نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد هفتم، شماره چهارم، ۱۳۹۶
http://ejsms.gau.ac.ir

تأثیر دو نوع آنتی‌بیوتیک دارویی بر برخی ویژگی‌های زیستی دو خاک رسی و لوم شنی

*نسرین قربان‌زاده[۱]، عباس شعبانی‌روفچائی[۲] و حسین پندی[۲]

[۱]استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه گیلان، [۲]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۱۲

چکیده

سابقه و هدف: امروزه کاربرد بی‌رویه و نادرست آنتی‌بیوتیک‌های دارویی به یک مشکل اساسی در رابطه با آلودگی و تخریب زیست‌بوم‌های مختلف تبدیل شده است. خاک از جمله زیست‌بوم‌هایی می‌باشد که به‌دلیل دریافت کودهای جانوری دارای مقادیر زیاد آنتی‌بیوتیک، به‌شدت تحت‌تأثیر این مواد قرار می‌گیرد. با توجه به این‌که فعالیت‌های میکروبی خاک با سلامت و کیفیت خاک رابطه مستقیم دارند، بنابراین در این مطالعه تأثیر دو آنتی‌بیوتیک دارویی جنتامایسین و تری‌متوپریم بر فعالیت جامعه میکروبی دو خاک رسی و لوم شنی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: دو نمونه خاک با بافت مختلف که در طول ۱۰ سال اخیر هیچ نوع کود دامی دریافت نکرده بودند انتخاب شدند و از عمق ۲۵-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری انجام گرفت. غلظت‌های متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و تری‌متوپریم (۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از محلول‌های مادر با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و به نمونه‌های خاک اضافه شدند. در فواصل زمانی صفر، ۲، ۸، ۱۵ و ۳۰ روز مقدار تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا و کاهش آهن فریک در نمونه‌های خاک اندازه‌گیری شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل و سه تکرار انجام گرفت. سطح صفر آنتی‌بیوتیک نیز به‌عنوان تیمار شاهد لحاظ شد.

یافته‌ها: در خاک رسی، فعالیت‌های تنفسی در تیمارهای دریافت‌کننده جنتامایسین اختلاف کاهشی معنی‌داری را با تیمار شاهد پس از گذشت ۲ روز نشان دادند. پس از گذشت ۸ روز در مقایسه با روز ۲ ام فعالیت‌های تنفسی خاک کاهش بیش‌تری نشان دادند. مقدار تنفس پایه در روز ۸ ام در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین به‌ترتیب ۵۲، ٦٦، ٦٨ و ٨٤ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. تنفس برانگیخته با سوبسترا در زمان‌های مختلف انکوباسیون روندی مشابه تنفس پایه را نشان داد. مقدار تنفس پایه در خاک لوم شنی در حضور جنتامایسین پس از گذشت ۲ روز نسبت به سایر زمان‌ها کم‌ترین مقدار بود و پس از گذشت ۸ روز دوباره افزایش نشان داد. در خاک رسی مقدار تنفس پایه در روز ۸ ام آزمایش در تیمارهای دریافت‌کننده سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۵۱، ۵۵، ۵۹ و ۸۹ درصد کاهش داشت. در خاک لوم شنی تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در حضور تری‌متوپریم پس از گذشت ۲ روز کم‌ترین مقدار را نشان دادند و در تمامی تیمارها اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده شد. در خاک رسی در سطوح مختلف هر دو آنتی‌بیوتیک، سهم آهن فرو از تیمار شاهد در روز ۲ ام بیش‌تر از روز ۸ ام بود. در خاک شنی بیش‌ترین تأثیر منفی دو آنتی‌بیوتیک

* مسئول مکاتبه: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com

بر سهم آهن فرو در روز ۲ ام مشاهده شد. به‌طورکلی، باکتری‌های کاهنده آهن فریک در خاک‌های دریافت‌کننده تری‌متوپریم کم‌تر تحت‌تأثیر اثر منفی قرار گرفتند که به‌دلیل تفاوت در عملکرد این دو آنتی‌بیوتیک می‌باشد.

نتیجه‌گیری: اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت‌های زیستی خاک به طول زمانی که خاک در معرض آنتی‌بیوتیک قرار گرفته و همچنین عملکرد آنتی‌بیوتیک مصرفی و ویژگی‌های خاک بستگی دارد. فعالیت‌های میکروبی خاک حتی از سطوح غلظتی پایین آنتی‌بیوتیک‌ها نیز تأثیر منفی می‌پذیرند. بنابراین به‌منظور کاهش خطر آلودگی محیطی، باید جوانب احتیاط در رابطه با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در انسان و دام رعایت شود.

واژه‌های کلیدی: جنتامایسین، تری‌متوپریم، تنفس میکروبی، کاهش آهن فریک

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌های دارویی در دهه گذشته به گونه گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند و به‌عنوان آلاینده‌های مقاوم به تجزیه در زیست‌بوم‌ها حضور دارند (۳۰). سالانه هزاران تن از انواع آنتی‌بیوتیک در سراسر جهان جهت اهداف درمانی و غیردرمانی به‌کار می‌روند. مصرف سالیانه آنتی‌بیوتیک‌ها در جهان بین ۱۰۰۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ تن برآورد شده است (۱۱). بیش‌تر این ترکیبات جذب اندکی در سیستم گوارشی انسان و دام داشته به‌طوری‌که حدود ۷۵-۲۵ درصد آن‌ها در نهایت به‌صورت هضم نشده دفع می‌گردند (۲٦). از این‌رو سالانه در بهترین شرایط ۳۰۰۰۰ تن و در بدترین شرایط ۱۸۰۰۰۰ تن آنتی‌بیوتیک وارد محیط‌زیست می‌شود (۱۱). پیامدهای پسماند این مواد در طولانی‌مدت منجر به افزایش مقاومت عوامل بیماری‌زا می‌شود. این امر عمدتاً با ایجاد ژن مقاوم به آنتی‌بیوتیک صورت می‌گیرد (۱۵). در سطح یک گونه باکتری، مقاومت به آنتی‌بیوتیک می‌تواند به‌وسیله پمپاژ آنتی‌بیوتیک به خارج سلول، تخریب ترکیب‌های فعال آنتی‌بیوتیک و برنامه‌ریزی مجدد ساختار هدف توسعه پیدا کند (۱۸). بنابراین، انسان و حیوانات در معرض خطر ابتلا به عفونت‌های میکروبی قرار می‌گیرند که با داروها درمان نمی‌شوند. اگرچه بر خلاف دیگر آلاینده‌ها مانند فلزات سنگین، رفتار و سرنوشت آلاینده‌های دارویی به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند اما اطلاعات محدود موجود بیانگر اثرات نامطلوب آنتی‌بیوتیک‌ها در زیست‌بوم خاک و تأثیر آن‌ها بر ریزجانداران خاک می‌باشد (۳۰). ریزجانداران خاک و گیاهان با یکدیگر ارتباط تنگاتنگ دارند، بنابراین هر گونه اثر مخرب که سبب تخریب تعادل میان ریزجانداران شود، منجر به ایجاد اثرات نامطلوبی بر حاصلخیزی و پایداری زیست‌بوم خاک خواهد شد (۱۷). مقادیر ضریب توزیع (پخشیدگی) خاک (Kd) برای آنتی‌بیوتیک‌های حیوانی در حدود ٦۳۰۰-۰/۳ لیتر بر کیلوگرم می‌باشد که در خاک‌هایی با ویژگی‌های متفاوت متغیر است. آنتی‌بیوتیک‌هایی با ضریب توزیع نسبتاً زیاد تمایل بالایی را نیز به جذب بر روی ذرات خاک دارند. تداوم این آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک‌ها به نوع خاک، مقدار مواد آلی، پی‌اچ، مقدار رطوبت و درجه حرارت وابسته است (۲۰). اکثریت قریب به اتفاق آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در دامپزشکی در خاک نیمه‌عمر کم‌تر از ۳۰ روز دارند. اما با وجود زمان کوتاه نیمه‌عمر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور متوسط ۵۰ درصد از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در دامپزشکی به شکل اولیه یا متابولیت‌های فعال زیستی از طریق مدفوع حیوانات دفع می‌شوند، بنابراین تخمین زده شده که سالانه در سطح جهان ۲۷۰۰۰-۳۰۰۰ تن از آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در

دامپزشکی از کودهای حیوانی و پرندگان وارد زیست‌بوم‌های طبیعی می‌شوند (۲۰). عواملی مانند حلالیت در آب، ضریب تجزیه (ثابت تفکیک) و فرایندهای جذب و واجذب و همچنین پایداری و پیوند به ذرات خاک در مقادیر پی‌اچ متفاوت بر تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک تأثیرگذار می‌باشند (۱۷). لازم به ذکر است آنتی‌بیوتیک‌های موجود در فضولات دامی نه تنها باعث صدمات زیست‌محیطی در خاک و تهدید سلامت انسان از این طریق می‌شوند بلکه کیفیت پیکره‌های مختلف آب مانند آب رودخانه‌ها، دریاچه‌ها و آب‌های زیرزمینی را نیز در طی فرایند انتقال توسط سیلاب‌ها و زهکشی تحت‌تأثیر قرار می‌دهد (۱۵). در میان آنتی‌بیوتیک‌ها با کلاس‌های ساختمانی متفاوت، آمینوگلیکوزیدها[1] مانند آمیکاسین، استرپتومایسین، توبرامایسین، نئومایسین و جنتامایسین[2] یک رده مهم از آنتی‌بیوتیک‌هاهستند که به‌طور گسترده‌ای در داروهای مورد استفاده دام و پرندگان در اغلب کشورهای جهان به‌کار می‌روند (۱ و ۲٤). تمامی آمینوگلیکوزیدها با اتصال به ریبوزوم مانع سنتز پروتئین در باکتری می‌شوند و در نتیجه اثر باکتریسیدی[3] دارند. باکتریوسیدال‌ها[4] منجر به کشتن و از بین رفتن باکتری‌ها می‌شوند (۱). این آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد شکاف‌هایی در غشای خارجی سلول باکتری منجر به تراوش و خروج محتویات داخل سلولی و افزایش جذب آنتی‌بیوتیک می‌شوند. این گروه از آنتی‌بیوتیک‌ها بر علیه باکتری‌های هوازی گرم منفی و برخی باسیل‌های بی‌هوازی اختیاری که هنوز مقاومت در آن‌ها ایجاد نشده است عمل می‌کنند. اما به‌طورکلی بر باکتری‌های گرم مثبت و باکتری‌های گرم منفی بی‌هوازی اجباری اثرگذار نیستند (۸). تری‌متوپریم[5] یک آنتی‌بیوتیک وسیع‌الطیف باکتریواستاتیک[6] است که منجر به متوقف کردن رشد باکتری‌ها می‌شود و در درمان عفونت‌ها به‌خصوص عفونت‌های ادراری مصرف دارد. این آنتی‌بیوتیک از رشد و تولید مجدد باکتری‌ها با تداخل در ساخت پروتئین باکتری، همانندسازی DNA، یا دیگر جنبه‌های متابولیسم سلول باکتریایی جلوگیری می‌کند. این آنتی‌بیوتیک در دام‌ها نیز به‌منظور جلوگیری از بیماری‌ها و ارتقا رشدشان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). بنابراین با توجه به ورود این آلاینده‌ها به چرخه غذایی و مقاومت‌های دارویی ناشی از آن، که مخاطرات زیست‌محیطی و طبی زیادی را به دنبال دارد، بررسی تأثیر این مواد بر ویژگی‌های زیستی خاک می‌تواند گامی مفید و اولیه در جهت کنترل آلودگی‌های دارویی در محیط زیست باشد. در میان ویژگی‌های زیستی خاک، تست کاهش آهن فریک روشی مناسب است که می‌توان بر اساس آن اثرات مرتبط با غلظت آنتی‌بیوتیک‌های دارویی را بر ریزجاندارن خاک مورد بررسی قرار داد. کاهش میکروبی آهن فریک نیاز به فعالیت باکتری‌های بی‌هوازی و بی‌هوازی اختیاری خاک دارد و بنابراین جلوگیری از کاهش میکروبی آهن فریک به‌وسیله این باکتری‌ها به راحتی توسط سایر ریزجاندارن خاک جبران نمی‌شود. بر همین اساس این پارامتر به افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها حساس است (۲). بنابراین این مطالعه با هدف بررسی تأثیر دو آنتی‌بیوتیک دارویی پرمصرف جنتامایسین و تری‌متوپریم با عملکردهای متفاوت در سطوح غلظت‌های مختلف بر فعالیت جامعه میکروبی خاک شامل تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا و کاهش آهن فریک، در دو خاک رسی و لوم شنی انجام شد.

1- Aminoglycosides
2- Gentamicin
3- Bactericide
4- Bactericidal
5- Trimethoprim
6- Bacteriostatic

مواد و روش‌ها

تهیه و آماده‌سازی نمونه‌های خاک: دو نمونه خاک رسی و لوم شنی که در طول ۱۰ سال اخیر هیچ نوع کود دامی دریافت نکرده بودند، از شهرستان شفت (عرض جغرافیایی ′۱۰ °۳۷ و طول جغرافیایی ′۰۲ °۵۰) و رودبار (عرض جغرافیایی ′۵۰ °۳٦ و طول جغرافیایی ′۲۷ °٤۹) در استان گیلان انتخاب و از عمق ۲۵-۰ سانتی‌متری نمونه‌برداری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های خاک پس از انتقال به آزمایشگاه هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شدند و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مورد نیاز نمونه‌های خاک با روش‌های ارائه شده توسط اسپارکس و همکاران (۱۹۹٦) اندازه‌گیری شد (۲۱).

آماده‌سازی آنتی‌بیوتیک‌ها و نمونه‌های خاک: دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و تری‌متوپریم از شرکت سیگما آلدریچ تهیه شد. به‌منظور استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها از هر کدام از آن‌ها محلول‌های مادر با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر در متانول تهیه شد.

به‌منظور فعال‌سازی جامعه میکروبی خاک، مقدار ۵۰۰ گرم از نمونه‌های خاک با گلوکز (۲۰۰ میکروگرم بر گرم) مخلوط و به‌مدت سه روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شدند. غلظت‌های متفاوت از آنتی‌بیوتیک‌ها (۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از محلول مادر تهیه و به نمونه‌های خاک اضافه شدند. متانول پس از ۱۵ دقیقه به‌طور کامل تبخیر شد و تنها آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک باقی ماندند. نمونه‌های خاک به‌طور کامل با آنتی‌بیوتیک‌ها مخلوط و در ظروف بسته در تاریکی در دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا از تجزیه سریع آنتی‌بیوتیک‌ها جلوگیری شود (۳۲ و ۲۷). در تمام طول مدت آزمایش رطوبت نمونه‌ها در حدود ٦۰ درصد حداکثر ظرفیت نگهداری آب خاک‌ها ثابت نگه داشته شد و نمونه‌ها هر روز به‌مدت ۱۵ دقیقه هم زده شدند. به‌منظور اندازه‌گیری ویژگی‌های موردنظر در نمونه‌های خاک در فواصل زمانی صفر، ۲، ۸، ۱۵ و ۳۰ روز از خاک‌ها نمونه‌برداری شد. سطح صفر آنتی‌بیوتیک نیز تیمار شاهد در این آزمایش بود.

آنالیز نمونه‌ها: برای اندازه‌گیری تنفس پایه نمونه‌های خاک به درون ظروف شیشه‌ای مخصوص در سه تکرار ریخته شد و در کنار محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار به‌مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردید. پس از پایان انکوباسیون، بالون‌های دارای سود با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار تیتر شدند و مقدار تنفس بر حسب $mgCO_2\ g^{-1}_{dry\ soil}\ 24h^{-1}$ برآورد شد (۲). تنفس برانگیخته با سوبسترا (با اضافه کردن یک میلی‌لیتر محلول گلوکز ۲ درصد برای ۲۰ گرم خاک) نیز همانند تنفس پایه اما در مدت زمان ٦ ساعت اندازه‌گیری شد (۳). آزمون کاهش آهن فریک با روش ولپ و برومر (۱۹۹۵) انجام گرفت (۳۱). بعد از زمان انکوباسیون، ۱۰ میلی‌لیتر کلرید پتاسیم (۱ مولار) به نمونه‌ها اضافه و نمونه‌ها برای مدت یک دقیقه ورتکس شدند و پس از سانتریفوژ شدن (۳۰ دقیقه در ۵۰۰۰×g) محلول رویی از طریق کاغذ صافی جدا و به‌وسیله افزودن ۱۲۵ میکرولیتر اسید نیتریک غلیظ پایدار شدند. غلظت آهن فرو موجود در نمونه‌ها با روش فروزین در طول موج ٥٦۲ نانومتر خوانده شد (۲۳).

آنالیز آماری: آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار انجام گرفت و فاکتورهای آزمایش شامل دو نوع آنتی‌بیوتیک، ۵ سطح از آنتی‌بیوتیک‌ها و ۲ نمونه خاک بودند. نتایج به‌دست آمده از تمامی آزمایش‌ها در بخش‌های فوق با استفاده از نرم‌افزار MSTATC مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی با یکدیگر با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌ها: نتایج به‌دست آمده از تجزیه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه، در جدول ۱ آورده شده است. با توجه به نتایج جدول ۱، خاک ۱ (شهرستان شفت) دارای بافت رسی و خاک ۲ (شهرستان رودبار) دارای بافت لوم شنی بود.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک‌های مورد مطالعه.

Table 1. Some physico-chemical characteristics of studied soils.

رس Clay	سیلت Silt	شن Sand	ماده آلی Organic carbon	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC	یون بی‌کربنات (۱:۵) Bicarbonate ion	پی‌اچ (۱:۲) pH	هدایت الکتریکی ECe	ویژگی‌های خاک Soil properties
		(٪)		$cmol\ kg^{-1}$	$meq\ L^{-1}$		$dS\ m^{-1}$	
47	32	21	0.67	37.2	3	6.9	0.15	خاک ۱
19	20	61	0.33	16.6	2	7.6	0.23	خاک ۲

ECe: هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک

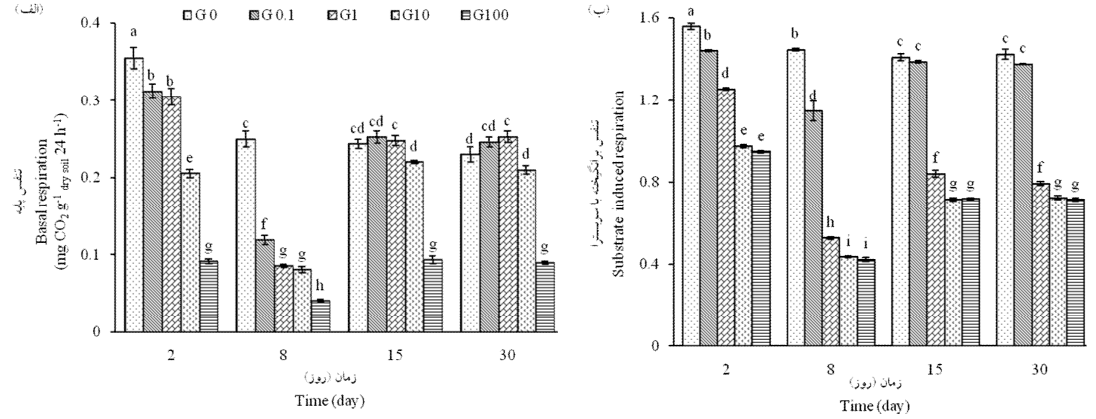
ECe :Electrical Conductivity of Saturated-Paste Extract

اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک جنتامایسین بر تنفس میکروبی خاک‌ها: تأثیر غلظت‌های مختلف جنتامایسین در خاک رسی بر تنفس میکروبی پایه و برانگیخته با سوبسترا در طول دوره آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. در خاک رسی بیش‌ترین مقدار تنفس پایه پس از گذشت ۲ روز در تیمار شاهد مشاهده شد و تیمارهای دریافت‌کننده جنتامایسین اختلاف کاهشی معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند. فعالیت تنفسی پس از گذشت ۸ روز در مقایسه با روز ۲ ام کاهش یافت. مقدار تنفس پایه در روز ۸ ام در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین به‌ترتیب ۵۲، ٦٦، ٦٨ و ٨٤ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد. مقدار تنفس پایه میکروبی در تمامی تیمارهای دریافت‌کننده جنتامایسین پس از گذشت ۱۵ روز از شروع آزمایش نسبت به روز ۸ ام افزایش داشت و در روز ۳۰ ام اختلاف آماری معنی‌داری با زمان ۱۵ روز مشاهده نشد (شکل ۱ الف). در خاک رسی پس از گذشت ۲ روز اثرات کمی از جنتامیسین در سطوح ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر روی تنفس پایه میکروبی خاک مشاهده شد و دو تیمار اختلاف آماری معنی‌داری را با یکدیگر نشان ندادند و تغییرات زیاد تنفس پایه میکروبی تنها در سطوح غلظت‌های بالاتر جنتامایسین (۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) مشاهده شد. بنابراین هر دو فاکتور زمان و سطوح مختلف غلظت آنتی‌بیوتیک بر تنفس پایه تأثیرگذار بودند. اثر اندک آنتی‌بیوتیک در غلظت‌های پایین می‌تواند به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مانند ترسیب قوی آنتی‌بیوتیک و در نتیجه قابلیت دسترسی زیستی پایین آن باشد (١٦). در خاک، غیرفعال‌سازی زیستی آنتی‌بیوتیک توسط فعل و انفعالات با ترکیب‌های ارگانومینرال (٦) یا واکنش‌هایی مانند تجزیه زیستی یا هیدرولیز (٢٤)، سبب خنثی کردن اثر آن‌ها قبل از رسیدن به ریزجانداران می‌شود (۵ و ۲۲).

مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک رسی در تیمار شاهد در تمامی زمان‌های آزمایش بیش‌ترین مقدار بود و کم‌ترین مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در تیمارهای دریافت‌کننده سطوح ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین در روز ۸ ام مشاهده شد. همان‌طور که در شکل ۱ ب مشخص است تنفس برانگیخته با سوبسترا در زمان‌های مختلف انکوباسیون روندی مشابه تنفس پایه را نشان داد و پس از گذشت ۸ روز در تمامی سطوح جنتامایسین به کم‌ترین مقدار رسید.

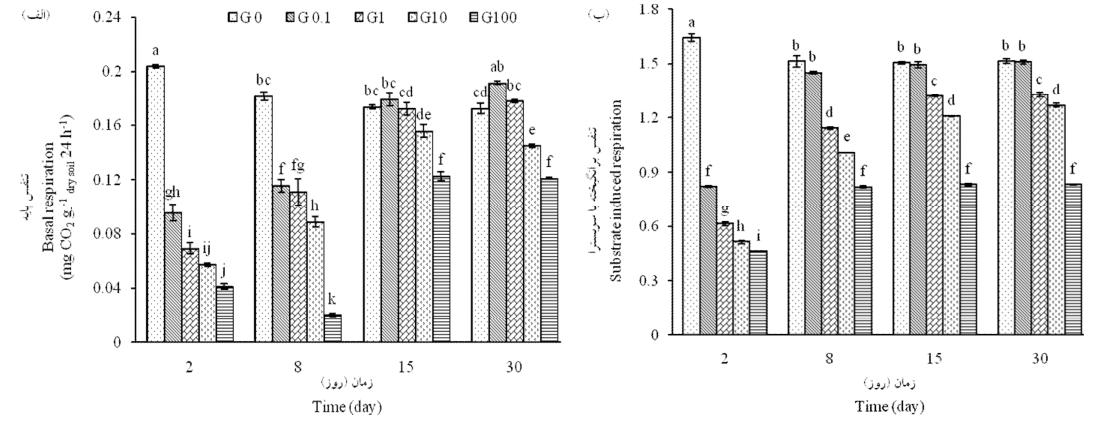
تأثیر سطوح مختلف جنتامایسین بر تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک لوم شنی در شکل ۲ نشان داده شده است. مقدار تنفس پایه در تیمار شاهد پس از گذشت ۲ روز بیش‌ترین مقدار بود و تیمارهای دریافت‌کننده جنتامایسین اختلاف کاهشی معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان دادند. مقدار تنفس پایه پس از گذشت ۲ روز در تیمارهای دریافت‌کننده سطوح ۰/۱، ۱ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین نسبت به سایر زمان‌ها کم‌ترین مقدار بود و نسبت به تیمار شاهد ۵۳، ٦٦ و ۷۲ درصد کاهش نشان داد. تیمار دریافت‌کننده سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین کم‌ترین مقدار تنفس پایه را در روز ۸ ام نشان داد. همان‌طور که در شکل ۲ الف مشخص است، مقدار تنفس پایه پس از گذشت ۸ روز دوباره افزایش نشان داد و در تیمار سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین نیز در زمان ۱۵ روز مقدار تنفس پایه افزایش داشت. مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا نیز روند تقریباً مشابهی را با تنفس پایه نشان داد و کم‌ترین مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در روز ۲ ام انکوباسیون مشاهده شد. مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا پس از گذشت ۲ روز در تمامی سطوح دریافت‌کننده جنتامایسین اختلاف کاهشی معنی‌دار با تیمار شاهد نشان دادند. اما پس از آن در زمان‌های ۸، ۱۵ و ۳۰ روز، مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در سطح ۰/۱ جنتامایسین اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد (شکل ۲ ب).

اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم بر تنفس میکروبی خاک‌ها: در شکل ۳ تأثیر تری‌متوپریم بر تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در یک خاک رسی نشان داده شده است. تنفس پایه پس از گذشت ۲ روز در سطوح مختلف تری‌متوپریم اختلاف کاهشی معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان دادند و کم‌ترین مقدار تنفس پایه در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم مشاهده شد. پس از گذشت ۸ روز، مقدار تنفس پایه در تمامی تیمارها نسبت به روز ۲ ام کاهش نشان داد. مقدار تنفس پایه در روز ۸ ام آزمایش در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم نسبت به تیمار شاهد به‌ترتیب ۵۱، ۵۵، ۵۹ و ۸۹ درصد کاهش داشت. اما با ادامه آزمایش، مقدار تنفس پایه در تیمارهای دریافت‌کننده تری‌متوپریم دوباره افزایش نشان داد و پس از گذشت ۳۰ روز نیز اختلاف قابل‌توجهی در تنفس پایه با زمان ۱۵ روز مشاهده نشد.



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف جنتامایسین بر تنفس میکروبی پایه (الف) و برانگیخته با سوبسترا (ب) در طول دوره آزمایش در خاک رسی (واحد تنفس پایه و تنفس برانگیخته با سوبسترا و همچنین راهنمای شکل در مورد الف و ب در تمامی شکل‌ها یکسان هستند).

Figure 1. The effect of different concentration of gentamicin on basal and substrate induced respiration during the experiment in clay soil (the unit of basal and substrate induced respiration and the legend in a and b are similar in all figures).



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف جنتامایسین بر تنفس میکروبی پایه و برانگیخته با سوبسترا در طول دوره آزمایش در خاک لوم شنی.

Figure 2. The effect of different concentration of gentamicin on basal and substrate induced respiration during the experiment in sandy loam soil.

لیو و همکاران (۲۰۰۹) نیمه عمر (DT_{50})[1] آنتی‌بیوتیک تری‌متروپریم را بین ۲ تا ۵ روز گزارش نمودند (۱۲)، بنابراین بازیافت فعالیت‌های تنفس خاک بعد از گذشت ۸ روز تا حدودی می‌تواند به‌دلیل کاهش چشمگیر این آنتی‌بیوتیک در خاک باشد. از طرفی عدم تفاوت چشمگیر در تنفس پایه می‌تواند به‌دلیل حساسیت پایین روش اندازه‌گیری و یا تغییر در ساختار جامعه میکروبی باشد که اثرات منفی را جبران می‌کند (۵). تشکیل بیوفیلم‌های میکروبی به‌وسیله پلیمرهای خارج سلولی نیز توانایی مقاومت به نفوذ مواد سمی را افزایش می‌دهد. از طرفی کاهش اثر آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند به‌دلیل افزایش در تعداد ریزجانداران غیرحساس به آنتی‌بیوتیک و همچنین مقاومت ریزجانداران خاک نسبت داده شود باشد (۵ و ۲۷).

1- Dissipation half-lives

تری‌متوپریم آنتی‌بیوتیکی است که منجر به ایجاد حالت سکون زیستی[1] می‌شود و ایجاد حالت سکون زیستی بر رشد ریزجاندارانی از خاک که در حالت کمون (سکون) هستند تأثیرگذار نیست. ریزجانداران در حالت کمون تنفس را به‌وسیله اکسید کردن منابع انرژی داخلی حفظ می‌کنند (۲۷). به‌طورکلی حساسیت به آنتی‌بیوتیک در یک جامعه باکتریایی، به ساختار جامعه میکروبی (ترکیب، فراوانی، تراکم) و توزیع مکانی اعضای جامعه میکروبی وابسته است (۲۲).

مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در خاک رسی در تمامی زمان‌ها در تیمار شاهد بیش‌ترین مقدار بود (شکل ۳ ب). کم‌ترین مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در تیمارهای دریافت‌کننده تری‌متوپریم در روز ۸ ام مشاهده شد. مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در روز ۸ ام به‌ترتیب در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم ۸٤، ۸۷، ۸۹ و ۹۱ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش نشان داد.

تأثیر سطوح مختلف تری‌متوپریم بر تنفس پایه میکروبی و تحریک شده با سوبسترا در خاک لوم شنی در شکل ٤ نشان داده شده است. تنفس پایه پس از گذشت ۲ روز در تیمار شاهد بیش‌ترین مقدار بود و اختلاف افزایشی معنی‌داری را با تیمارهای دریافت‌کننده سطوح مختلف تری‌متوپریم نشان داد. تنفس برانگیخته با سوبسترا نیز پس از گذشت ۲ روز در تیمار شاهد بیش‌ترین مقدار بود و در تمامی تیمارهای دریافت‌کننده تری‌متوپریم اختلاف کاهشی معنی‌داری با تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ٤ الف). کم‌ترین مقدار تنفس برانگیخته با سوبسترا در تیمارهای دریافت‌کننده تری‌متوپریم در روز ۲ ام مشاهده شد که در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم به‌ترتیب نسبت به شاهد ٦٤، ٦۷، ۸۰ و ۸٤ درصد کاهش نشان داد و پس از آن روند افزایشی تا روز ۱۵ ام مشاهده شد و تا روز ۳۰ ام تقریباً ثابت شد (شکل ٤ ب). به‌طورکلی، بازیافت فعالیت‌های زیستی پس از افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها وابسته به غلظت آن‌ها است. هرچه غلظت آنتی‌بیوتیک پایین‌تر باشد، بازیافت فعالیت‌های تنفسی سریع‌تر صورت می‌گیرد. یو و همکاران (۲۰۱٤) گزارش نمودند که در غلظت‌های بالای آنتی‌بیوتیک‌ها (٦۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) برخی از ویژگی‌های زیستی خاک حتی پس از ۱۲۰ روز نیز بازیافت نشدند (۳۲).

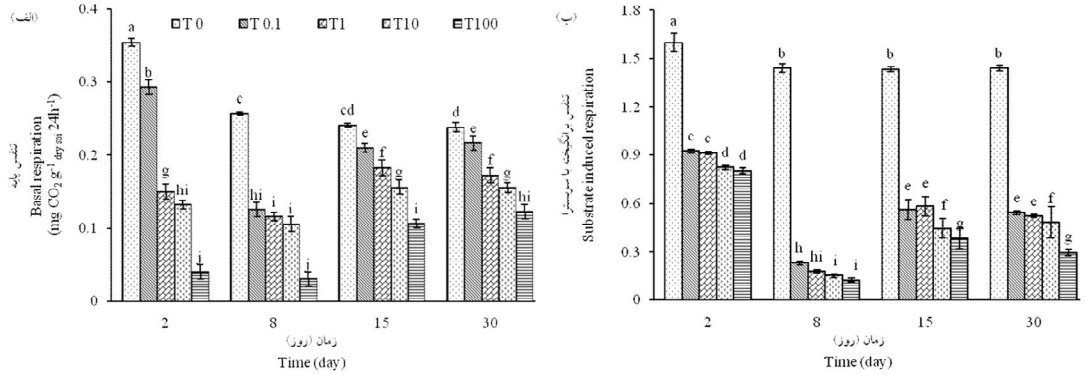
قابلیت دسترسی و فراهمی زیستی آنتی‌بیوتیک‌ها با افزایش زمان تماس با خاک کاهش می‌یابد زیرا واکنش‌های جذب سطحی و همچنین پخش آنتی‌بیوتیک‌ها به درون منافذ میکرو و نانو سبب می‌شود که برای بسیاری از ریزجانداران خاک غیرقابل دسترس شوند. این فرایندها معمولاً تحت عنوان ترسیب خلاصه می‌شوند و سمیت حاد آنتی‌بیوتیک‌ها را کاهش می‌دهند اما زمان اقامت آن‌ها را در خاک به‌وسیله تولید و ذخیره‌سازی این ترکیبات در شکلی که قابل دسترس زیستی نیستند را طولانی می‌کند (۱۷ و ۳۳).

بنابراین نتایج بیانگر این است که افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک منجر به کاهش تنفس پایه و برانگیخته با سوبسترا در خاک رسی و لوم شنی می‌شود و همچنین تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت‌های تنفسی خاک به زمان وابسته است. تیله- برون و بک (۲۰۰۵) نیز گزارش نمودند که گسترش زمان انکوباسیون از ۲٤ به ٤۸ ساعت منجر به تغییر تنفس برانگیخته با سوبسترا می‌شود (۲۷). تأثیر آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک‌های رسی و لوم شنی بر فعالیت‌های تنفس خاک متفاوت بود. ضرایب جذب آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک رسی بیش‌تر از خاک لوم شنی می‌باشد. غلظت مواد آلی خاک و کانی‌های رسی که از اجزای شناخته شده خاک

1- Biostasis

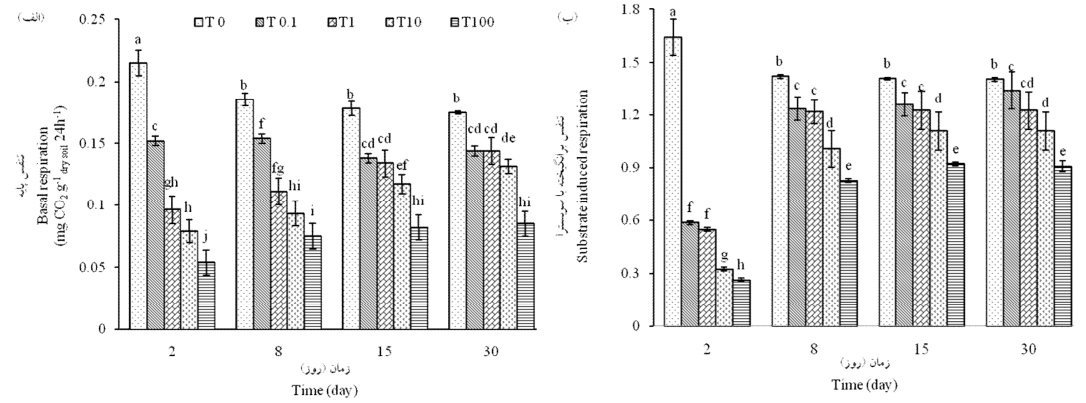
به‌عنوان مکان‌های جذب ترجیحی برای آنتی‌بیوتیک‌ها محسوب می‌شوند در خاک رسی در مقایسه با خاک شنی بیش‌تر است که سبب کاهش بخش قابل دسترس زیستی آن‌ها می‌شود (۲۵).

بنابراین به‌نظر می‌رسد پس از افزودن آنتی‌بیوتیک‌ها به خاک رسی به‌دلیل جذب آن‌ها بر روی اجزای خاک، در ابتدای آزمایش تأثیر چشمگیری در فعالیت‌های تنفسی مشاهده نشد و اما در خاک لوم شنی به‌دلیل جذب کم‌تر و بیش‌تر بودن بخش قابل دسترس زیستی آن‌ها، اثر آنتی‌بیوتیک‌ها در همان ابتدای آزمایش پس از گذشت ۲ روز مشاهده شد. به‌طور کلی متابولیت‌های حاصل از تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها ممکن است از نظر تمایل به جذب بر روی ذرات خاک با آنتی‌بیوتیک اولیه مشابه باشند و یا تمایل جذب کم‌تری داشته باشند (۲۹). در نتیجه زمانی که آنتی‌بیوتیک وارد خاک می‌شود ممکن است بر اثر تجزیه قابلیت انحلال و در نتیجه فراهمی زیستی آن‌ها افزایش یابد. این مورد زمانی‌که متابولیت‌های حاصل از تجزیه فعالیت ضدمیکروبی خود را حفظ می‌کنند بر فعالیت‌های زیستی خاک اثرگذارند. جذب سطحی ممکن است پیامدهای منفی آنتی‌بیوتیک‌ها را در خاک خنثی کند اما تحت شرایط مختلف در خاک آنتی‌بیوتیک‌های جذب سطحی شده ممکن است آزاد شوند و فراهمی زیستی آن‌ها افزایش پیدا کند. بنابراین کاهش فعالیت‌های تنفسی در خاک رسی پس از گذشت ۸ روز می‌تواند به تجزیه آنتی‌بیوتیک‌ها، تولید متابولیت‌های اثرگذار و همچنین افزایش فراهمی زیستی آن‌ها مرتبط باشد. با توجه به این‌که آنتی‌بیوتیک‌ها دارای هر دو بخش آب‌دوست و آب‌گریز می‌باشند، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که جذب آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی خاک در نتیجه اثرات متقابل آن‌ها با بخش رس خاک و مواد آلی خاک است (۱۰). مواد آلی در خاک فراهمی گروه‌های عاملی (-COO-) که در جذب سطحی آنتی‌بیوتیک‌ها دخیل هستند را افزایش می‌دهد (۱۹). بنابراین خاک رسی با ۰/٦۷ درصد ماده آلی در جذب آنتی‌بیوتیک‌ها اثرگذار می‌باشند. اما مواد آلی محلول می‌توانند اثر مخالفی داشته باشند و در واجذب آنتی‌بیوتیک‌ها از خاک اثرگذار باشند (١٤). از طرفی بافت خاک، ظرفیت تبادل کاتیونی و محتوای اکسیدهای آهن نیز از مهم‌ترین فاکتورهای تعیین‌کننده ضریب توزیع آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک هستند که با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک و آنتی‌بیوتیک‌ها (مقدار و نوع رس و مواد آلی) و شیمی محلول خاک تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (۱۰). در همین رابطه هرون و همکاران (۱۹۹۸) گزارش نمودند که اثرات آنتی‌بیوتیک‌های نئومایسین و تیواسترپتون بر روی ریزجاندران خاک اساساً به‌وسیله جذب و قابلیت دسترسی زیستی آن‌ها تحت‌تأثیر قرار می‌گیرد (۹).



شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف تری‌متوپریم بر تنفس میکروبی پایه و برانگیخته با سوبسترا در طول دوره آزمایش در خاک رسی.

Figure 3. The effect of different concentration of trimethoprim on basal and substrate induced respiration during the experiment in clay soil.



شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف تری‌متوپریم بر تنفس میکروبی پایه و برانگیخته با سوبسترا در طول دوره آزمایش در خاک لوم شنی.

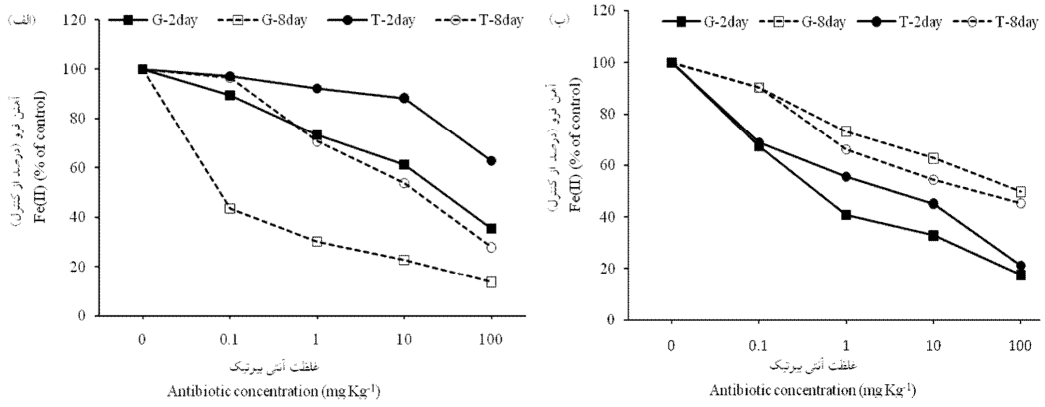
Figure 4. The effect of different concentration of trimethoprim on basal and substrate induced respiration during the experiment in sandy loam soil.

اثر دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و تری‌متوپریم بر کاهش میکروبی آهن فریک خاک‌ها: با توجه به این‌که اثرات بازدارنده قوی از آنتی‌بیوتیک‌ها برای خاک لوم شنی بعد از ۲ روز و در خاک رسی بعد از ۸ روز مشاهده شد، این بخش از آزمایش در روزهای ۲ ام و ۸ ام انجام گرفت. در خاک رسی در سطوح مختلف هر دو آنتی‌بیوتیک، سهم آهن فرو نسبت به تیمار شاهد در روز ۲ ام بیش‌تر از روز ۸ ام بود (شکل ۵). در رابطه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین در روز ۲ ام با افزایش سطوح آنتی‌بیوتیک، سهم آهن فرو خاک نسبت به شاهد کاهش بیش‌تری را نشان داد. به‌طوری‌که آهن فرو در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین به‌ترتیب ۸۹، ۷۳، ٦١ و ۳۵ از آهن فرو در تیمار شاهد بود. در روز ۸ ام این سهم به ٤۳، ۳۰، ۲۳ و ۱۳ درصد به‌ترتیب در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جنتامایسین رسید، که نسبت به روز ۲ ام در تمامی سطوح جنتامایسین کاهش نشان داد. در رابطه با آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم سهم آهن فرو از کل آهن فرو موجود در تیمار شاهد در روز ۲ ام به ۹۷، ۹۲، ۸۸ و ٦٢ درصد و در روز هشتم به ۹٦، ۷۱، ۵۳ و ۲۸ به‌ترتیب در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تری‌متوپریم رسید (شکل ۵ الف). همان‌طور که مشخص است باکتری‌های کاهنده آهن فریک در خاکی که تحت‌تأثیر تری‌متوپریم بوده‌اند کم‌تر تحت‌تأثیر اثر منفی قرار گرفته که به‌دلیل تفاوت در عملکرد این دو آنتی‌بیوتیک است. تری‌متوپریم منجر به ایجاد حالت

سکون زیستی[1] می‌شود و یک اثر سمیت زیستی[2] را را ایجاد نمی‌کند (۲۷). اما جنتامایسین دارای عملکرد باکتری‌کشی است که منجر به از بین رفتن ریزجانداران خاک می‌شود و با شدت بیش‌تری اثرگذار است (۷).

در خاک لوم شنی بیش‌ترین تأثیر دو آنتی‌بیوتیک بر سهم آهن فرو در روز ۲ ام بود. سهم آهن فرو از کل آهن فرو موجود در خاک در تیمار شاهد در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ جنتامایسین به‌ترتیب در روز ۲ ام ٦٧، ٤١، ۳۳ و ۱۷ درصد و در روز ۸ ام ۹۰، ۷۳، ٦۳ و ۵۰ درصد بود. در رابطه با آنتی‌بیوتیک تری‌متوپریم در خاک لوم شنی پس از گذشت ۲ روز سهم آهن فرو از کل آهن فرو موجود در خاک شاهد ٦۹، ۵۵، ٤۵ و ۲۱ درصد و در روز ۸ ام ۹۰، ٦٦، ٥٤ و ٤۵ درصد به‌ترتیب در سطوح ۰/۱، ۱، ۱۰ و ۱۰۰ تری‌متوپریم بود. با توجه به این‌که بیش‌ترین مقدار آهن فرو در نمونه کنترل مشاهده شد، بنابراین این احتمال وجود ندارد که علت کاهش در مقدار آهن فرو در تیمارهای دریافت‌کننده آنتی‌بیوتیک به‌دلیل کمبود در آهن فریک با قابلیت کاهش زیستی در خاک باشد. اگرچه این تست به‌منظور بررسی فعالیت میکروبی کلی خاک‌ها طراحی شد، اما فعالیت قارچ‌های خاک در اولین مرحله مصرف اکسیژن محدود می‌شود و تنها باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری به تنهایی مسئول کاهش آهن فریک می‌باشند (۲٦). بنابراین، تست کاهش آهن فریک بیانگر فعالیت تمامی ریزجانداران نیست و بیش‌تر بر فعالیت باکتری‌های خاک تکیه دارد. بنابراین، نتایج بیان شده نشانگر مدارکی است که آنتی‌بیوتیک‌ها به‌طور مؤثری از فعالیت باکتری‌های کاهنده آهن فریک خاک جلوگیری کرده‌اند.

البته باید به این مسأله توجه شود که در شرایط طبیعی آنتی‌بیوتیک‌ها به شکل استانداردهای خالص، مانند چیزی که در این مطالعه استفاده شده، به خاک اضافه نمی‌شوند و همراه با کود دامی و لجن فاضلاب می‌باشند. اثرات آنتی‌بیوتیکی در حضور این کودهای آلی تغییر خواهد یافت. کودها بر پی‌اچ خاک اثر می‌گذارند و جذب آنتی‌بیوتیک‌های قابل یونیزاسیون بر روی اجزای خاک را تغییر می‌دهند (۲۸). به‌طور کلی پی‌اچ پایین و مواد آلی بالا در خاک اثر مثبتی را بر جذب آنتی‌بیوتیک‌ها دارند (٤) و بنابراین ممکن است تأثیر منفی آنتی‌بیوتیک‌ها در شرایط واقعی بسیار بیش‌تر از نتایج حاصل از این مطالعه باشد.



شکل ۵- اثر دو آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و تری‌متوپریم بر درصد آهن فرو در دو خاک رسی (الف) و لوم شنی (ب) در زمان‌های ۲ و ۸ روز.

Figure 5. The effect of gentamicin and trimethoprim on percent of Fe(II) in two soils, clay (a) and sandy loam (b) at 2 and 8 days.

1- Biostasis
2- Biotoxic

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر آن است که دو نوع آنتی‌بیوتیک جنتامایسین و تری‌متوپریم در تمامی سطوح سبب کاهش معنی‌داری در فعالیت‌های میکروبی خاک شامل تنفس پایه، تنفس برانگیخته با سوبسترا و کاهش آهن فریک می‌شوند. این دو آنتی‌بیوتیک در هر دو خاک رسی و لوم شنی اثرگذار بودند ولی به‌دلیل تفاوت در ویژگی‌های جذب سطحی این دو خاک که منجر به فراهمی زیستی متفاوت از این آنتی‌بیوتیک‌ها شد، تأثیر متفاوتی را نشان دادند. استفاده از تست کاهش آهن فریک در این پژوهش نشان داد که این تست برای تعیین پیامدهای آنتی‌بیوتیک‌های دارویی بر ریزجانداران خاک مناسب به‌نظر می‌رسد. تفاوت در کارکرد آنتی‌بیوتیک‌ها نیز می‌تواند سبب ایجاد تأثیر متفاوتی بر ویژگی‌های زیستی خاک شود. به‌طورکلی می‌توان گفت که پیامدهای بازدارندگی آنتی‌بیوتیک‌ها بر فعالیت‌های میکروبی خاک‌ها به ویژگی‌های خاک‌ها و مقدار سمیت و نوع آنتی‌بیوتیک‌ها و همچنین جامعه میکروبی خاک و فعالیتشان بستگی دارد. بنابراین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند در طولانی‌مدت به‌عنوان آلودگی‌های نوظهور بر سلامت جامعه میکروبی خاک اثرگذار باشد. بنابراین بهتر است که به‌منظور کاهش خطر آلودگی‌های زیست‌محیطی جوانب احتیاط در رابطه با استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان داروهای مورد استفاده در انسان و دام رعایت شود.

در نهایت به‌نظر می‌رسد که با توجه به پیچیدگی رفتار آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک‌های با ویژگی‌های متفاوت و همچنین پراکنش‌های متفاوت ریزجانداران در خاک، تنها بررسی اثر آنتی‌بیوتیک‌ها بر ویژگی‌های زیستی خاک کافی نبوده و به‌منظور کسب نتایج جامع‌تر و روشن‌تر در پژوهش‌های بعدی تمامی ویژگی‌های خاک از دیدگاه‌های مختلف مورد بررسی قرار گیرند.

منابع

1.Agarwal, S., Agarwal, A., and Apple, D.J. 2002. Textbook of Ophthalmology. Lippincott Williams and Wilkins. The University of Michigan. 1: 2098.

2.Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. P 831-871, In: A.L. Page, R.H. Miller and D.R. Keeney (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy Monograph.

3.Anderson, T.H., and Domsch, K.H. 1990. Application of eco-physiological quotient (qCO_2 and Dq) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. Soil Biol. Biochem. 22: 251-255.

4.Boxall, A.B.A., Blackwell, P., Cavallo, R., Kay, P., and Tolls, J. 2002. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. Toxicol. Lett. 131: 19-28.

5.Campos, J.L., Garrido, J.M., Mendez, R., and Lema, J.M. 2001. Effect of two broad-spectrum antibiotics on activity and stability of continuous nitrifying system. Appl. Biochem. Biotechnol. 95: 1-10.

6.Conkle, J.L., and White, J.R. 2012. An initial screening of antibiotic effects on microbial respiration in wetland soils. J. Environ. Sci. Health A. 47: 1381-1390.

7.Ding, C., and He, J. 2010. Effect of antibiotics in the environment on microbial populations. Appl. Microbiol. Biotechnol. 87: 925-941.

8.Gonzalez, L.S., and Spencer, J.P. 1998. Aminoglycosides: a practical review. Am Fam Physician. 58: 8. 1811-20.

9.Herron, P.R., Toth, I.K., Heilig, G.H.J., Akkermans, A.D.L., Karagouni, A., and Wellington, E.M.H. 1998. Selective effect of antibiotics on survival and gene transfer of Streptomycetes in soil. Soil Biol. Biochem. 30: 673-677.
10.Jones, A.D., Bruland, G.L., Agrawal, S.G., and Vasudevan, D. 2005. Factors influencing the sorption of oxytetracycline to soils. Environ Toxicol Chem. 24: 4. 761-770.
11.Kümmerer, K. 2003. Significance of antibiotics in the environment. J. Antimicrobial. Chemotherapy. 52: 1. 5-7.
12.Liu, F., Ying, G.G., Tao, R., Zhao, J.L., Yang, J.F., and Zhao, L.F. 2009. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. Environmen. Pollut. 157: 1636-1642.
13.Liu, F., Ying, G.G., Yang, J.F., Zhou, L.J., Tao, R., Wang, L., Zhang, L.J., and Peng, P.A. 2010. Dissipation of sulfamethoxazole, trimethoprim and tyrosine in a soil under aerobic and anoxic conditions. Environ. Chem. 7: 370-376.
14.Loke, M.L., Tjørnelund, J., and Halling-Sørensen, B. 2002. Determination of the distribution coefficient (log K_d) of oxytetracycline, tylosin A, olaquindox and metronidazole in manure. Chemosphere. 48: 351-361.
15.Roose-Amsaleg, C., and Laverman, A.M. 2016. Do antibiotics have environmental side-effects? Impact of synthetic antibiotics on biogeochemical processes. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 23: 4000-4012.
16.Rosendahl, I., Siemens, J., Kindler, R., Groeneweg, J., Zimmermann, J., Czerwinski, S., Lamshoeft, M., Laabs, V., Wilke, B.M., Vereecken, H., and Amelung, W. 2012. Persistence of the fluoroquinolone antibiotic difloxacin in soil and lacking effects on nitrogen turnover. J. Environ Qual. 41: 1275-1283.
17.Sarmah, A.K., Meyer, M.T., and Boxall, A.B.A. 2006. A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. Chemosphere. 65: 725-759.
18.Schmieder, R., and Edwards, R. 2012. Insights into antibiotic resistance through metagenomic approaches. Future Microbiol. 7: 73-89.
19.Sibley, S.D., and Pedersen, J.A. 2008. Interaction of the macrolide antimicrobial clarithromycin with dissolved humic acid. Environ. Sci. Technol. 42: 422-428.
20.Song, W., and Guo, M. 2014. Residual Veterinary Pharmaceuticals in Animal Manures and Their Environmental Behaviors in Soils. P 23-52, In: Z. He and H. Zhang (Eds.), Applied Manure and Nutrient Chemistry for Sustainable Agriculture and Environment.
21.Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H., Soltanpour, P.N., Tabatabai, M.A., Johnson, C.T., and Sumner, M.E. 1996. Methods of Soil Analysis: Part 3-Chemical Methods. Soil Science Society of America, Washington, DC.
22.Stewart, P.S. 2002. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. Int. J. Med. Microbiol. 292: 107-113.
23.Stookey, L.L. 1970. Ferrozine- a new spectrophotometric reagent for iron. Anal. Chim. 42: 779-781.
24.Thiele-Bruhn, S. 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils - a review. J. Plant Nutr. Soil Sci. 166: 145-167.
25.Thiele-Bruhn, S., Seibicke, T., Schulten, H.R., and Leinweber, P. 2004. Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions. J. Environ. Qual. 33: 1331-1342.
26.Thiele-Bruhn, S. 2005. Microbial inhibition by pharmaceutical antibiotics in different soils-dose-response relations determined with the iron (III) reduction test. Environment Toxicol Chem. 24: 869-876.
27.Thiele-Bruhn, S., and Beck, I.C. 2005. Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. Chemosphere. 59: 457-465.
28.Wang, S., and Wang, H. 2015. Adsorption behavior of antibiotic in soil environment: A critical review. Front. Environ. Sci. Eng. 9: 565-574.

29. Wegst-Uhrich, S.R., Navarro, D.A.G., Zimmerman, L., and Aga, D.S. 2014. Assessing antibiotic sorption to soil: A literature review and new case studies on sulfonamides and macrolides. Chem. Cent. J. 8: 5.
30. Wei, X., Wu, S.C., Nie, X.P., Yediler, A., and Wong, M.H. 2009. The effects of residual tetracycline on soil enzymatic activities and plant growth. J. Environ. Sci. Health Part B. 44: 461-471.
31. Welp, G., and Brummer, G.W. 1995. Iron(III) reduction test. P 296-298, In: K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic, London, UK.
32. Yu, V., Akimenko, K., Kazeev, Sh., and Kolesnikov, S.I. 2014. The impact of antibiotics (benzylpenicillin, and nystatin) on the biological properties of ordinary Chernozems. Eurasian Soil Sci. 47: 9. 910-916.
33. Zarfl, C., Klasmeier, J., and Matthies, M. 2009. A conceptual model describing the fate of sulfadiazine and its metabolites observed in manure-amended soils. Chemosphere. 77: 720-726.

J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 7(4), 2018
http://ejsms.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Influence of two type of pharmaceutical antibiotics on some biological properties of clay and sandy loam soils

***N. Ghorbanzadeh[1], A. Shaabani Rufchai[2] and H. Pandi[2]**
[1]Assistant Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, University of Guilan,
[2]M.Sc. Student, Dept. of Soil Science and Engineering, University of Guilan
Received: 01/15/2017; Accepted: 10/04/2017

Abstract
Background and Objectives: During the last few years, the misapplication and overdose of pharmaceutical antibiotics has become a major problem in relation to destruction and pollution of different ecosystems. Soil is one of the biomes that because of receiving animal manures, severely affected by these materials. As respects that soil microbial activities have a direct relationship with the health and soil quality, so in this research the effect of two pharmaceutical antibiotics gentamicin and trimethoprim on microbial activity of clay and sandy loam soils was studied.
Materials and Methods: Two soils with different texture that had received any manure fertilizer throughout the last decades were sampled (0-25 cm depth). The different concentrations of antibiotics (0.1, 1, 10 and 100 mg L^{-1}) were prepared from the stock solution (1000 mg L^{-1}) and were added to the soil samples. Basal respiration, substrate induced respiration and ferric iron reduction was measured in sampling time (2, 8, 18 and 30). Experiment was done in a completely randomized design with factorial arrangement and three replications. Treatments without antibiotics were considered as control.
Results: In clay soil, respiratory activity in treatments that received gentamicin showed significant difference with control after 2 days. The respiratory activity after 8 days reduced in compared with second day. The basal respiration in 0.1, 1, 10 and 100 mg Kg^{-1} gentamicin reduced 52, 66, 68 and 84% respectively in compared to control on 8^{th} day. Substrate induced respiration in different incubation times showed a similar trend to basal respiration. Basal respiration in sandy loam in the presence of gentamicin was the lowest after 2 days than any other time and after 8 days again increased. In clay soil receiving 0.1, 1, 10 and 100 mg Kg^{-1} trimethoprim, basal respiration reduced 51, 55, 59 and 89% respectively, in compared with control on 8^{th} day. In sandy loam soil in the presence of trimethoprim after 2 days, basal and substrate induced respiration showed the lowest amount and all treatments showed the significant difference with control. In clay soil in different levels of both antibiotic, the ratio of Fe(II) of control was higher in second day than 8^{th} day. In sandy loam soil, the most negative effect of antibiotics for ratio of Fe(II) was on second day. Generally, the ferric iron reducing bacteria in soils that receiving trimethoprim has been less affected by the negative impact due to difference in performance between the two antibiotics.
Conclusion: Influence of antibiotics on soil biological activity is dependent on the length of time that soil was exposed to antibiotics and also performance of antibiotic and soil properties. Soil microbial activity accepted negative impact even at low concentrations of antibiotics. In order to reduce the risk of environmental contamination, caution should be exercised regarding the use of antibiotics in human and livestock.

Keywords: Gentamicin, Trimethoprim, Microbial respiration, Ferric iron reduction

* Corresponding Author; Email: nasrin.ghorbanzadeh@gmail.com