نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد دهم، شماره سوم، ۱۳۹۹
۱-۲۶
http://ejsms.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/ejsms.2021.17664.1931

کارایی آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای در خاک‌های تیمار شده با بهسازهای آلی و کانی در برابر پادزیست‌های پرکاربرد در دامپروری (جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین)

*مهدی رشتبری[۱] و علی‌اکبر صفری سنجانی[۲]
[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا همدان، [۲]استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه بوعلی‌سینا همدان
تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۱/۲۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: پادزیست‌های دامپزشکی از راه کاربرد در دامپروری و کودهای جانوری به زمین‌های کشاورزی می‌رسند که این زمین‌ها می‌توانند خاستگاه پخش آن در زیستگاه‌های آبی و خاک باشد. در پی افزایش کاربرد پادزیست‌ها در کشور، هدف این پژوهش شناخت و ارزیابی پیامد رها شدن پادزیست‌های پرکاربرد در خاک (با و بدون بهسازهای آلی و کانی)، بر کارایی آنزیم‌های برون یاخته‌ای فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز و شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری آن‌ها و هم‌چنین شناسه چگونگی زیستی خاک در یک بازه زمانی ۹۰- روزه بوده است.

مواد و روش‌ها: سه بهساز کود گاوی پوسیده، بیوچار و نانوزئولیت به اندازه دو درصد وزنی از هر کدام با نمونه‌های خاک آمیخته شد و یک تیمار گواه (بدون بهساز) نیز آماده شد. محلول‌های آبی پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین با آب مقطر آماده شد و به ٤۰۰ گرم خاک خشک افزوده گردید و به خوبی به هم زده شده و هم‌زمان آب به نمونه های خاک افزوده شد تا به نمناکی ٦۰ درصد گنجایش نگهداری آب (0.6WHC) برسد. برای هر تیمار از پادزیست‌ها سه اندازه ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم پادزیست بر کیلوگرم خاک خشک، به همراه یک تیمار گواه (بدون پادزیست)، در سه تکرار آزمایش شد. کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی با سوبسترای پارا نیتروفنیل فسفات و اوره‌آز با سوبسترای اوره سنجیده شد و شناسه‌های کارایی آنزیمی خاک، پایداری و بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم نیز در سه بازه زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روز در یک دوره گرماگذاری ۹۰ روزه برآورد شد.

یافته‌ها: در خاک بدون بهساز، کاربرد پادزیست جنتامایسین با اندازه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مایه کاهش ٦۸/۹ درصدی کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در برابر گواه (شاهد بدون کاربرد پادزیست) گردید و اندازه کاهش کارایی آنزیم در خاک با دارای اکسی‌تتراسایکلین با اندازه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و در تیمارهای گواه (بدون بهساز)، کاربرد بهساز کود گاوی، بیوچار و نانوزئولیت در برابر خاک بدون آن به‌ترتیب ۱۷/۵، ۱۳/۸، ۱۷/۵ و ۱٦/۰ درصد بود. کارایی آنزیم اوره‌آز در بازه زمانی ۹۰-۳۰ روز روند افزایشی داشته و بیش‌ترین اندازه کارایی آنزیم در زمان انکوباسیون ۹۰- روز اندازه‌گیری شد. بر پایه یافته‌ها، پاسخ‌دهی آنزیم‌ها ناهمانند بود، به‌گونه‌ای که پادزیست پنی‌سیلین و اکسی‌تتراسایکلین پیامد بد چندانی بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک نداشتند. از سوی دیگر

* مسئول مکاتبه: mehdi.rashtbari@gmail.com

جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین در همه اندازه‌های به‌کار رفته پیامد چشم‌گیری بر کارایی آنزیم اوره‌آز خاک داشتند. با نگر به پاسخ‌دهی بالای فسفاتاز قلیایی به پادزیست جنتامایسین، کاربرد بهسازها کارایی چندانی در بهبود شناسه پایداری این آنزیم در خاک‌های با کاربرد جنتامایسین نداشت و به همین ترتیب کاربرد بهسازها کارایی چندانی در بهبود شناسه پایداری آنزیم اوره‌آز در خاک‌های با کاربرد اکسی‌تتراسایکلین و پنی سیلین نداشت. یافته‌ها نشان می‌دهند که با افزایش اندازه کاربرد پادزیست‌ها از اندازه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌ها کاسته شد و بیش‌ترین بازگشت‌پذیری کارایی در اندازه کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد. هم‌چنین آنزیم اوره‌آز بیش‌ترین بازگشت‌پذیری کارایی را در تیمارهای پنی‌سیلین و سپس جنتامایسین و در پایان در اکسی تتراسایکلین داشت.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که کاربرد بهسازها، به‌ویژه کود گاوی و زغال زیستی آن، ویژگی خاک را بهبود بخشیده و توان پایداری آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای را که نشانی از کارایی ریزجانداران خاک است، در برابر پادزیست‌ها، هتا در اندازه‌های بالا را افزایش داد. پاسخ‌دهی آنزیم‌ها ناهمانند بود، به‌گونه‌ای که پادزیست اکسی‌تتراسایکلین پیامد بد چندانی بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک نداشت، درحالی‌که پیامد پادزیست پنی‌سیلین بر کارایی آنزیم اوره‌آز خاک چشم‌گیر نبود. روهم‌رفته این پژوهش نشان داد که کاربرد بهسازها می‌تواند از پیامد زهری پادزیست‌ها کاسته و مایه افزایش شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌های خاک و بهبود چگونگی کارایی آنزیم‌ها در خاک‌های تیمار شده با پادزیست گردد.

واژه‌های کلیدی: بیوچار، پایداری پادزیستی، چگونگی خاک، فرآیندهای زیستی، نانوزئولیت

مقدمه

پادزیست‌های پرکاربرد در دامپزشکی که برای درمان انواع بیماری‌ها در دام و طیور به‌کار برده می‌شوند، از راه‌های گوناگون مانند کودهای جانوری به زمین‌های کشاورزی می‌رسند و این زمین‌ها می‌توانند خاستگاه پخش آن در زیستگاه‌های آبی و خاک باشند. بودن غلظت‌های بالای پادزیست به گونه متابولیت‌ها یا ترکیب‌هایی از آن در کود دامی و در زیستگاه‌های گوناگون شگفت‌آور نیست. کودهای جانوری یکی از نهاده‌های کشاورزی هستند که برای افزایش و نگهداری باروری به خاک افزوده می‌شوند. ولی، به‌کارگیری پادزیست‌های دامپزشکی در پرورش دام‌ها و جانوران رام شده، ساختار و گوناگونی زیستی ریزجانداران را دگرگون کرده و پایداری پادزیستی باکتری‌ها را در خاک و کودهای جانوری افزایش خواهد داد (٤٩). بسته به ساختار شیمیایی پادزیست، بخش بزرگی از پایداری پادزیستی ریزجانداران در خاک می‌تواند وابسته به کود دامی به‌کار رفته در آن باشد (۱۷ و ۲۰).

پادزیست‌های بتالاکتام، تتراسایکلین‌ها و آمینوگلیکوزیدها از گروه پادزیست‌هایی هستند که برای مهار اسهال و دیگر بیماری‌ها بیش‌ترین کاربرد را در پرورش دام دارند (۲۱). پنی‌سیلین از دسته بتالاکتام‌ها با واکنش با آلانین دیواره یاخته‌ای، که بخشی از مورئین است، از کارایی ترانس پپتیدازها جلوگیری می‌کند و در پایان با کاراسازی هیدرولازهای یاخته‌ای، مایه لیز شدن یاخته باکتری می‌شود (٤). پادزیست‌های دسته آمینوگلیکوزیدها مانند آمیکاسین، استرپتومایسین و

جنتامایسین یک دسته مهند از پادزیست‌ها هستند که با پیوند به ریبوزوم از ساخت پروتئین در باکتری جلوگیری می‌کنند و در پی آن توان باکتری‌کشی دارند (٤٣ و ٥٤). پادزیست‌های دسته تتراسایکلین نیز مایه جلوگیری از ساخت پروتئین باکتریایی از راه پیوند به بخش کوچک ریبوزوم (30S) می‌شوند (٧). پادزیست‌ها به آسانی پس از کاربرد از دام دفع می‌شوند که در کودهای جانوری خود را نشان می‌دهند. بنابراین بهره‌گیری از کودهای دامی دارای پادزیست نخستین راه رسیدن پادزیست به خاک و آب می‌باشد. در محیط خاک، پادزیست‌ها ممکن است در معرض فرایندهای گوناگون زیستی و غیرزیستی قرار بگیرند. این فرایندها دگرگونی یا تخریب، جذب یا واجذب، جذب توسط گیاهان و نیز رواناب و جابه‌جایی با آب زیرزمینی را در بر می‌گیرد (٤٠).

برخی از گزارش‌ها نشان از پیامد ناخواسته پادزیست‌ها بر ریزجانداران بومی خاک (٢٥) و کارکردهای متابولیکی و آنزیمی خاک دارند (١١). آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای خاک از دیدگاه زیست‌شناسی کاتالیزورهای آزاد شده از ریزجانداران، تراوش‌های گیاهان و جانوران هستند که مانده‌های گیاهی، جانوری و ریزجانداری در خاک را فروزینه[1] و تجزیه می‌کنند (٢٣). آن‌ها نقش بسیار کارایی در گردش مواد در اکوسیستم خاکی و دگرش انرژی بازی می‌کنند. کارایی‌های آنزیمی خاک به گونه گسترده‌ای همانند نشانگرهای زیستی در ارزیابی چگونگی خاک و بهداشت آن بهره‌گیری شده است (٣٦). آلودگی خاک با پادزیست‌ها پیامد بدی بر آنزیم‌های خاک دارد و تلسینسکی و همکاران (٢٠١٨) نشان دادند که فسفاتازهای خاک به آلودگی خاک با پادزیست‌ها بسیار پاسخ‌دهنده هستند (٥٣). کارایی آنزیمی خاک پیوند نزدیکی با ویژگی‌های زیستی خاک دارند (٥٩) و از آن‌جایی‌که در ارزیابی ویژگی‌های زیستی روشی جدا از کشت میکروبی هست، می تواند بیانگر کارکرد راستین ریزجانداران در خاک باشند (٢٣).

ما و همکاران (٢٠١٦) پیامد غلظت‌های گوناگون و اندازه کاربرد اکسی‌تتراسایکلین را بر روی کارکردهای آنزیمی ریزجانداران و گوناگونی زیستی ریزجانداران خاک را در زمان گرماگذاری ١٢٠ روزه بررسی نمودند و نشان دادند که در روزهای آغازین گرماگذاری، افزودن پادزیست به خاک به گونه چشم‌گیری کارایی آنزیمی خاک را کاهش داد (٢٩). مولایی و همکاران (٢٠١٨) نیز نشان دادند که پادزیست اکسی‌تتراسایکلین، کارایی فسفاتاز قلیائی و اوره‌آز را در روزهای نخستین گرماگذاری بسیار کاهش داد، ولی با افزایش زمان انکوباسیون کارایی این آنزیم‌ها بازیابی شد (٣٣). شعبانی روفچایی (٢٠١٨) نشان دادند که پیامد پادزیست‌ها بر کارکردهای زیستی خاک به زمانی که خاک در برابر پادزیست است و هم‌چنین به توان زهری پادزیست کاربردی و ویژگی‌های خاک بستگی دارد (٥٠). کارکردهای زیستی خاک هتا از غلظت‌های اندک و پایین پادزیست‌ها نیز نشان منفی می‌پذیرند. گزارش‌هایی از توان بازدارندگی پادزیست‌ها از کارایی آنزیم‌های اوره‌آز (١٦) و دهیدروژناز و فسفاتاز (٥٣) در خاک شده است.

پژوهش‌های گوناگون نشان داده‌اند که افزودن بهسازهای آلی و کانی مانند کودهای گاوی، بیوچار، کمپوست، مانده‌های گیاهی و زئولیت به خاک‌ها از راه‌های دگرگونی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مانند

1- Decompose

pH و ویژگی‌های زیستی، بهبود نگهداری عناصر غذایی از راه جذب بیرونی کاتیون، کاهش جرم مخصوص ظاهری خاک با منافذ ریز و درشت و مانند آن‌ها مایه بهبود ویژگی‌های خاک می‌شوند (۳۰، ۳۸ و ٤٥). کوکس و همکاران (۲۰۰۰) دریافتند که خاک‌های نابارور و درشت‌دانه توان کمی در نگهداشت آلاینده‌ها در خاک دارند و از این‌رو افزودن بهسازها می‌تواند همانند یک نگهدارنده کارا در آن‌ها سودمند باشد (۸ و ۱۹). بهره‌گیری از بهسازها در خاک می‌تواند از پیامد زیانبار پادزیست‌ها بر ریزجانداران بومی خاک کاسته و بر پایداری ریزجانداران خاک و کارایی‌های آنزیمی بیفزاید. پیرس و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که کاربرد بهسازهای آلی می‌تواند پیامد ویژه‌ای در کاهش زیست‌فراهمی پادزیست‌ها از راه گیرش آن‌ها در لایه‌های درونی بهساز داشته باشد (٤٠). هم‌چنین دوآن و همکاران (۲۰۱۷) نیز کاربرد زغال زیستی (بیوچار[1]) در بهبود کارایی و کارکرد ریزجانداران خاک در خاک‌های تیمارشده با پادزیست را بررسی کردند و دریافتند که این بهساز می‌تواند از پیامد بد پازیست‌ها بر ریزجانداران خاک بکاهد (۱۳). در پی افزایش کاربرد پادزیست‌ها در کشور (۱)، هدف پژوهش کنونی شناخت و ارزیابی پیامد رها شدن پادزیست‌های پرکاربرد در خاک (با و بدون بهسازهای آلی و کانی)، بر کارایی آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز و شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری آن‌ها و هم‌چنین شناسه چگونگی زیستی خاک در یک بازه زمانی ۹۰- روزه بوده است. از آن‌جایی‌که آنزیم فسفاتاز قلیایی، یکی از آنزیم‌های ضروری در چرخه فسفر و آنزیم اوره‌آز نقش مهمی در معدنی کردن نیتروژن ترکیب‌های آلی و تأمین نیتروژن برای گیاهان و ریزجانداران از منابع طبیعی و کودها در خاک دارد و به‌دلیل ارتباط تنگاتنگ کارایی این آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای با پارامترهای کیفیت خاک و سیر سریع تغییر و دگرگونی‌ها در مقایسه با دیگر ویژگی‌های خاک برای این پژوهش برگزیده شدند.

مواد و روش‌ها

پادزیست‌ها، کود دامی، بیوچار و نانوزئولیت: پادزیست‌های جنتامایسین (از دسته آمینوگلیکوزیدها)، اکسی‌تتراسایکلین (از دسته تتراسایکلین‌ها) و پنی‌سیلین (از دسته بتالاکتام‌ها) از داروخانه دامپزشکی مرتع در شهر همدان خریداری گردید. این پادزیست‌ها از گروه پرکاربردترین آن‌ها در دامپروری هستند. هم‌چنین همه مواد شیمیایی بهره‌گیری شده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان (Merck Co.) می‌باشند. نانوزئولیت با اندازه دانه‌ای ۹۰ تا ۱۲۰ نانومتر (۳۱) از شرکت افرازند در سمنان ایران خریداری شد. کود دامی پوسیده از گاوداری باغ دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی فراهم شد و بیوچار این کود گاوی در دمای ٤۰۰ درجه سیلسیوس برای چهار ساعت در شرکت نوآوران زیست بنیان آویسا اهواز ساخته شد. ویژگی‌های کود گاوی، بیوچار آن و نانوزئولیت به‌کاررفته در این پژوهش در جدول ۱ آورده شده است.

1- Biochar

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های شیمیایی بهسازهای کود گاوی، بیوچار و نانوزئولیت به‌کاررفته.

Table 1. some of chemicall properties of manure, biochar and nano-zeolite conditioners.

	کربن به نیتروژن Carbon to nitrogen ratio	pH (1:5)	رسانندگی الکتریکی Electrical conductance (dS/m)	نانوزئولیت Nano-zeolite		
				pH	رسانندگی الکتریکی Electrical conductance (dS/m)	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC ($cmol_c/kg$)
کود گاوی Manure	19.4	7.78	3.67			
بیوچار Biochar	16.5	8.93	3.98	7.17	0.98	400.39

نمونه‌برداری خاک و بررسی ویژگی‌های آن: برای انجام این پژوهش از لایه رویین خاک یک کشتزار در پشت ساختمان نوین دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی‌سینا همدان نمونه‌برداری شد. در پنج سال گذشته در این خاک از کودهای دامی دارای پادزیست بهره‌گیری نشده است. نمونه‌ها برای انجام آزمایش‌ها از الک دو میلی‌متری گذرانده شدند. ویژگی‌های زیستی، فیزیکی و شیمیایی خاک بر پایه دستور کارهای استاندارد بررسی شدند (جدول ۲) (۴۷، ۵۱ و ۵۵).

جدول ۲- برخی از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک بکاررفته.

Table 2. some of physical, chemical and biological properties of used soil.

بافت خاک Soil texture	گنجایش کشاورزی Field capacity	شمار باکتری کل Total bacteria	تنفس پایه Basal respiration	pH	رسانندگی الکتریکی Electrical conductance	کربن آلی Organic carbon	آهک معادل Equivalent lime
	درصد/ percent	Log CFU/g soil	mg CO_2/g soil/day		dS/m	درصد/ percent	
لوم/ loam	26.61	7.88	0.06	6.93	0.14	0.77	9.3

آماده‌سازی تیمارها: سه بهساز کود گاوی پوسیده، بیوچار و نانوزئولیت، پس از سترون‌سازی در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد، به گونه جداگانه آماده و به اندازه دو درصد وزنی از هر کدام با نمونه‌های خاک آمیخته شدند و یک تیمار گواه (بدون بهساز) نیز آماده شد. محلول‌های آبی پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین با آب مقطر آماده شد و به ۴۰۰ گرم خاک خشک افزوده گردید و به خوبی به‌هم زده شده و هم‌زمان آب به نمونه‌های خاک افزوده شد تا به نمناکی ۶۰ درصد گنجایش نگهداری آب (0.6WHC) برسد. برای هر تیمار از پادزیست‌ها سه اندازه ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم پادزیست بر کیلوگرم خاک خشک، به همراه یک تیمار گواه (بدون پادزیست)، در سه تکرار آزمایش شد. نمونه‌های خاک تیمار شده در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس برای ۹۰ روز نگهداری شدند. در زمان گرماگذاری، نمونه‌های خاک چندین بار به خوبی به‌هم زده می‌شدند تا زیستگاه هوازی در همه جای خاک فراهم گردد و آب مقطر برای نمناک نگهداشتن خاک به آن‌ها افزوده می‌شدند. در روزهای ۱، ۳، ۷، ۱۵، ۳۰،

۶۰ و ۹۰ پس از کاربرد تیمارها، نمونه خاک برای برآورد کارایی آنزیم‌های برون یاخته‌ای فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز برداشت شد.

برآورد کارایی آنزیم‌ها

فسفاتاز قلیایی: یک گرم از خاک (کم‌تر از دو میلی‌متر) در ارلن‌مایر ۵۰ میلی‌لیتری قرار داده شد، چهار میلی‌لیتر از بافر MUB[1]، ۰/۲۵ میلی‌لیتر تولوئن و یک میلی‌لیتر محلول پارا نیتروفنیل فسفات به آن افزوده شد و سپس برای چند ثانیه به‌خوبی به هم زده شد. در ظرف بسته شده و برای یک ساعت در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گذاشته شد. پس از یک ساعت، یک میلی‌لیتر کلرید کلسیم ۰/۵ مولار و چهار میلی‌لیتر هیدروکسید سدیم ۰/۵ مولار به محلول افزوده شد و ظرف برای چند ثانیه به‌هم زده شد و سپس سوسپانسیون با بهره‌گیری از کاغذ صافی واتمن شماره ۱۲ صاف شد. عصاره صاف شده به لوله رنگ‌سنجی ریخته شد و شدت جذب نور در طول موج ٤١٠ نانومتر اندازه‌گیری شد. کارایی فسفاتاز قلیایی بر پایه میکروگرم پارانیتروفنول (PNP[2]) آزاد شده بر گرم خاک در ساعت گزارش شد (٤٢ و ٥٢).

اوره‌آز: کارایی آنزیم اوره‌آز بر پایه روش پیشنهاد شده کلوز و طباطبایی (۱۹۹۹) برآورد شد (٢٤). به گونه فشرده، پنج گرم خاک در ارلن مایر ۱۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و ۰/۲ میلی‌لیتر تولوئن و نه میلی‌لیتر بافر تریس (با pH ۹) و یک میلی‌لیتر محلول آبی اوره ۰/۰۸ مولار به آن افزوده شد. در ظرف بسته شده و در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گذاشته شد. پس از دو ساعت، ۳۵ میلی‌لیتر محلول $KCl\text{-}Ag_2SO_4$ (۲/۵ میلی‌مولار KCl و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر Ag_2SO_4) به سوسپانسیون افزوده شد و برای ۳۰ دقیقه تکان داده شد. سوسپانسیون به‌دست آمده با بهره‌گیری از کاغذ صافی، صاف شد و آمونیاک آن با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. میکروگرم $N\text{-}NH4^+$ در هر گرم خاک در ساعت در طول موج ٦٦٠ نانومتر برآورد شد.

شناسه چگونگی کارایی آنزیمی خاک: میانگین هندسی کارایی آنزیم‌ها یک شناسه با ارزش برای گردآوری آگاهی‌های بدست آمده از فراسنجه‌هایی که دارای یکان‌های اندازه‌گیری و دامنه دگرش گوناگون، است. میانگین هندسی کارایی آنزیم‌های اندازه‌گیری شده برای هر نمونه به گونه زیر برآورد و آزمون گردید (۳۹):

$$GMea=(ALP\times URE)^{1/2}$$

که در آن، GMea میانگین هندسی کارایی آنزیم‌ها، ALP و URE نیز به‌دنبال هم کارایی آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز هستند.

شناسه پایداری[3] و بازگشت‌پذیری[4] کارایی آنزیم: در این پژوهش برای برآورد شناسه پایداری اوروین و واردل (۲۰۰٤) از رابطه ۱ بهره‌گیری شد، که در آن D_0 ناهمانندی ویژگی بررسی شده میان خاک گواه (C_0) و خاک آلوده شده (P_0) به پادزیست‌ها در پایان دوره پیامد بد پادزیست (t_0) می باشد. این شناسه، با ویژگی اندازه‌گیری‌شده در تیمار گواه استانداردسازی می‌شود، بنابراین اندازاه شناسه پایداری میان ۱- و ۱+ برآورد می‌شود که اندازه ۱+ نشان می‌دهد که آلودگی و ناهنجاری هیچ پیامد و نشانه‌ای بر کارایی آنزیم

1- Modified Universal Buffer
2- P-nitrophenol
3- Resistance index
4- Resilience index

نداشته است و پایداری بیشینه است. هرچه اندازه آن کوچک‌تر از ۱ شود نشان از پایین‌تر بودن توان و پایداری کم‌تر را نشان می‌دهند (۳۷).

$$RS(t_0) = 1 - \frac{2|D_0|}{(C_0 + |D_0|)} \qquad (۱)$$

برای برآورد شناسه بازگشت‌پذیری کارایی نیز شناسه اوروین و واردل (۲۰۰٤) به‌کار گرفته شد (رابطه ۲) که در آن D0 همانند شناسه پایداری برآورد می‌شود و D_x ناهمانندی میان گواه (C_x) و خاک آلوده شده (P_x) در زمان اندازه‌گیری شناسه بازگشت (t_x) است. این شناسه با دگرش پایانی پدید آمده از آلودگی و ناهنجاری (D_0) استانداردسازی می‌شود. اندازه این شناسه نیز میان ۱- و ۱+ است که اندازه ۱+ در زمان اندازه‌گیری بازگشت درست یا بازگشت‌پذیری بیشینه را نشان می‌دهد و اندازه‌های کوچک‌تر ناتوانی و پایین بودن شناسه بازگشت‌پذیری در آن زمان را نشان می‌دهند (۳۷).

$$RL_{at}(t_x) = \frac{2|D_0|}{(|D_0| + |D_x|)} - 1 \qquad (۲)$$

داده‌پردازی و تجزیه و تحلیل آماری: کارایی آنزیمی خاک‌های تیمار شده در هر زمان و در هر تکرار با لگاریتم‌گیری در پایه ده نرمال‌سازی شد و سپس تجزیه واریانس انجام شد. داده‌های آزمایش در سه بازه زمانی گرماگذاری ۹۰ روزه، به‌ترتیب ۱ تا ۷ روز، ۷ تا ۳۰ روز و ۳۰ تا ۹۰ روز میانگین‌گیری و سپس داده‌های هر بازه زمانی جداگانه پردازش شد. برای برآورد کارایی هر آنزیم در خاک در بازه ۱ تا ۷ روز، از میانگین اندازه‌گیری‌ها در روزهای ۱، ۳ و ۷، برای بازه ۷ تا ۳۰ روز از میانگین اندازه‌گیری‌ها در روزهای ۷، ۱۵ و ۳۰ و برای بازه ۳۰ تا ۹۰ روز از میانگین اندازه‌گیری‌ها در روزهای ۳۰، ٦۰ و ۹۰ بهره‌گیری شد.

آزمون آماری به‌کاررفته، طرح اسپلیت-فاکتوریل بود که بهساز به‌کاررفته کرت اصلی و در چهار سطح (گواه، کود گاوی، بیوچار، نانوزئولیت) بوده و کرت فرعی گونه پادزیست در چهار سطح (گواه، جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین، پنی‌سیلین) و اندازه کاربرد در سه سطح (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم پادزیست بر کیلوگرم خاک خشک) بود که به گونه فاکتوریل به‌کار رفتند. چشم‌گیر بودن ناهمانندی پیامد تیمارهای به‌کاررفته در پژوهش با بهره‌گیری از آزمون کمترین ناهمانندی چشم‌گیر (LSD) در پایه آماری یک درصد آزمون شد. داده‌پردازی با نرم‌افزار اکسل انجام شد و برای تجزیه و تحلیل‌های آماری از برنامه آماری SAS 9.1 بهره‌گیری شد.

نتایج

نشان تیمارها بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی: تجزیه واریانس کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی اندازه‌گیری شده در هر بازه زمانی نشان داد که پیامد تیمارهای گونه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد پادزیست و پیامد برهمکنش بهساز و گونه پادزیست، بهساز و اندازه کاربرد، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود. هم‌چنین یافته‌ها پیامد چشم‌گیر برهمکنش سه گانه تیمارها در هر سه بازه زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ گرماگذاری روز بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی اندازه‌گیری شده را نشان دادند (جدول ۳).

آزمون میانگین لگاریتم کارایی آنزیم فسفاتاز خاک در سه بازه زمانی اندازه‌گیری‌شده در تیمارهای پیامد برهمکنش سه‌گانه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن در جدول ٤ آورده شده است. همان‌گونه که در جدول دیده می‌شود، در بازه زمانی ۷-۱ روز، کاربرد بهسازها مایه افزایش کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در برابر بدون آن‌ها شده است و بهسازهای بیوچار و کود گاوی بیش‌ترین کارایی را در افزایش کارایی آنزیم دارا بودند. افزایش اندازه کاربرد پادزیست، به‌ویژه برای پادزیست جنتامایسین، به گونه چشم‌گیری کارایی آنزیم را کاهش داد و کمترین اندازه کارایی (۵۰/۸، ١٤٦ و ١٣٦ میکروگرم PNP بر گرم خاک خشک در ساعت به‌ترتیب برای جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین) در اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در همه پادزیست‌ها در تیمار گواه بهساز در برابر تیمار بدون پادزیست دیده شد. بر پایه یافته‌های گزارش شده، در خاک بدون بهساز، کاربرد پادزیست جنتامایسین با اندازه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مایه کاهش ٦٨/٩ درصدی کارایی آنزیم در برابر گواه (بدون کاربرد پادزیست) گردید، ولی اندازه کاهش کارایی آنزیم در تیمار پادزیست اکسی‌تتراسایکلین و اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تیمارهای گواه، کاربرد بهساز کود گاوی، بیوچار و نانوزئولیت در برابر گواه (بدون کاربرد پادزیست) به‌ترتیب ۱۷/۵، ۱۳/۸، ۱۷/۵ و ١٦/٠ درصد بود (جدول ٤).

در بازه زمانی ۳۰-۷ روز، کارایی آنزیم فسفاتاز بازی در تیمارهای پادزیست جنتامایسین در برابر بازه زمانی ۷-۱ روز افزایش پیدا کرد اما باز هم اندازه کارایی آنزیم در این تیمار کمتر از تیمار گواه (بدون پادزیست) بود. در این بازه زمانی نیز، کم‌ترین اندازه کارایی در تیمارهای پادزیست جنتامایسین با اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد. در تیمارهای جنتامایسین، افزایش اندازه کاربرد پادزیست مایه کاهش چشم‌گیر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی شد، اما در تیمارهای پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین، ناهمانندی چشم‌گیری میان اندازه‌های گوناگون کاربرد پادزیست دیده نشد (جدول ٤). در بازه زمانی سوم (۹۰-۳۰ روز)، اندازه کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در همه پادزیست‌های و اندازه‌های کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در برابر گواه (بدون کاربرد پادزیست) به گونه چشم‌گیری افزایش پیدا کرد. اندازه کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای گواه (بدون پادزیست)، بهسازهای کود گاوی، بیوچار و نانوزئولیت در اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به دنبال هم ۲۲۹، ۲۳۰، ۲۳۱ و ۲۳٦ میکروگرم PNP بر گرم خاک خشک در ساعت به‌دست آمد که نشان می‌دهد در بازه زمانی ۹۰-۳۰ روز، بهسازهای نانوزئولیت و بیوچار کارایی بیش‌تری در بهبود و افزایش کارایی آنزیم داشتند (جدول ٤).

جدول ۳- تجزیه واریانس کارایی آنزیم‌های فسفاتاز بازی در تیمارهای گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن در خاک‌های تیمار شده با بهسازهای گوناگون در بازه‌های زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روزه.

Table 3. Analysis of variance of the effects of different antibiotics, concentrations and soil conditioner treatment on soil alkaline phosphatase and urease enzyme activity at three time periods during 90-day incubation.

منبع تغییرات SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Squares								
		فسفاتاز قلیایی Alkaline Phosphatase			اوره‌آز Urease			شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک Geometric Mean of Extracellular Enzymes Activity		
		۷-۱ روز 1-7 days	۳۰-۷ روز 7-30 days	۹۰-۳۰ روز 30-90 days	۷-۱ روز 1-7 days	۳۰-۷ روز 7-30 days	۹۰-۳۰ روز 30-90 days	۷-۱ روز 1-7 days	۳۰-۷ روز 7-30 days	۹۰-۳۰ روز 30-90 days
بلوک Block	2	97.9**	16.4*	60.1**	7.86^{ns}	47.5**	6.4^{ns}	35.4**	21.8**	2078**
بهساز Conditioner	3	301**	530**	324**	78.5**	69.4**	109**	177**	191.9**	197**
بلوک*بهساز Block*Conditioner	6	11.3^{ns}	5.00^{ns}	5.83^{ns}	5.78^{ns}	7.53^{ns}	3.45^{ns}	4.23^{ns}	4.53^{ns}	4.29^{ns}
پادزیست Antibiotic	3	71361**	39980**	18837**	21248**	5625**	1387**	3377**	9078**	470**
اندازه کاربرد Concentration	2	7717**	284**	6194**	1462**	54.8**	409**	3371**	153**	1528**
بهساز*پادزیست Cond.*Anti.	9	199**	120**	66.8**	19.4**	21.2**	15.3**	32.8**	24.2**	25.1**
بهساز * اندازه کاربرد Cond.*Conc.	6	50.4*	46.2**	45.0**	6.14^{ns}	25.3**	32.7**	15.1**	27.2**	39.3**
پادزیست * اندازه کاربرد Ant.*Conc.	6	2089**	372**	833**	239**	139**	270**	490**	113**	307**
بهساز * پادزیست * اندازه Cond.*Ant.*Conc	18	119**	78.9**	97.4**	14.6**	14.7**	15.3**	14.6**	13.8**	29.5**
اشتباه Error	88	1503	377	673	282	329	214	4.12	3.23	1.95
ضریب تغییرات C.V.	-	2.92	1.42	1.51	3.83	3.20	2.36	2.55	1.93	1.28

* و ** به‌ترتیب نشان‌دهنده پیامد چشم‌گیر در پایه آماری پنج درصد، یک درصد و ^{ns} بدون ناهمانندی چشم‌گیر.

*, ** and ^{ns} mean significant at 5 and 1 percent and non-significant, respectively. Cond: Conditioner, Ant: Antibiotic, Conc: Concentration.

جدول ٤- آزمون میانگین کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک در برهمکنش گونه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن در خاک در بازه‌های زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روزه.

Table 4. mean comparsion results of soil alkaline phosphatase enzyme activity affected by the interaction of soil conditioner, antibiotic type and application rate at 1-7, 7-30 and 30-90 days of incubation period.

بهساز Conditioner	گونه پادزیست Antibiotic Type	اندازه کاربرد Application (mg/kg)	فسفاتاز قلیایی (میکروگرم PNP بر گرم خاک خشک در ساعت) Alkaline Phosphatase (µg PNP/g Dry Soil.Hour)		
			بازه ۷-۱ روز Days 1-7	بازه ۳۰-۷ روز Days 7-30	بازه ۹۰-۳۰ روز Days 30-90
گواه Control	گواه Control	-	164±1.68^{h}	156±1.87^{k}	159±1.40^{x}
	جنتامایسین Gentamicin	50	106±3.95^{x}	121±1.10^{p}	168±2.28^{t}
		100	60.8±9.42^{A}	103±2.56^{w}	178±4.25^{p}
		200	50.8±10.12^{C}	100±0.34^{x}	194±1.53^{l}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	177±3.00^{d}	175±1.90^{f}	192±1.24^{m}
		100	171±2.40^{f}	185±1.19^{b}	215±1.20^{e}
		200	146±6.80^{p}	177±2.93^{e}	229±2.04^{c}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	145±3.23^{q}	112±0.31^{u}	143±3.55^{z}
		100	156±2.53^{l}	119±3.20^{u}	167±1.41^{u}
		200	136±4.53^{s}	112±1.00^{u}	166±2.66^{u}
کود گاوی Manure	گواه Control	-	173±2.76^{e}	167±2.12^{j}	161±1.29^{w}
	جنتامایسین Gentamicin	50	112±3.89^{u}	131±1.77^{l}	178±1.00^{p}
		100	72.0±11.0^{y}	108±1.81^{v}	185±4.12^{n}
		200	53.9±7.01^{B}	113±4.23^{u}	209±4.32^{g}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	180±4.68^{c}	185±1.57^{b}	198±1.62^{k}
		100	169±1.55^{g}	176±1.48^{e}	210±2.76^{f}
		200	149±2.07^{o}	181±4.08^{d}	230±7.64^{c}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	163±2.99^{i}	126±1.49^{m}	159±2.32^{x}
		100	158±2.97^{k}	125±2.3^{n}	172±4.01^{s}
		200	140±2.16^{r}	119±1.08^{q}	176±3.74^{q}
بیوچار Biochar	گواه Control	-	182±1.20^{a}	169±1.49	165±2.28^{v}
	جنتامایسین Gentamicin	50	106±2.06^{w}	123±0.83^{o}	173±2.66^{s}
		100	72.5±7.05^{y}	114±0.86^{t}	195±1.81^{k}
		200	53.0±7.41^{b}	109±2.70^{v}	204±1.85^{h}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	159±2.06^{k}	171±1.28^{g}	185±1.19^{n}
		100	175±2.52^{e}	182±2.10^{c}	218±3.18^{d}
		200	150±1.08^{n}	182±4.32^{c}	231±5.48^{b}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	160±4.62^{j}	123±0.83^{o}	154±1.24^{y}
		100	152±2.55^{m}	116±3.48^{s}	165±0.540^{v}
		200	140±1.00^{r}	119±3.89^{q}	184±0.870^{n}
نانوزئولیت Nano-zeolite	گواه Control	-	181±0.800^{b}	176±1.60^{e}	166±3.08^{u}
	جنتامایسین Gentamicin	50	109±4.98^{v}	127±1.16^{m}	175±4.15^{r}
		100	69.3±5.13^{z}	114±3.48^{t}	193±3.51^{m}
		200	51.5±8.05^{A}	100±2.69^{x}	194±2.51^{l}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	180±1.21^{c}	185±0.87^{b}	199±1.51^{j}
		100	157±0.960^{m}	170±0.63^{h}	202±1.19^{i}
		200	152±1.93^{m}	186±2.78^{a}	236±2.89^{a}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	150±4.84^{n}	114±1.62	147±3.76^{z}
		100	163±2.72^{i}	127±1.37^{m}	177±1.10^{q}
		200	124±0.390^{t}	119±1.43^{q}	181±6.02^{o}

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

Means having similar letters in each column have no significant difference at 1 percent probability.

نشان تیمارها بر کارایی آنزیم اوره‌آز: یافته‌های تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که در هر سه بازه زمانی، تیمارهای گونه بهساز، گونه پادزیست، اندازه کاربرد پادزیست، برهمکنش دو گانه تیمارها و هم‌چنین برهمکنش سه گانه آنها پیامد چشم‌گیری بر لگاریتم کارایی آنزیم اوره‌آز داشتند ($P<0/01$؛ جدول ۳).

در بازه زمانی ۷–۱ روز، در تیمارهای پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین در همه اندازه‌های کاربرد پیامد منفی چشم‌گیری بر کارایی آنزیم اوره‌آز خاک داشتند و کم‌ترین اندازه کارایی در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این پادزیست‌ها دیده شد. با این‌که افزایش اندازه کاربرد پادزیست جنتامایسین مایه کاهش چشم‌گیر اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز گردید، ولی اندازه کاهش کارایی آنزیم اوره‌آز در این تیمار در برابر شاهد بسیار بیش‌تر از پیامد منفی دو پادزیست دیگر بود. بر پایه یافته‌ها، بیش‌ترین اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمار بدون پادزیست و کاربرد بهساز بیوچار به اندازه ۷۶/۲ میکروگرم $N\text{-}NH_4^+$ در هر گرم خاک در ساعت به‌دست آمد که از دیدگاه آماری ناهمانندی چشم‌گیری با تیمارهای بدون پادزیست و کاربرد دیگر بهسازها و در کاربرد ۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم پادزیست پنی‌سیلین در کاربرد بهساز کود گاوی نداشت (جدول ۵). در بازه زمانی ۳۰–۷ روز، اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمارهای پادزیست پنی‌سیلین نیز در برابر نخستین بازه زمانی افزایش پیدا کرد که اندازه کارایی آنزیم در اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین ناهمانندی چشم‌گیری با تیمار گواه پادزیست نداشت. اندازه افزایش کارایی آنزیم اوره‌آز در بازه زمانی دوم در برابر بازه زمانی یکم در تیمار پنی‌سیلین با اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم‌های در کاربرد بهسازهای بیوچار و کود گاوی به‌ترتیب ۱۵/۵ و ۱۵/۹ درصد بود (جدول ۵).

کارایی آنزیم اوره‌آز در بازه زمانی ۹۰–۳۰ روز روند افزایشی خود را داشت و بیش‌ترین اندازه کارایی آنزیم در زمان انکوباسیون ۹۰–روز دیده شد. در این بازه زمانی، افزایش اندازه کاربرد پادزیست‌های جنتامایسین، اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین مایه افزایش کارایی آنزیم گردید و بیش‌ترین اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین و کاربرد بهساز بیوچار به‌دست آمد که ناهمانندی چشم‌گیری با تیمار گواه پادزیست داشت. کاربرد بهساز نانوزئولیت در تیمارهای پادزیست پنی‌سیلین مایه افزایش چشم‌گیر کارایی آنزیم اوره‌آز گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز در بازه زمانی ۹۰–۳۰ روز به‌ترتیب در تیمارهای ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین در تیمار بهساز بیوچار (۸۰/۷ میکروگرم $N\text{-}NH_4^+$ در هر گرم خاک در ساعت) و کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین در تیمار گواه (بدون بهساز) (۴۷/۸ میکروگرم $N\text{-}NH_4^+$ در هر گرم خاک در ساعت) به‌دست آمد (جدول ۵).

جدول ۵- آزمون میانگین کارایی آنزیم اوره‌آز خاک در برهمکنش گونه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن در خاک در بازه‌های زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روزه.

Table 5. mean comparsion results of soil urease enzyme activity affected by the interaction of soil conditioner, antibiotic type and application rate at 1-7, 7-30 and 30-90 days of incubation period.

بهساز Conditioner	گونه پادزیست Antibiotic Type	اندازه کاربرد Application (mg/kg)	اوره‌آز (میکروگرم نیتروژن آمونیومی بر گرم خاک در ساعت) Urease (µg N-NH_4^+/g Dry Soil/Hour)		
			بازه ۷-۱ روز Days 1-7	بازه ۳۰-۷ روز Days 7-30	بازه ۹۰-۳۰ روز Days 30-90
گواه Control	گواه Control	-	75.9±1.18^{b}	72.6±0.97^{b}	66.7±0.62^{l}
	جنتامایسین Gentamicin	50	27.2±1.91^{p}	35.6±1.69^{p}	47.8±1.34^{v}
		100	19.7±0.70^{s}	42.7±2.42^{o}	55.7±1.59^{t}
		200	21.6±1.60^{r}	45.9±3.23^{n}	65.1±1.63^{m}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	30.8±0.95^{o}	54.8±0.95^{j}	62.3±1.31^{p}
		100	23.6±1.49^{q}	55.6±1.71^{j}	64.2±1.60^{n}
		200	21.5±1.28^{r}	46.6±3.66^{n}	56.5±1.39^{t}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	68.1±1.88^{c}	66.0±1.05^{g}	58.5±1.61^{s}
		100	48.6±1.73^{j}	65.8±2.28^{g}	75.4±0.56^{d}
		200	50.1±2.42^{i}	71.1±1.85^{c}	76.6±0.90^{c}
کود گاوی Manure	گواه Control	-	75.4±1.69^{b}	71.8±2.14^{c}	70.3±0.79^{h}
	جنتامایسین Gentamicin	50	37.5±1.08^{l}	51.5±1.74^{l}	55.8±0.45^{t}
		100	23.5±0.58^{q}	43.6±2.80^{o}	57.2±3.59^{t}
		200	23.9±1.89^{q}	49.6±2.75^{l}	73.4±2.00^{e}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	35.8±0.70^{m}	57.5±0.39^{h}	67.2±1.82^{k}
		100	25.6±1.36^{p}	56.5±2.04^{i}	60.2±0.19^{r}
		200	20.1±1.20^{s}	47.3±1.49^{m}	59.5±1.86^{r}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	71.2±2.03^{c}	70.8±1.08^{d}	66.8±0.77^{l}
		100	49.7±0.99^{i}	65.3±0.65^{g}	72.7±2.00^{f}
		200	58.3±2.40^{g}	68.3±4.33^{f}	76.0±1.55^{e}
بیوچار Biochar	گواه Control	-	76.2±2.68^{a}	73.4±1.18^{a}	73.0±3.41^{e}
	جنتامایسین Gentamicin	50	39.7±1.79^{k}	53.6±3.26^{k}	55.7±0.89^{t}
		100	26.1±1.42^{p}	45.7±3.15^{n}	57.9±0.74^{t}
		200	24.1±0.19^{q}	49.0±3.45^{l}	71.1±0.68^{g}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	35.7±1.22^{m}	58.1±0.34^{h}	61.1±1.93^{q}
		100	25.8±1.69^{p}	56.8±2.09^{i}	62.0±1.37^{p}
		200	19.6±0.70^{s}	48.3±1.60^{m}	62.4±2.25^{p}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	67.3±0.87^{d}	69.6±3.34^{e}	68.0±1.92^{j}
		100	50.0±1.98^{i}	68.9±1.65^{e}	73.1±0.71^{e}
		200	60.0±0.34^{f}	71.1±1.95^{c}	80.7±1.00^{a}
نانوزئولیت Nano-zeolite	گواه Control	-	75.4±2.01^{b}	72.6±0.19^{b}	70.9±1.20^{h}
	جنتامایسین Gentamicin	50	36.5±2.09^{m}	50.4±2.81^{l}	55.4±1.65^{u}
		100	22.4±2.57^{r}	40.8±2.01^{m}	59.0±0.92^{s}
		200	23.3±1.81^{q}	47.4±1.62^{m}	65.3±1.18^{m}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	32.3±2.82^{n}	57.4±2.72^{h}	63.1±0.60^{o}
		100	24.9±2.23^{q}	58.5±4.32^{h}	58.2±1.05^{s}
		200	17.5±0.67^{t}	47.0±3.03^{m}	60.7±2.41^{r}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	63.5±4.54^{e}	69.1±0.84^{e}	69.2±1.39^{i}
		100	49.9±3.12^{i}	70.1±3.59^{d}	73.8±0.28^{e}
		200	55.0±1.70^{h}	69.5±1.07^{e}	77.2±1.25^{b}

میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

Means having similar letters in each column have no significant difference at 1 percent probability.

نشان تیمارها بر شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک: یافته‌های تجزیه واریانس داده‌های میانگین هندسی کارایی آنزیم‌ها نشان داد که پیامد گونه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن‌ها در هر سه بازه زمانی پژوهش بر شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک از دیدگاه آماری چشم‌گیر بود. نشانه برهمکنش گونه بهساز و اندازه کاربرد پادزیست و برهمکنش سه‌گانه تیمارها در بازه‌های زمانی ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روز بر شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک چشم‌گیر بود ($P<0/01$؛ جدول ۳). بنابراین این شناسه نیز مانند کارایی آنزیم‌ها پاسخ‌دهی خوبی به تیمارهای آزمایش شده دارد.

آزمون میانگین‌ها نشان داد که در بازه زمانی ۷-۱ روز، کاربرد پادزیست‌ها در خاک به گونه چشم‌گیری شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک را کاهش داد و کم‌ترین اندازه شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک در تیمارهای پادزیست جنتامایسین به‌دست آمد و پس از آن به ترتیب اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین مایه کاهش این شناسه شدند. ولی، کاربرد تیمارهای بهساز در خاک مایه بهبود ویژگی‌های خاک و افزایش شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک گردید. بیش‌ترین اندازه این شناسه در تیمار گواه (بدون پادزیست) و کاربرد بهساز بیوچار به اندازه ۱۱۸ به‌دست آمد که ناهمانندی چشم‌گیری با اندازه آن در تیمار گواه پادزیست و بهساز نانوزئولیت نداشت و کاربرد نانوزئولیت نیز توانست ویژگی خاک را برای کارایی آنزیم‌ها بهبود بخشد (جدول ٦). در بازه زمانی ۳۰-۷ روز، هم‌چنان در تیمارهای پادزیست جنتامایسین در همه اندازه‌ها، کم‌ترین اندازه میانگین هندسی کارایی آنزیم‌های خاک را داشتند. در این بازه زمانی، اندازه شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک در تیمارهای اکسی‌تتراسایکلین بیش‌تر از اندازه آن در تیمارهای پنی‌سیلین بودند که نشان‌دهنده بهتر شدن ویژگی‌های خاک در تیمارهای پادزیست اکسی‌تتراسایکلین با گذشت زمان ۳۰ روز از آغاز گرماگذاری می‌باشد. کاربرد بهسازهای کود گاوی، بیوچار و نانوزئولیت نیز کارایی بالایی در افزایش شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک در برابر تیمار گواه (بدون کاربرد بهساز) داشتند (جدول ٦).

در بازه زمانی ۹۰-۳۰ روز، داده‌های گزارش شده در جدول ٦ نشان می‌دهد که کاربرد بهسازها و پادزیست‌ها مایه افزایش میانگین هندسی کارایی آنزیم‌های خاک در برابر تیمارهای گواه بدون آن‌ها شدند. بیش‌ترین اندازه شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک در تیمار ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین و کاربرد بهساز کود گاوی به اندازه ۱۲۳ دیده شد که افزایش ۱۹/۳ درصدی در برابر تیمار گواه بدون پادزیست در همین تیمار بهساز را نشان می‌دهد. در کاربرد بهساز نانوزئولیت در کاربرد اکسی‌تتراسایکلین به اندازه ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز این شناسه بالا ۱۱۹ بود (جدول ٦).

جدول ٦- آزمون میانگین شناسه چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک (میانگین هندسی کارایی آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای) در برهمکنش گونه بهساز، گونه پادزیست و اندازه کاربرد آن در خاک در بازه‌های زمانی ۷-۱، ۳۰-۷ و ۹۰-۳۰ روزه.

Table 6. mean comparsion results of soil enzyme activity (Geometric mean of soil extracellular enzymes activity) affected by the interaction of soil conditioner, antibiotic type and application rate at 1-7, 7-30 and 30-90 days of incubation period.

بهساز Conditioner	گونه پادزیست Antibiotic Type	اندازه کاربرد Application (mg/kg)	میانگین هندسی کارایی آنزیم‌های برون‌یاخته‌ای خاک Geometric mean of soil extracellular enzymes activity		
			بازه ۷-۱ روز Days 1-7	بازه ۳۰-۷ روز Days 7-30	بازه ۹۰-۳۰ روز Days 30-90
گواه Control	گواه Control	-	111 ± 0.81^{d}	106 ± 0.25^{d}	103 ± 0.35^{p}
	جنتامایسین Gentamicin	50	53.9 ± 2.88^{v}	65.7 ± 1.79^{x}	89.9 ± 1.55^{u}
		100	34.6 ± 3.23^{y}	66.4 ± 2.39^{x}	99.8 ± 0.99^{s}
		200	33.1 ± 4.47^{z}	67.8 ± 2.46^{w}	112 ± 1.61^{k}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	73.9 ± 1.55^{q}	98.1 ± 0.32^{h}	109 ± 1.30^{m}
		100	63.7 ± 1.65^{s}	101 ± 1.80^{f}	117 ± 1.20^{f}
		200	56.2 ± 2.50^{t}	90.9 ± 4.00^{m}	113 ± 1.30^{j}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	99.6 ± 1.10^{g}	86.2 ± 0.78^{p}	91.7 ± 2.11^{v}
		100	87.3 ± 1.30^{m}	88.7 ± 1.00^{o}	112 ± 0.42^{k}
		200	82.8 ± 1.70^{n}	89.3 ± 1.40^{n}	112 ± 1.50^{k}
کود گاوی Manure	گواه Control	-	114 ± 1.90^{c}	110 ± 1.70^{c}	106 ± 0.47^{o}
	جنتامایسین Gentamicin	50	65.1 ± 0.24^{r}	82.2 ± 1.90^{q}	99.9 ± 0.64^{s}
		100	41.1 ± 2.60^{w}	$68.6.180^{v}$	103 ± 2.22^{p}
		200	35.9 ± 3.70^{y}	75.2 ± 3.40^{t}	123 ± 2.72^{a}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	80.3 ± 1.40^{o}	103 ± 0.74^{e}	115 ± 2.70^{h}
		100	65.9 ± 1.60^{r}	99.9 ± 1.50	112 ± 1.11^{k}
		200	54.9 ± 1.30^{u}	92.7 ± 0.84^{k}	117 ± 0.61^{f}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	108 ± 1.00^{e}	94.6 ± 1.10^{i}	103 ± 1.91^{p}
		100	88.7 ± 1.37^{l}	90.4 ± 0.90^{m}	119 ± 0.89^{d}
		200	90.5 ± 2.11^{j}	90.4 ± 3.20^{m}	115 ± 0.61^{h}
بیوچار Biochar	گواه Control	-	118 ± 2.10^{q}	111 ± 1.40^{b}	109 ± 2.38^{m}
	جنتامایسین Gentamicin	50	65.1 ± 1.83	81.4 ± 2.40^{r}	98.4 ± 3.20^{t}
		100	43.5 ± 2.73^{w}	72.3 ± 2.70^{u}	106 ± 1.51^{o}
		200	35.7 ± 2.52	73.2 ± 3.00^{u}	120 ± 1.12^{c}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	75.5 ± 0.83^{p}	99.7 ± 0.66^{g}	106 ± 0.97^{o}
		100	67.3 ± 1.70^{q}	101 ± 1.80^{f}	116 ± 1.44^{g}
		200	54.3 ± 1.10	93.8 ± 0.66^{j}	120 ± 1.00^{c}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	104 ± 2.10^{f}	92.9 ± 2.40^{k}	102 ± 1.65^{q}
		100	87.4 ± 2.30^{m}	89.8 ± 0.56^{n}	110 ± 1.47^{l}
		200	91.8 ± 0.16^{i}	92.3 ± 2.70^{k}	121 ± 0.57^{b}
نانوزئولیت Nano-zeolite	گواه Control	-	117 ± 1.40^{b}	113 ± 0.19^{a}	108 ± 1.71^{n}
	جنتامایسین Gentamicin	50	63.3 ± 3.20^{s}	80.2 ± 2.50^{s}	98.7 ± 2.60^{t}
		100	39.4 ± 1.66^{x}	68.4 ± 2.70^{v}	106 ± 1.71^{o}
		200	34.6 ± 0.40^{y}	69.2 ± 1.97^{v}	112 ± 0.44^{k}
	اکسی‌تتراسایکلین Oxytetracycline	50	76.2 ± 3.36^{o}	103 ± 2.70^{e}	112 ± 0.26^{k}
		100	62.7 ± 2.60^{s}	99.9 ± 3.61^{g}	108 ± 0.65^{n}
		200	51.6 ± 1.31^{w}	93.6 ± 2.33^{j}	119 ± 1.47^{d}
	پنی‌سیلین Penicillin	50	97.6 ± 3.87^{h}	89.0 ± 0.90^{n}	101 ± 2.05^{r}
		100	90.2 ± 2.44^{j}	94.3 ± 1.91^{i}	114 ± 0.55^{i}
		200	82.6 ± 1.40^{n}	91.3 ± 1.06^{l}	118 ± 2.32^{e}

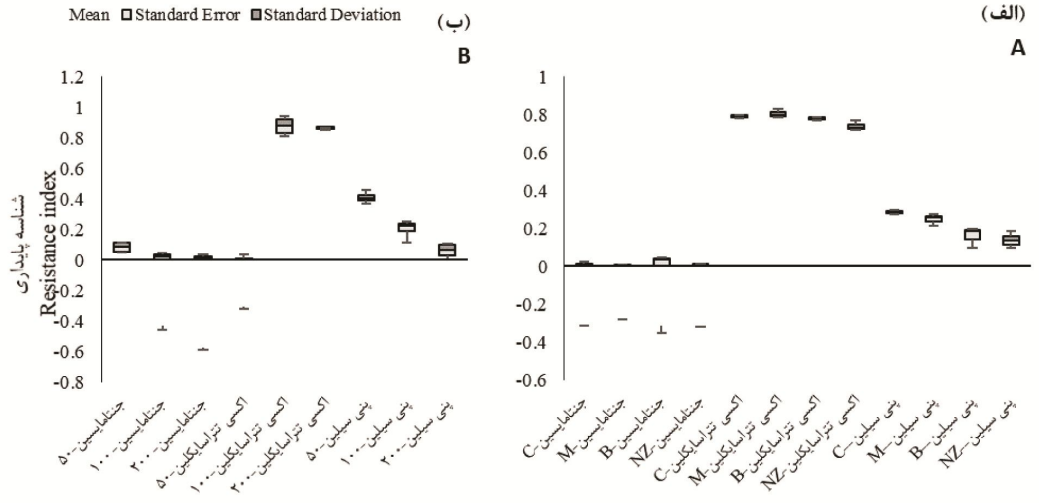
میانگین‌های دارای حروف یکسان در هر ستون ناهمانندی چشم‌گیری در پایه آماری یک درصد ندارند.

Means having similar letters in each column have no significant difference at 1 percent probability.

شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌های بررسی‌شده در خاک: برآورد و بررسی شناسه پایداری کارایی آنزیم‌ها در برابر پادزیست‌ها در خاک‌های تیمار شده با بهسازهای گوناگون در دوره گرماگذاری ۹۰ روزه، نشان داد که کاربرد بهسازها به گونه چشم‌گیری مایه افزایش پایداری کارایی آنزیم‌ها در برابر پادزیست‌های گوناگون شد (شکل‌های ۱- الف و ۲- الف) و کاربرد بهسازها پیامد بد پادزیست‌ها بر کارایی آنزیم‌های خاک را کاستند. بهساز کود گاوی بیش‌ترین پیامد بر افزایش پایداری ریزجانداران داشتند و پس از آن بیوچار و نانوزئولیت بود. به هر گونه، با نگر به پاسخ‌دهی بالای فسفاتاز قلیایی به پادزیست جنتامایسین، کاربرد بهسازها کارایی چندانی در بهبود شناسه پایداری این آنزیم در خاک‌های با کاربرد جنتامایسین نداشت و به همین ترتیب کاربرد بهسازها کارایی چندانی در بهبود شناسه پایداری آنزیم اوره‌آز در خاک‌های با کاربرد اکسی‌تتراسایکلین نداشت (شکل‌های ۱- الف، ۲- الف).

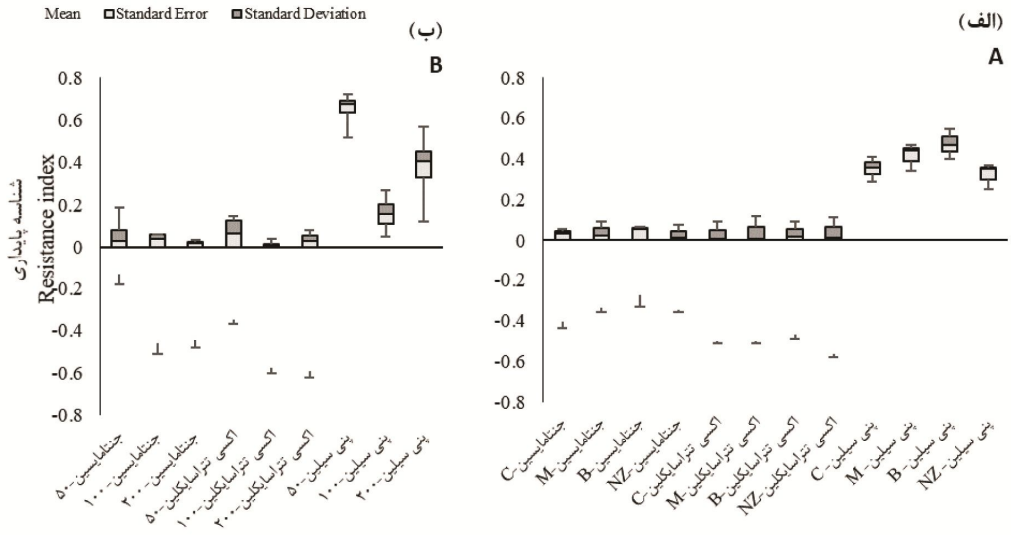
یافته‌های این بخش از پژوهش نشان داد که آنزیم فسفاتاز پایداری بالایی در برابر آلودگی خاک با پادزیست اکسی‌تتراسایکلین به‌کاررفته داشتند و تا اندازه‌ای در برابر کاربرد پادزیست پنی‌سیلین در غلظت‌های گوناگون پایداری نشان داد. به هر گونه، افزایش اندازه کاربرد پادزیست‌های اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین مایه کاهش پایداری این آنزیم گردید و این آنزیم کم‌ترین پایداری را در برابر پادزیست جنتامایسین در همه اندازه‌ها نشان داد (شکل ۱- ب).

آنزیم اوره‌آز پاسخ‌دهی بالایی به پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین در همه اندازه‌های کاربرد نشان داد و کاربرد این پادزیست‌ها به‌ویژه در اندازه‌های بالا پیامد بازدارنده بزرگی بر آن داشتند. آنزیم اوره‌آز پاسخ‌دهی کم‌تری به کاربرد پادزیست پنی‌سیلین در برابر آنزیم فسفاتاز قلیایی از خود نشان داد و با افزایش اندازه کاربرد پادزیست پنی‌سیلین، بر بزرگی پیامد بد بر این آنزیم افزوده شد و کم‌ترین اندازه پایداری در اندازه کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد (شکل ۲- ب).



شکل ۱- شناسه پایداری کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در (الف) برهمکنش گونه پادزیست و بهساز به‌کاررفته در خاک و (ب) برهمکنش گونه پادزیست و اندازه به‌کاررفته آن و در زمان گرماگذاری ۹۰ روز (۵۰: ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰۰: ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰۰: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست به‌کار رفته در خاک؛ C: گواه، M: کود گاوی، B: بیوچار، NZ: نانوزئولیت).

Figure 1. Resistance index of soil alkaline phosphatase activity in A) interaction of antibiotic type and applied soil conditioner and B) interaction of antibiotic type and applied concentration, in a 90-day incubation (50: 50 mg/kg 100: 100 mg/kg, 200: 200 mg/kg; C: control, M: manure, B: biochar, NZ: nano-zeolite).



شکل ۲- شناسه پایداری کارایی آنزیم اوره‌آز در (الف) برهمکنش گونه پادزیست و بهساز به‌کاررفته در خاک و (ب) برهمکنش گونه پادزیست و اندازه به‌کاررفته آن و در زمان گرماگذاری ۹۰ روز (۵۰: ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰۰: ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰۰: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست به‌کار رفته در خاک؛ C: گواه، M: کود گاوی، B: بیوچار، NZ: نانوزئولیت).

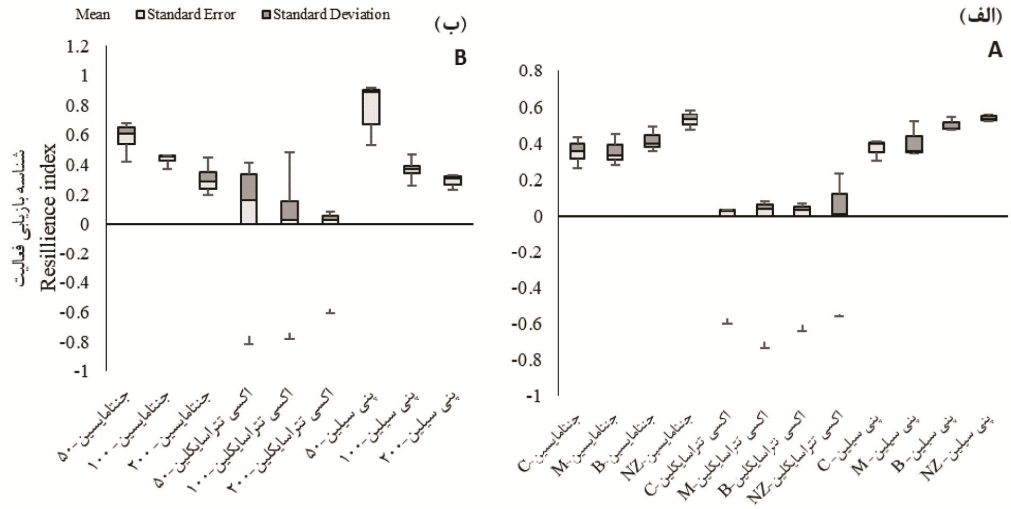
Figure 2. Resistance index of soil urease activity in A) interaction of antibiotic type and applied soil conditioner and B) interaction of antibiotic type and applied concentration, in a 90-day incubation (50: 50 mg/kg 100: 100 mg/kg, 200: 200 mg/kg; C: control, M: manure, B: biochar, NZ: nano-zeolite).

شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی و اوره‌آز به دنبال کاربرد پادزیست‌ها در اندازه‌های یادشده در خاک‌های دارای بهسازهای گوناگون در شکل‌های ۳ و ٤ آورده شده است. همان‌گونه که دیده می‌شود کاربرد بهسازها مایه بهبود شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌های بررسی شده گردید. بر پایه شکل ۳- الف، کاربرد بهساز نانوزئولیت مایه بهبود بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی در تیمارهای پادزیست جنتامایسین و پنی‌سیلین و اندکی کم‌تر در تیمارهای اکسی‌تتراسایکلین گردید. پس از آن تیمارهای بهساز بیوچار و کود گاوی مایه افزایش شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم فسفاتاز گردیدند (شکل ۳- الف).

کاربرد بهسازها مایه افزایش چشم‌گیر بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمارهای اکسی‌تتراسایکلین گردید و اندازه بازگشت را تا نزدیک ۱۰۰ درصد افزایش داد و بهساز کود گاوی کارایی بیش‌تری در این تیمارها داشت. کم‌ترین اندازه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم اوره‌آز خاک در تیمارهای پادزیست پنی‌سیلین دیده شد. کاربرد بهسازها به‌ویژه نانوزئولیت و کود گاوی نیز مایه بهبود بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم در تیمارهای جنتامایسین تا ۷۰-٦۰ درصد گردید (شکل ٤- الف).

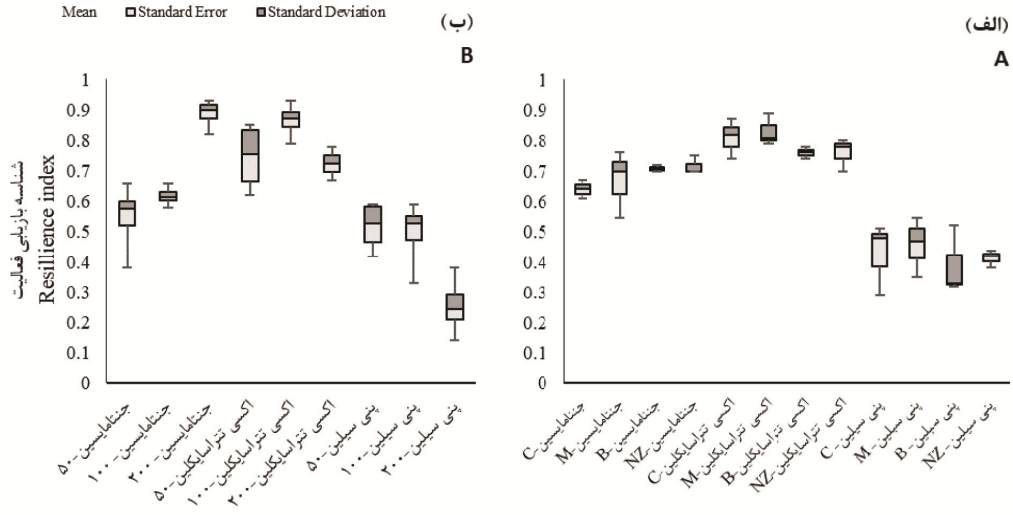
یافته‌ها نشان می‌دهند که با افزایش اندازه کاربرد پادزیست‌ها از اندازه بازگشت‌پذیری کارایی این آنزیم کاسته شد و بیش‌ترین بازگشت‌پذیری کارایی در اندازه کاربرد ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دیده شد. هم‌چنین همان‌گونه که در شکل ۳- ب دیده می‌شود، این آنزیم بیش‌ترین بازگشت‌پذیری کارایی را در تیمارهای پنی‌سیلین و سپس جنتامایسین و در پایان در اکسی‌تتراسایکلین داشت (شکل ۳- ب). آنزیم اوره‌آز در تیمارهای پادزیست جنتامایسین در اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و اکسی‌تتراسایکلین در اندازه‌های ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشینه

بازگشت (نزدیک ۱۰۰٪) را از خود نشان دادند، در برابر آن بازگشت‌پذیری در اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پنی‌سیلین کم‌تر از ۳۰ درصد بود. کم‌ترین اندازه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمارهای پنی‌سیلین و بیش‌ترین آن در تیمارهای اکسی‌تتراسایکلین دیده شد (شکل ٤- ب).



شکل ۳- شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی (الف) در برهمکنش گونه پادزیست و بهساز به‌کاررفته در خاک و (ب) در برهمکنش گونه پادزیست و اندازه به‌کاررفته آن و در زمان گرماگذاری ۹۰ روز (۵۰: ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰۰: ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰۰: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست به‌کار رفته در خاک؛ C: گواه، M: کود گاوی، B: بیوچار، NZ: نانوزئولیت).

Figure 3. Resillience index of soil alkaline phosphatase activity in A) interaction of antibiotic type and applied soil conditioner and B) interaction of antibiotic type and applied concentration, in a 90-day incubation (50: 50 mg/kg 100: 100 mg/kg, 200: 200 mg/kg; C: control, M: manure, B: biochar, NZ: nano-zeolite).



شکل ٤- شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم اوره‌آز (الف) در برهمکنش گونه پادزیست و بهساز به‌کاررفته در خاک و (ب) در برهمکنش گونه پادزیست و اندازه به‌کاررفته آن و در زمان گرماگذاری ۹۰ روز (۵۰: ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۰۰: ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۲۰۰: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم پادزیست به‌کار رفته در خاک؛ C: گواه، M: کود گاوی، B: بیوچار، NZ: نانوزئولیت).

Figure 4. Resillience index of soil urease activity in A) interaction of antibiotic type and applied soil conditioner and B) interaction of antibiotic type and applied concentration, in a 90-day incubation (50: 50 mg/kg 100: 100 mg/kg, 200: 200 mg/kg; C: control, M: manure, B: biochar, NZ: nano-zeolite).

بحث

آنزیم‌های خاک شمار فراوانی از واکنش‌های چرخه فروزینگی و بازچرخ[1] عناصر خوراکی را کاتالیز می‌کنند و کارایی آن‌ها می‌تواند همانند نشانگر زیستی خاک و دگرش زندگی ریزجانداران بسته به شیوه بهره‌برداری از خاک، ارزیابی و آزمون شود (۳۹). پژوهشگران گزارش کرده‌اند که پادزیست‌ها می‌توانند هموستازی در یک زیست‌بوم خاکی را به هم بریزند و به گونه‌ای بر فراوانی و کارکرد ریزجانداران خاک پیامد داشته باشند (۱۲). بهره‌گیری از بهسازها مایه افزایش کارایی آنزیم‌های خاک و چگونگی کارایی آنزیم‌های خاک و هم‌چنین شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری آن‌ها در برابر گواه بدون بهساز، در زمان گرماگذاری شدند و در میان بهسازهای بررسی شده نیز، بهساز بیوچار و پس از آن کود گاوی کارایی بالایی در بهبود شناسه‌های آنزیمی در خاک داشتند. بهسازهای کود گاوی و بیوچار آن بیش‌ترین کارایی را در افزایش شناسه پایداری آنزیم فسفاتاز قلیایی داشت. افزایش کارایی آنزیمی خاک با افزودن بهسازهای آلی می‌تواند به بهبود ویژگی‌های خاک، زیست‌فراهمی عناصر خوراکی برای گیاهان و ربزجانداران (۱۵)، فراهمی نیتروژن و فسفر در خاک و کربن آلی خاک (۲۶ و ۲۸) نسبت داده شود. هم‌چنین پژوهشگران گزارش کرده‌اند که بهسازهای آلی با فراهم کردن سطوح جذبی برای پادزیست‌های به‌کاررفته در خاک، باعث افزایش جذب برخی پادزیست‌ها شده و می‌توانند از پیامد بد پادزیست‌ها بر ریزجانداران بکاهند و کارایی آنزیمی خاک را افزایش دهند (٤٤ و ٥٦). آلبرو و همکاران (۲۰۱۸) نیز کاهش زیست‌فراهمی پادزیست در خاک در پی کاربرد بهسازهای آلی را گزارش دادند (۳).

پس از کود گاوی و زغال‌زیستی آن، نانوزئولیت نیز کارایی بالایی در بهبود کارایی آنزیم‌ها در خاک‌های تیمار شده با پادزیست از خود نشان داد و توانست از پیامد بد پادزیست‌ها بر کارایی آنزیمی خاک بکاهد. بیش‌ترین کارایی نانوزئولیت در کاهش پیامد پادزیست‌ها بر کارایی آنزیم‌ها در تیمار پادزیست پنی‌سیلین دیده شد. نانوزئولیت‌ها سوراخ‌های ریزی برای برکشیدن مولکول‌ها دارند و نگهدارنده‌های توانمندی برای پادزیست‌ها هستند (٦) و به گونه کارآمدی پادزیست‌ها را که چندین گروه کارکردی یونیزه شونده دارند را برکشیده و نگهداری می‌نمایند (۲۱) و پیامد زیانبار آن بر ریزجانداران خاک را کاهش می‌دهند. فرآیندهای زیستی ریزجانداران در خاکدانه ها رخ می‌دهند و زئولیت‌ها مایه بهبود خاکدانه‌سازی می‌شوند (۳۱). زئولیت هم‌چنین می‌تواند با هیومیک اسید در خاک با پل کاتیونی پیوند دهند (۳۵) و از این‌رو می‌توانند همراه ماده آلی مایه بهبود ساختمان خاک از راه ساخت خاکدانه‌های درشت و ریز شوند (۳۲) و از این راه مایه افزایش فراوانی و کارکرد ریزجانداران خاک (۳۱) شوند و کارایی آنزیم‌ها و میانگین هندسی کارایی آن‌ها را افزایش دهند.

فسفاتاز قلیایی خاک یک آنزیم برون‌یاخته‌ای است که کانی شدن فسفر آلی را کاتالیز می‌کند و بیش‌تر همانند یک نشانگر زیستی خاک به‌کار گرفته می‌شود (۱۰). کارایی آنزیم فسفاتاز به گونه چشمگیری در تیمارهای پادزیست و اندازه کاربرد آن‌ها دگرگون شد. اندازه کاهش کارایی آنزیم در روزهای آغازین گرماگذاری بسیار بیش‌تر از اندازه کاهش در بازه‌های زمانی دیگر بود و در بازه زمانی پایانی (۹۰-۳۰ روز)، اندازه کارایی این آنزیم در برابر گواه افزایش پیدا کرد. در این پژوهش دیده شد که اکسی‌تتراسایکلین و پنی‌سیلین پیامد کم یا هیچ پیامدی بر کارایی آنزیم

1- Turnover

فسفاتاز قلیایی خاک نداشت. پادزیست جنتامایسین، به‌ویژه در اندازه‌های کاربرد ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم نیز بیش‌ترین پیامد بد بر کارایی این آنزیم در بازه‌های زمانی ۷-۱ و ۳۰-۷ روز داشت. به گونه همانند با این پژوهش، ما و همکاران (۲۰۱٦) و تیل-برون و بک (۲۰۰۵) پیامد ناچشم‌گیر اکسی‌تتراسایکلین بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک را نشان دادند (٤، ۲۹ و ۵۵)، ولی دیگران پیامد چشم‌گیر اکسی‌تتراسایکلین‌ها (۵۸) و پنی‌سیلین (۵۳) بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی را نشان دادند. یک فرایند ویژه درباره بزرگی و ماندگاری پیامد بد پادزیست‌ها در خاک، پایداری آن‌ها در خاک می‌باشد و پیامد بد کم‌تر آن‌ها در زمان‌های پایانی گرماگذاری می‌تواند به فروزینگی آن‌ها در خاک وابسته باشد (۱۸ و ۲۷). گذشته از آن شاید گونه‌های پایدار در برابر پازیست‌ها بتوانند در این زمان فراوان شده و با ساخت و رها کردن آن مایه بالارفتن و بازگشت کارایی این آنزیم‌ها در خاک شوند. هم‌چنین افزایش کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی با گذشت زمان می‌تواند وابسته به رهاسازی اورتوفسفات‌های پدید آمده از لیز شدن یاخته‌ها در به‌ویژه در روزهای آغازین باشد که همانند بازدارنده رقابتی برای ساخت و کارکرد آنزیم در خاک باشد (۵۷). از سوی دیگر پادزیست‌ها خود ماده آلی هستند که با افزایش آن در خاک ریزجانداران فروزینه‌کننده آن بیش‌تر شوند (٤۱). بنابراین یک سازوکار ویژه برای این دگرگونی زمانی کارایی آنزیم‌ها در خاک نمی‌توان پیشنهاد نمود. به هر گونه یکی از سازوکارهای مهند برای کاهش پیامد بد پادزیست‌ها بر کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک می‌تواند برکشیدن و نگهداری پادزیست روی بهسازهای آلی و کانی در خاک باشد که خود می‌تواند همانند خاستگاه کربن آلی برای ریزجانداران خاک بوده و کارایی آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک را افزایش دهند (۲۷). به همین گونه، افزایش کارایی آنزیمی خاک در خاک‌های تیمار شده با پادزیست، به‌ویژه در بازه زمانی پایانی، می‌تواند با توانایی برای ریزجانداران خاک در بهره‌گیری از پادزیست‌ها در سوخت‌وساز خود و افزایش فراوانی برخی آن‌ها و ساخت آنزیم‌های بیش‌تر باشد (۹).

اوره‌آز (آمیدوهیدرولاز اوره) یک آنزیم بیرون یاخته‌ای دارای نیکل است که هیدرولیز اوره به آمونیاک و کاربامات را کاتالیز می‌کند (۱۰). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که کارایی آنزیمی خاک پیوند چشم‌گیری با شمار ریزجانداران خاک، گوناگونی و زیست‌توده آن‌ها دارد. بنابراین افزایش فراوانی آن‌ها می‌تواند تراوش آنزیم‌ها را افزایش دهد (۱۰). یافته‌های این پژوهش نشان داد که تیمارهای پادزیست به گونه چشم‌گیری کارایی آنزیم اوره‌آز خاک را کاهش دادند. در نخستین بازه زمانی، پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین مایه کاهش چشمگیر کارایی این آنزیم در برابر گواه بدون پادزیست شدند، اما در بازه زمانی ۹۰-۳۰ روز، اندازه کارایی آنزیم اوره‌آز در برابر بازه‌های زمانی پیشین گرماگذاری افزایش یافت. با این‌که اندازه کاهش کارایی آنزیم اوره‌آز در تیمارهای پادزیست پنی‌سیلین کم‌تر از دو پادزیست دیگر بود، اما اندازه کاربرد ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این پادزیست نیز به گونه چشمگیری اندازه کارایی را کاهش داد و در بازه زمانی ۹۰-۳۰ روز، اندازه کارایی هتا بیش‌تر از گواه بود. لیو و همکاران (۲۰۱۵) و آکیمنکو و همکاران (۲۰۱۵) نیز کاهش کارایی آنزیم اوره‌آز با پادزیست‌های تتراسایکلین، کلرتتراسایکلین و پنی‌سیلین را گزارش دادند (۲۷، ۱). در این پژوهش پیامد چشم‌گیری پادزیست پنی‌سیلین بر کارایی آنزیم اوره‌آز دیده نشد که با یافته های سامس (۱۹۸۹) همخوانی دارد. کارایی آنزیم اوره‌آز مایه بازی شدن و افزایش پی-اچ می‌شود

که خود مایه تندی فروزینگی پنی‌سیلین شده و آن را به پنی لوئیک اسید دگرگون کرده و که ناکاراسازی پادزیست پنی‌سیلین را در پی دارد (٤٨). از سوی دیگر پایداری باکتری‌های خاک به پنی‌سیلین نیز می‌تواند مایه کاهش پیامد بد آن بر این آنزیم شود (۲). افزایش کارایی آنزیم اوره‌آز در زمان گرماگذاری می‌تواند وابسته به بودن پادزیست‌ها در خاک و شاید رشد بهتر برخی قارچ‌ها باشد که در برابر باکتری‌ها در برابر پادزیست‌های به‌کاررفته پایداری بیش‌تری دارند (۹). گائو و همکاران (۲۰۱۳) نیز فراوانی قارچ‌ها را در خاک‌های تیمار شده با پادزیست‌ها را گزارش کردند (۱۵). قارچ‌ها سازندگان ویژه آنزیم‌ها در خاک‌ها هستند و از این‌رو می‌توانند افزایش‌دهنده کارایی آنزیمی در خاک باشند (۱۲ و ۱۸). کاهش کارایی آنزیم اوره‌آز در خاک‌های تیمار شده با پادزیست‌های جنتامایسین و اکسی‌تتراسایکلین نیز می‌تواند به ممانعت از رشد و یا مرگ ریزجانداران حساس تولیدکننده این آنزیم در خاک نسبت داده شود (۹).

یادآور شود که شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌ها برای بهساز و پادزیستی بزرگ‌تر است که پیامد بد بزرگ‌تری داشته باشد. از این‌رو دیده شد که شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم فسفاتاز در کاربرد پادزیست اکسی‌تتراسایکلین و شناسه بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم اوره‌آز در کاربرد پازیست پنی‌سیلین کم‌تر از آن‌ها در کاربرد جنتامایسین است. زیرا در میان پادزیست‌های آزمون شده آنزیم‌های فسفاتاز و اوره‌آز پاسخ نمایان‌تری به کاربرد پادزیست جنتامایسین از دسته آمینوگلیکوزیدها داشتند. همراستا با این صفری سنجانی و یونسی (۲۰۱۷) نشان داده‌اند که باکتری‌های خاک‌های کشاورزی، چراگاهی و کانسارهای سرب و روی در همدان در برابر پادزیست جنتامایسین پایداری ناچیزی دارند و پیامد بد این پادزیست بر آن‌ها بسیار بیش‌تر و نمایان‌تر از پادزیست‌های دیگر است (٤٦).

نتیجه‌گیری پایانی

پادزیست‌های به‌کاررفته در دامپزشکی و پزشکی پس از رسیدن به خاک مایه دگرگونی گسترده در گوناگونی زیستی و کارکردی ریزجانداران خاک می‌گردند. کارایی آنزیمی خاک یکی از ویژگی‌های برجسته خاک است که پیامد چشمگیری بر توان بارآوری و پالایش آلاینده‌ها در خاک دارد. بنابراین، یافتن راهی برای کاستن از پیامد بد پادزیست‌های پرکاربرد در دامپزشکی بر کارایی آنزیم‌های برون یاخته‌ای اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی و افزایش پایداری این آنزیم‌ها در برابر این پادزیست‌ها با کاربرد بهسازهای آلی (کود گاوی و بیوچار آن) و کانی (نانوزئولیت) می‌تواند پژوهش نوینی باشد. یافته‌های این پژوهش نشان داد که کاربرد بهسازها، به‌ویژه کود گاوی و زغال زیستی آن، ویژگی خاک را بهبود بخشیده و شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌های ریزجانداران را در برابر پادزیست‌ها، هتا در اندازه‌های بالا را افزایش داد. از سوی دیگر آنزیم‌ها پاسخ‌دهی ناهمانندی به کاربرد پادزیست‌ها داشتند و در میان پادزیست‌های آزمون شده آنزیم‌های فسفاتاز و اوره‌آز پاسخ نمایان‌تری به کاربرد پادزیست جنتامایسین از دسته آمینوگلیکوزیدها داشتند. روهمرفته پیامدهای پادزیست‌ها بر کارایی آنزیم‌های خاک به گونه بهساز در خاک، گونه و اندازه پادزیست به‌کاررفته و زمان کاربرد آن بستگی دارد. اگر چه پس از کاربرد پادزیست‌ها به‌ویژه جنتامایسین در خاک کارایی آنزیم‌ها کاهش یافت، ولی با گذشت زمان به‌ویژه در خاک‌های تیمار شده با بهسازها و به‌ویژه کود گاوی و بیوچار شناسه‌های پایداری و بازگشت‌پذیری کارایی آنزیم‌ها و هم‌چنین میانگین

هندسی کارایی آنزیم‌ها در خاک را افزایش یافت. بنابراین کاربرد بهسازهای یاد شده در خاک افزون بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک، می‌تواند از پیامد بد پادزیست‌ها بر کارایی آنزیم‌های برون یاخته‌ای اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی در خاک بکاهد.

سپاسگزاری

از دانشگاه بوعلی‌سینا برای فراهم کردن هزینه‌های پژوهش و از کمک و یاری سرکار خانم عشرتی در انجام آزمایش‌های این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Akimenko, Y.V., Kazeev, K.S., and Kolesnikov S. 2015. Impact Assessment of Soil Contamination with Antibiotics (for Example, an Ordinary Chernozem). American Journal of Applied Sciences. 12: 2. 80-8.
2. Alam, M., and Imran, M. 2018. Screening and Potential of Gram Negative Bacterial Isolates for their Extracellular Enzymatic Activities Isolated from the Hospital Aquatic Environment. Journal of Basic and Clinical Pharmacy. 9: 41-5.
3. Albero, B., Tadeo, J.L., Escario, M., Miguel, E., and Pérez, R.A. 2018. Persistence and availability of veterinary antibiotics in soil and soil-manure systems. Science of The Total Environment. 643: 1562-1570.
4. Aldeek, F. 2017. Penicillin G's function, metabolites, allergy, and resistance. Journal of Nutrition and Human Health. 1: 28-40.
5. Ansari, F. 2001. Use of systemic anti-infective agents in Iran during 1997-1998. European Journal of Clinical Pharmacology. 57: 6-7. 547-551.
6. Chiou, M.S., and Li, H.Y. 2002. Equilibrium and kinetic modeling of adsorption of reactive dye on cross-linked chitosan beads. Journal of Hazardous Materials. 93: 2. 233-48.
7. Chopra, I., and Roberts, M. 2001. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 65: 232-60.
8. Cox, L., Celis, R., Hermosín, M.C., Cornejo, J., Zsolnay, A., and Zeller, K. 2000. Effect of Organic Amendments on Herbicide Sorption as Related to the Nature of the Dissolved Organic Matter. Environmental Science & Technology. 34: 21. 4600-4605.
9. Cycoń, M., Mrozik, A., and Piotrowska-Seget, Z. 2019. Antibiotics in the Soil Environment-Degradation and Their Impact on Microbial Activity and Diversity. Front Microbiol. 10: 338-345.
10. Dick, R., and Burns, R. 2011. A Brief History of Soil Enzymology Research. 1: 34-44.
11. Ding, C., and He, J. 2010. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. Applied Microbiology and Biotechnology. 87: 925-941.
12. Ding, G., Radl, V., Schloter-Hai, B., Jechalke, S., Heuer, H., Smalla, K. 2014. Dynamics of Soil Bacterial Communities in Response to Repeated Application of Manure Containing Sulfadiazine. PloS one. 9: 929-958.
13. Duan, M., Li, H., Gu, J., Tuo, X., Sun, W., Qian, X. 2017. Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce. Environmental Pollution. 224: 787-795.
14. Ekenler, M., and Tabatabai, M.A. 2004. β-Glucosaminidase Activity as an Index of Nitrogen Mineralization in Soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 35: 7-8. 1081-1094.
15. Gao, M., Song, W., Zhou, Q., Ma, X., and Chen, X. 2013. Interactive effect of oxytetracycline and lead on soil enzymatic activity and microbial biomass. Environmental Toxicology and Pharmacology. 36: 2. 667-674.

16. Gutiérrez, I.R., Watanabe, N., Harter, T., Glaser, B., and Radke, M. 2010. Effect of sulfonamide antibiotics on microbial diversity and activity in a Californian Mollic Haploxeralf. Journal of Soils and Sediments. 10: 3. 537-544.
17. Halling-Sørensen, B., Sengeløv, G., and Tjørnelund, J. 2002. Toxicity of Tetracyclines and Tetracycline Degradation Products to Environmentally Relevant Bacteria, Including Selected Tetracycline-Resistant Bacteria. Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 42: 3. 263-271.
18. Hammesfahr, U., Kotzerke, A., Lamshöft, M., Wilke, B.M., Kandeler, E., and Thiele-Bruhn, S. 2011. Effects of sulfadiazine-contaminated fresh and stored manure on a soil microbial community. European Journal of Soil Biology. 47: 1. 61-68.
19. Hassan, S.T.S., and Šudomová, M. 2017. The Development of Urease Inhibitors: What Opportunities Exist for Better Treatment of Helicobacter pylori Infection in Children? Children. 4: 2. 1-5.
20. Heuer, H., Schmitt, H., and Smalla, K. 2011. Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. Current Opinion in Microbiology. 14: 3. 236-243.
21. Kauri, S., Rao, R., and Sanju, N. 2011. Amoxicillin: A broad spectrum antibiotic. Journal of Pharmaceutical Sciences. 34: 401-417.
22. Kemper, N. 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. Ecological Indicators. 8: 1. 1-13.
23. Kivlin, S.N., and Treseder, K.K. 2014. Soil extracellular enzyme activities correspond with abiotic factors more than fungal community composition. Biogeochemistry. 117: 1. 23-37.
24. Klose, S., and Tabatabai, M.A. 1999. Urease activity of microbial biomass in soils. Soil Biology and Biochemistry. 31: 2. 205-211.
25. Kong, W.D., Zhu, Y.G., Fu, B.J., Marschner, P., and He, J.Z. 2006. The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community. Environmental Pollution. 143: 1. 129-137.
26. Li, S., Gu, X., Zhuang, J., An, T., Pei, J., Xie, H. 2016. Distribution and storage of crop residue carbon in aggregates and its contribution to organic carbon of soil with low fertility. Soil and Tillage Research. 155: 199-206.
27. Liu, B., Li, Y., Zhang, X., Wang, J., and Gao, M. 2015. Effects of chlortetracycline on soil microbial communities: Comparisons of enzyme activities to the functional diversity via Biolog EcoPlates™. European Journal of Soil Biology. 68: 69-76.
28. Liu, Z., Rong, Q., Zhou, W., and Liang, G. 2017. Effects of inorganic and organic amendment on soil chemical properties, enzyme activities, microbial community and soil quality in yellow clayey soil. PLOS ONE. 1: 21. 72-76.
29. Ma, T., Pan, X., Chen, L.K., Liu, W., Christie, P., Luo, Y. 2016. Effects of different concentrations and application frequencies of oxytetracycline on soil enzyme activities and microbial community diversity. European Journal of Soil Biology. 76: 53-60.
30. Mehdizadeh, M., Izadi-Darbandi, E., Yazdi, M., Rastgoo, M., Malaekeh-nikouei, B., and Nassirli, H. 2019. Impacts of different organic amendments on soil degradation and phytotoxicity of metribuzin. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. 8:(Suppl 1). S113-S121.
31. Mirzaei Aminian, M., Hosseini, H., and Heyfariyan, A. 2018. Microbial communities and their characteristics in a soil amended by nanozeolite and some plant residues: Short time in-situ incubation. Eurasian Journal of Soil Science. 7: 1. 9-19.
32. Mirzaei Aminiyan, M., Safari Sinegani, A.A., and Sheklabadi, M. 2015. Aggregation stability and organic carbon fraction in a soil amended with some plant residues, nanozeolite, and natural zeolite. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. 4: 1. 11-22.

33. Molaei, A., Lakzian, A., and Rasouli-Sadaghiani, M.H. 2018. The effects of oxytetracycline (OTC) and sulfamethoxazole (SMX) antibiotics on potential nitrification and alkaline phosphatase and urease activities in a calcareous soil. Soil Applied Research. 6: 2. 1-14.
34. Molaei, A., Lakzian, A., Haghnia, G., Astaraei, A., Rasouli-Sadaghiani, M.H., Teresa Ceccherini, M. 2017. Assessment of some cultural experimental methods to study the effects of antibiotics on microbial activities in a soil: An incubation study. PLOS ONE. 12: 7.e0180663.
35. Mühlbachová, G., and Simon, T. 2003. Effects of zeolite amendment on microbial biomass and respiratory activity in heavy metal contaminated soils. Plant Soil and Environment. 49: 12. 536-541.
36. Nannipieri, P., Giagnoni, L., Renella, G., Puglisi, E., Ceccanti, B., Masciandaro, G.. 2012. Soil enzymology: classical and molecular approaches. Biology and Fertility of Soils. 48: 7. 743-762.
37. Orwin, K.H., and Wardle, D.A. 2004. New indices for quantifying the resistance and resilience of soil biota to exogenous disturbances. Soil Biology and Biochemistry. 36: 11. 1907-1912.
38. Pampuro, N., Bertora, C., Sacco, D., Dinuccio, E., Grignani, C., Balsari, P. 2017. Fertilizer value and greenhouse gas emissions from solid fraction pig slurry compost pellets. The Journal of Agricultural Science. 155: 10. 1646-1658.
39. Paz-Ferreiro, J., Gascó, G., Gutiérrez, B., and Méndez, A. 2012. Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil. Biology and Fertility of Soils. 48: 5. 511-517.
40. Pires, D.P., Melo, L., Vilas Boas, D., Sillankorva, S., and Azeredo, J. 2017. Phage therapy as an alternative or complementary strategy to prevent and control biofilm-related infections. Current Opinion in Microbiology. 39: 48-56.
41. Punitha, B.C., Hanumantharaju, T.H., Jayprakash, R., and Shilpashree, V.M. 2012. Acetamiprid impacton urease and phosphatase activity in selected soils of southern Karnataka. International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences. 2: 1. 1-6.
42. Raiesi, F., and Salek-Gilani, S. 2018. The potential activity of soil extracellular enzymes as an indicator for ecological restoration of rangeland soils after agricultural abandonment. Applied Soil Ecology. 126: 140-7.
43. Reiss, M., and Reiss, G. 2003. Ototoxicity of aminoglycoside antibiotics. Praxis. 92: 127-33.
44. Riaz, L., Mahmood, T., Khalid, A., Rashid, A., Ahmed Siddique, M.B., Kamal. A. 2018. Fluoroquinolones (FQs) in the environment: A review on their abundance, sorption and toxicity in soil. Chemosphere. 191: 704-20.
45. Safari Sinegani, A.A., and Taheri Ghahrizjani, S. 2015. Effects of Zeolite and Manures Applications on Biological Properties of Light and Heavy Soils in Greenhouse Maize Culture. Water and Soil Science. 24: 4. 197-213.
46. Safari Sinegani, A.A., and Younessi, N. 2017. Antibiotic resistance of bacteria isolated from heavy metal-polluted soils with different land uses. Journal of Global Antimicrobial Resistance. 10: 247-55.
47. Safari Sinegani, A.A., Sharifi, Z., and Safari Sinegani, M. 2008. Applied Methods in Soil Microbiology. Bu Ali Sina University Press, 562p.
48. Sammes, P.G. 1989. Topics in Antibiotics Chemistry. Ellis Horwood, 130p.
49. Schauss, K., Focks, A., Leininger, S., Kotzerke, A., Heuer, H., Sören, T.B. 2008. Dynamics and functional relevance of ammonia-oxidizing archaea in two agricultural soils. Environmental Microbiology. 11: 446-56.
50. Shaabani Rufchai, A. 2018. Influence of two type of pharmaceutical antibiotics on some biological properties of clay

and sandy loam soils. Journal of Soil Management and Sustainable Production. 7: 4. 99-113.
51. Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., and Leoppert, R.H. 1996. Methods of Soil Analysis Part 3-Chemical Methods. Madison, WI: Soil Science Society of America, American Society of Agronomy.
52. Tabatabai, M.A., and Bremner, J.M. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry. 1: 4. 301-7.
53. Telesiski, M.M., Przytarska, J.E., Sternal, B., Forwick, M., Szczuci Ski, W. 2018. IRD record of sediment core JM07-015. In supplement to: Telesi&# 324; ski, MM et al (2018): Palaeoceanographic evolution of the SW Svalbard shelf over the last 14 000 years Boreas, 47(2), 410-422, https:// doiorg/101111/bor12282: PANGAEA; 2018.
54. Thiele-Bruhn, S., and Beck, I.C. 2005. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. Chemosphere. 59: 4.457-65.
55. Walkley, A., and Black, I.A. 1934. An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science. 37: 1. 29-38.
56. Wang, S., and Wang, H. 2015. Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: a critical review. Frontiers of Environmental Science & Engineering. 9: 4. 565-74.
57. Wei, X., Wu, S., Nie, X., Yediler, A., and Wong, M. 2009. The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth. Journal of Environmental Science and Health Part B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes. 44: 461-71.
58. Yang, Q., Zhang, J., Zhu, K., and Zhang, H. 2009. Influence of oxytetracycline on the structure and activity of microbial community in wheat rhizosphere soil. Journal of Environmental Sciences. 21: 7.954-9.
59. Yao, X.H., Min, H., Lü, Z.H., and Yuan, H.P. 2006. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration. European Journal of Soil Biology. 42: 2. 120-6.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 10(3), 2020
http://ejsms.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/ejsms.2021.17664.1931

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Efficiency of Soil Extracellular Enzymes in Soils Treated by Organic and Mineral Conditioners Against Mostly Applied Veterinary Antibiotics (Gentamicin, Oxytetracycline and Penicillin)

***M. Rashtbari[1] and A.A. Safari Sinegani[2]**
[1]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science and Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan,
[2]Professor, Dept. of Soil Science and Engineering, Bu-Ali Sina University, Hamedan
Received: 02.12.2020; Accepted: 09.01.2020

Abstract

Background and Objectives: Veterinary antibiotics enter into agricultural soils through application in animal husbandry and manures where these soils could be the source of dissemination of antibiotics in soil and water habitats. Owing to increasing antibiotic applications in our country, the aim of the present study was to understanding and evaluating the consequences of mostly applied antibiotics in soil (with and without organic and mineral conditioners) on extracellular enzymes activity, alkaline phosphatase and urease, and their resistance and resilience indices as well as mean soil enzyme activity, in a 90-day incubation period.

Materials and Methods: Three soil conditioners including decayed cow manure, biochar and nano-zeolite thoroughly mixed by soil samples in 2 percent (w/w) and control treatment (without conditioner) was included. Aqueous solutions of gentamicin, oxytetracycline and penicillin prepared with distilled water and added to 400g dry soil and thoroughly mixed. While mixing, water added to the soil to the moisture content of 60 percent of field capacity (0.6 WHC). For each antibiotic treatment three concentrations including 50, 100 and 200 mg/kg plus a control treatment (without antibiotic) in three replications were evaluated. The efficiency of alkaline phosphatase and urease enzymes were assessed by p-nitrophenol and urea as substrates, respectively and the soil enzymatic efficiency, and enzymes resistance and resilience indices were calculated at three time periods 1-7, 7-30 and 30-90 days in a 90-day incubation period.

Results: In treatments without conditioner application, gentamicin at 200 mg/kg concentration caused 68.9 percent decrease in alkaline phosphatase efficiency compared to control (without antibiotic) and decreasing enzyme activity in soil treated by 200 mg/kg oxytetracycline at control (without conditioner), application of manure, biochar and nano-zeolite compared to control (without antibiotic) was 17.5, 13.8, 17.5 and 16 percent, respectively. Urease enzyme efficiency at 30-90 days had an increasing trend and the highest enzyme activity recorded at this time period. Based on the results, measured enzymes had different responses, so that penicillin and oxytetracycline had not such a considerable impact of soil alkaline phosphatase activity. While, gentamicin and oxytetracycline at all applied concentrations, had significantly negative impact on soil urease activity. Considering the great responsiveness of alkaline phosphatase to gentamicin antibiotic, application of soil conditioners had no significant efficiency in improving resistance of this enzyme in gentamicin treated soils. also, application of soil conditioners had no significant impact on increasing resistance index of urease enzyme in oxytetracycline and penicillin applied soils. Results show that increasing application amount of antibiotics caused decrease in soil enzymes activity and highest enzymes resilience observed in 50 mg/kg

* Corresponding Author; Email: mehdi.rashtbari@gmail.com

antibiotic concentration. Also results showed that urease enzyme had the highest resilience indec in penicillin application treatments followed by gentamicin and then oxytetracycline treatments.

Conclusion: Present study showed that application of conditioners, especially manure and its biochar improved soil properties and increased extracellular enzymes' resistance, which are indicators of soil microorganisms' function, against antibiotics, even at higher concentrations. There was difference among responsiveness of studied enzymes, so that oxytetracycline had no significant impact on soil alkaline phosphatase activity, while penicillin had no considerable effect on soil urease activity. Totally, the present study showed that application of soil conditioners could alleviate toxic impacts of antibiotics and result in increase in resistance and resilience indices of soil enzymes and improved enzymes activity and efficiency in antibiotic-treated soils.

Keywords: Antibiotic resistance, Biochar, Biological processes, Nano-zeolite, Soil quality