Science of the Total Environment*, 905, 167321.

Yasir, M., Hossain, A., & Pratap-Singh, A. (2025). Pesticide degradation: Impacts on soil fertility and nutrient cycling. *Environments*, 12(8), 272.

چکیده انگلیسی

Pesticide residue in paddy soils and their effect on soil bacterial communities and nutrient cycling genes

Ehssan Torabi^{1*}, Mohammad-Javad Ghamari², Seyedali Ebrahimi³, Ahmadali Pourbabaee⁴, Khalil Talebi Jahromi⁵

- 1- Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
- 2- Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
- 3- Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
- 4- Department of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.
- 5- Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran.

Abstract

Repeated pesticide application is a fundamental agricultural practice, yet its long-term structural and functional consequences on soil microbial communities remain inadequately explored. We systematically evaluated the effects of habitat properties (HP) (the composite physicochemical and ecological status of the soil), temporal stress (TS) (repeated applications), and chemical stressor properties (CSP) (pesticide type and concentration) on pesticide dissipation kinetics. To understand the underlying structural failure modes, we employed accurate 16S absolute quantification sequencing, predicted functional gene analysis (KO profiles), and co-occurrence networks. Our results revealed that TS drives a structural bifurcation of soil microbial communities. In organic carbon (OC)-rich soil, TS triggered structural amplification, marked by the selective enrichment of stress-tolerant generalists and putative functional redundancy. Yet, this apparent robustness incurred a predicted cost to the N-cycling genetic potential. Conversely, OC-limited soil underwent widespread structural disintegration and network fragmentation, characterized by a collapse in network connectivity and widespread suppression of predicted nutrient cycling gene pool. Dissipation in this fragile system relied on a few endemics, highly specialized taxa, demonstrating decoupled specialization. In conclusion, the long-term ecological fate of soil is determined by the structural integrity of the microbial network, not by transient kinetic function. Sustainable management must shift focus to enhancing foundational HP factors (soil OC and moisture) to prevent structural collapse and mitigate the unforeseen secondary liabilities induced by repeated pesticide application.

Keywords : Pesticides, bacteria, nitrogen cycle decomposition, soil organic matter