شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله: آلودگی زیست‌بوم، سلامت انسان و زیست‌پالایی

بررسی جذب مواد دارویی تتراسایکلین و تریکلوزان در گیاه تربچه

آیدا معدنی ملاک[1*]، امیر لکزیان[2]، الهام خداوردی[3]، غلامحسین حق‌نیا[2]

[1] دانشجوی دکتری گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[2] استاد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[3] دانشیار گروه علوم پزشکی مشهد

چکیده

مقادیر زیاد آنتی‌بیوتیک در خاک بر جامعه میکروبی و فعالیت آنزیم‌های خاک و در نهایت بر رشد گیاهان تاثیر منفی دارد. به منظور بررسی تاثیر آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و تریکلوزان موجود در لجن فاضلاب بر رشد گیاه تربچه آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو نوع آنتی‌بیوتیک (غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تتراسایکلین و غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تریکلوزان) و شاهد بودند. نتایج نشان داد که اثر آنتی‌بیوتیک بر میزان وزن خشک اندام‌هوایی و غده و غلظت این دو آنتی‌بیوتیک در گیاه تربچه معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$). اثرات منفی آنتی‌بیوتیک تریکلوزان بر وزن خشک اندام‌هوایی و غده بیشتر از تتراسایکلین بود. بیشترین غلظت آنتی‌بیوتیک در گیاه مربوط به تتراسایکلین با مقدار ۱۶۹ میکروگرم در کیلوگرم بود. نتایج این پژوهش نشان داد که حضور آنتی‌بیوتیک‌های تتراسایکلین و تریکلوزان حتی در غلظت‌های کم در خاک تاثیر منفی بر پارامترهای رشدی گیاه تربچه داشت.

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، آلودگی، لجن فاضلاب، عملکرد

مقدمه

داروها ترکیب‌های بسیار مهم و پر مصرف در زندگی مدرن امروزی به شمار می‌آیند. افزایش جمعیت جهان و بهبود کیفیت زندگی را می‌توان از جمله دلایل افزایش رو به رشد استفاده از ترکیب‌های دارویی دانست (Daughton، ۲۰۰۳). گزارش شده که مصرف سالانه ترکیب‌های دارویی معمول بالغ بر هزاران تن در جهان است (Vander Aa و همکاران، ۲۰۱۱). آنتی بیوتیک‌ها از جمله مواد دارویی پر مصرف بوده که علاوه بر مصرف توسط انسان، به‌طور گسترده‌ای برای درمان، پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود رشد حیوانات به خصوص در دام‌ها استفاده می‌شوند (Sarmah و همکاران، ۲۰۰۶). به طورکلی رهاسازی ترکیب‌های دارویی و متابولیت‌های آن‌ها به محیط زیست از طریق تخلیه فاضلاب‌ها، پساب‌های بیمارستانی، صنعتی و دارویی، فعالیت‌های مربوط به پرورش دام و طیور و دفع مستقیم لجن فاضلاب و کاربرد جامدهای زیستی به زمین‌های مختلف صورت می‌گیرد (Du و Liu، ۲۰۱۱). بنابراین آنتی‌بیوتیک‌های کشاورزی ممکن است بهره‌وری و عملکرد اکوسیستم خاک را تحت تأثیر قرار دهند (Cao و Wang، ۲۰۱۵). ورود آنتی‌بیوتیک‌ها به محیط خاک باعث تغییر در ترکیب جمعیتی جوامع میکروبی، تغییر در چرخه زیست‌محیطی کربن و عناصر غذایی می‌شوند (Liu و همکاران، ۲۰۱۵).

از طرفی خاک به عنوان یک مخزن برای داروهای آزاد شده در محیط زیست عمل می‌کند. در حال حاضر، درک علمی از رفتار آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک و گیاهان بسیار ناقص و پیچیده است (Winker، ۲۰۱۰). اخیرا گزارش شده است که داروها توسط گیاهان جذب می‌شوند و بدین طریق وارد چرخه غذایی شده و به انسان‌ها و حیوانات منتقل می‌شوند (Goldstein و همکاران، ۲۰۱۴). به طوری‌که حتی به بروز سمیت دارویی در بعضی گیاهان اشاره شده است. درجه ایجاد چنین سمیتی می‌تواند بسته به نوع گونه گیاهی و ویژگی‌های فیزیولوژی گیاه، ویژگی‌های آنتی بیوتیک، سنتیک جذب آنتی بیوتیک، مقدار مواد آلی و اسیدیته خاک تغییر کند (Carvalho و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین حضور مواد دارویی درخاک‌های زراعی علاوه بر تاثیر بر جمعیت میکروبی خاک می‌تواند بر رشد و نمو گیاهان نیز تاثیرگذار باشد (Kumar و همکاران، ۲۰۱۲).

* ایمیل نویسنده مسئول: madani.aida@yahoo.com

با توجه به این نکته که در آینده‌ای نزدیک با گفتمان کاربرد گسترده پساب‌ها و بقایای زیستی ناشی از فاضلاب در کشاورزی به ویژه در مناطق خشک مواجه هستیم، (Martin Ruel و همکاران، ۲۰۱۲) این پژوهش با هدف بررسی تاثیر دو نوع آنتی بیوتیک رایج در ضایعات زیستی بر پارامترهای رشدی گیاه تربچه و غلظت این دو ترکیب در گیاه پس از دوره کشت انجام شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۷ اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو نوع آنتی بیوتیک (تتراسایکلین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و تریکلوزان به میزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) (خریداری شده از شرکت سیگما آلدریچ) و شاهد بوده که هر کدام دارای سه تکرار بودند. خاک مورد مطالعه از پردیس دانشگاه فردوسی (۳۰-۰ سانتی‌متری) برداشت شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک حاصل طبق روش‌های مرسوم آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. بدین‌صورت که هدایت الکتریکی و pH به ترتیب در عصاره و گل اشباع و با استفاده از دستگاه‌های هدایت سنج الکتریکی (JENWAY 4310) و pH متر (METROHM 632)، کربن آلی به روش هضم تر والکلی و بلاک، نیتروژن کل به روش کجلدال، فسفر فراهم خاک به روش اولسن، پتاسیم قابل دسترس به روش استات آمونیوم، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی، رطوبت ظرفیت زراعی به روش وزنی، بافت خاک به روش هیدرومتری و مقدار سرب، نیکل و کادمیم کل خاک نیز به روش تیزاب سلطانی اندازه‌گیری شدند. که در ابتدا حد آستانه هر کدام از این دو آنتی‌بیوتیک در لجن فاضلاب با توجه به بررسی منابع تعیین شد (این حد برای تتراسایکلین ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و برای تریکلوزان ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم بود). بمنظور آلوده کردن خاک، ابتدا مقادیر مورد نیاز برای هر یک از سطوح آنتی‌بیوتیک مورد استفاده به خاک سوخته اضافه شده و سپس این خاک با لجن فاضلاب تهیه شده از تصفیه‌خانه پرکندآباد مشهد به خوبی مخلوط شد. سپس در هر یک از گلدان‌های دو کیلوگرمی مقدار پنج درصد وزنی از لجن اضافه شد (میزان ورودی آنتی بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان به خاک به ترتیب ۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم بود). سپس تعداد ۱۰ بذر گیاه تربچه در هر گلدان (شامل دو کیلوگرم خاک) کشت شد و پس از سبز شدن و در مرحله دوبرگی به تعداد پنج عدد در هر گلدان تنک شدند. در طول دوره رشد رطوبت گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی توسط آب مقطر نگهداری شد. گیاهان پس از مدت ۳۵ روز برداشت شدند و پس از انتقال به آزمایشگاه توسط خشک کن سرمایشی خشک شدند. برای تعیین غلظت آنتی‌بیوتیک در گیاه نیز از روش استخراج از فاز جامد توسط کارتریج های HLB و توسط دستگاه LC-MS-MS استفاده شد. در نهایت رسم نمودارها با نرم افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ و تجزیه آماری با نرم افزار JMP 8 و مقایسهٔ میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۱ درصد انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به برخی از ویژگی‌های خاک در جدول (۱) ارائه گردیده است. خاک مورد بررسی دارای ماده آلی کم (کمتر از ۱ در صد) و بافت لوم بود. با توجه به کمبود عناصر غذایی پرمصرف؛ برای تامین این عناصر از سه نوع کود اوره، سوپر فسفات تریپل و سولفات پتاسیم استفاده شد.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

بافت خاک	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	هدایت الکتریکی	پ.هاش	کربنات کلسیم معادل	ماده آلی
		($mg.kg^{-1}$)		($ds.m^{-1}$)		(٪)	
لوم	۵۳۹	۸/۷	۸۹	۱/۸	۷/۲	۸	۰/۱۷

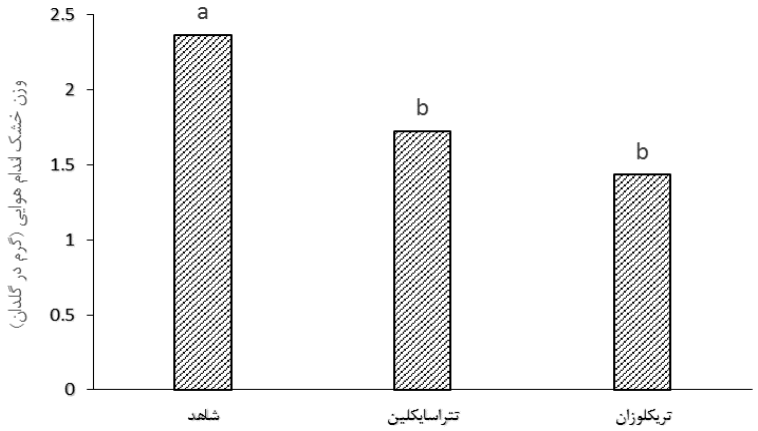
براساس نتایج تجزیه واریانس، دو نوع آنتی‌بیوتیک اثر معنی‌داری بر مقدار وزن خشک اندام‌هوایی، وزن خشک غده و غلظت این دو ترکیب در اندام‌هوایی تاثیر معنی‌دار داشت ($P<0.01$).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس دو نوع آنتی بیوتیک بر وزن خشک اندام هوایی و غده و غلظت آنتی بیوتیک در اندام هوایی گیاه تربچه

منبع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک اندام هوایی		وزن خشک غده		غلظت آنتی بیوتیک	
		میانگین مربعات	F	میانگین مربعات	F	میانگین مربعات	F
مدل	۲	۰/۶۸۰	۱۵/۶**	۱۵/۶	۱۴۶**	۲۵۴۷۶	۲۵۵**
خطای آزمایشی	۶	۰/۰۴۴	-	۰/۰۱۴	-	۹۹/۸	-

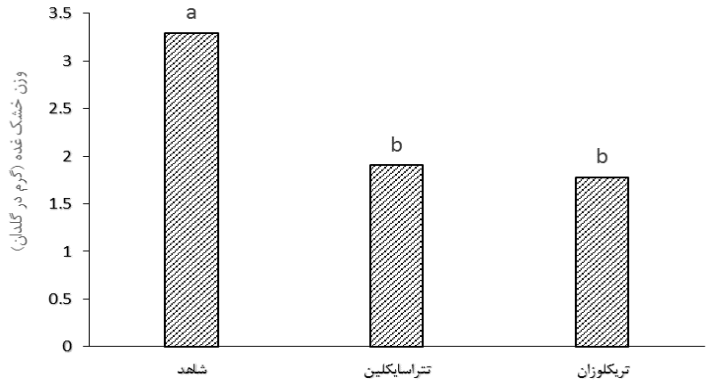
**: معنی‌دار در سطح یک درصد.

شکل (۱) اثر دو نوع آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان را بر وزن خشک اندام هوایی گیاه تربچه نشان می‌دهد. هر دو نوع آنتی‌بیوتیک باعث کاهش معنی دار وزن خشک این گیاه در مقایسه با شاهد شدند. بیشترین و کمترین وزن خشک اندام هوایی به ترتیب در دو تیمار شاهد و تریکلوزان با مقادیر ۲/۳۶ و ۱/۴۳ گرم در گلدان مشاهده شدند. دو نوع آنتی بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان به ترتیب باعث کاهش ۲۶/۹ و ۳۶/۳ درصدی وزن خشک اندام هوایی گیاه تربچه شدند. تاثیر منفی حضور آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک بر پارامترهای رشدی گیاهان در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است به عنوان مثال Adami و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که مقدار زیاد آنتی‌بیوتیک در خاک تاثیر منفی بر رشد و ارتفاع گیاه کاهو داشت. Bassil و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم آنتی‌بیوتیک در خاک باعث کاهش رشد گیاه تربچه شد. Wei و همکاران (۲۰۰۹) دلیل اصلی تاثیر منفی آنتی‌بیوتیک‌ها بر وزن خشک گیاه را کاهش فعالیت میکروبی خاک در حضور این ترکیبات اعلام کردند.



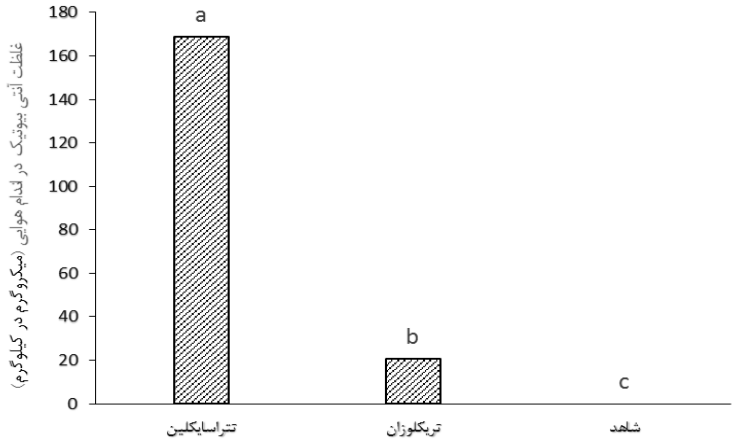
شکل ۱- مقایسه میانگین تاثیر دو نوع آنتی‌بیوتیک بر وزن خشک اندام هوایی گیاه تربچه

شکل (۲) تاثیر دو نوع آنتی بیوتیک مورد استفاده را بر وزن خشک غده گیاه تربچه نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که علاوه بر وزن خشک اندام‌هوایی؛ وزن خشک غده این گیاه نیز تحت تاثیر مقادیر آنتی بیوتیک در خاک قرار گرفته و این دو ترکیب تاثیر منفی بر وزن خشک غده داشتند و باعث کاهش معنی دار ($p<0.01$) وزن خشک غده در مقایسه با تیمار شاهد شدند. دو نوع آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان به ترتیب باعث کاهش ۴۲/۲ و ۴۵/۹ درصدی وزن خشک غده گیاه تربچه شدند. وزن خشک غده نیز از دیگر پارامترهای رشدی گیاه بوده که تحت تاثیر حضور آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک قرار گرفت. تاثیر منفی حضور انواع آنتی‌بیوتیک ها در خاک بر وزن خشک و طول ریشه گیاهان مختلف توسط محققین گزارش شده است (Michelini و همکاران، ۲۰۱۲؛ Piotrowicz-cieslak و همکاران، ۲۰۱۰).



شکل ۲- مقایسه میانگین تاثیر دو نوع آنتی‌بیوتیک بر وزن خشک غده گیاه تربچه

شکل (۳) نتایج مقایسه میانگین غلظت دو نوع آنتی بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان در اندام هوایی گیاه تربچه را نشان میدهد. غلظت هر دو نوع آنتی بیوتیک در گیاه در مقایسه با شاهد اختلاف معنی داری داشت. غلظت تتراسایکلین (۱۶۹ میکروگرم در کیلوگرم) در مقایسه با تریکلوزان (۲۰/۷ میکروگرم در کیلوگرم) در اندام هوایی گیاه تربچه بیشتر بود. تفاوت در میزان غلظت این دو ترکیب در گیاه احتملا به دلیل مقادیر و رفتارهای مختلف این دو ترکیب در خاک بوده است. در این مورد Minden و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که تاثیر آنتی بیوتیک های مختلف بر پارامترهای رشدی گیاهان و همچنین جذب آن‌ها توسط گیاه به عواملی مختلفی همچون نوع گیاه و نوع آنتی بیوتیک بستگی دارد (Minden و همکاران، ۲۰۱۷).



شکل ۳- مقایسه میانگین تاثیر دو نوع آنتی‌بیوتیک بر غلظت این دو ترکیب در اندام هوایی گیاه تربچه

نتیجه‌گیری

این پژوهش نشان داد که حضور دو نوع آنتی بیوتیک تتراسایکلین و تریکلوزان در خاک باعث کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی و غده گیاه تربچه شدند که در این بین تاثیر منفی تریکلوزان بیشتر از تتراسایکلین بود هر چند این تاثیر از نظر آماری معنی‌دار نبود. تتراسیکلین تقریبا هشت برابر تریکلوزان در گیاه تربچه جذب شد. با توجه به تاثیر منفی این ترکیبات بر رشد گیاه به نظر می‌رسد که مطالعه هر چه بیشتر عوامل موثر بر ایجاد این تاثیرات منفی ضروری به نظر میرسد.

منابع

Adami, P.F., Pelissari, A., Moraes. A.D., Modolo, A.J., Assmann, T.S., Franchin, M.F. and Cassol, L.C. 2012. Grazing intensities and poultry litter fertilization levels on corn and black oat yield. *Pesq Agrop Brasileira*, 47: 360–368.

Bassil, R., Bashour, I., Sleiman, F. and Abou-Jawdeh, Y. 2013. Antibiotic uptake by plants from manure-amended soils. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 48(7), 570-574.

Cao, J., Ji, D. and Wang, C. 2015. Interaction between earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on the degradation of oxytetracycline in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 90: 283-292.

Carvalho, P.N., Basto, M.C.P. and Almeida, C.M.R. 2012. Potential of Phragmites australisfor the removal of veterinary pharmaceuticals from aquatic media. Bioresour. Technol. 116(0):497–501.

Daughton, C. G. 2003. Cradle-to-cradle stewardship of drugs for minimizing their environmental disposition while promoting human health. I. Rational for and avenues toward a green pharmacy.Environ. Health Perspect. 111:757−774.

Du, L. and Liu, W. 2012. Occurrence, fate, and ecotoxicity of antibiotics in agro-ecosystems. A review. Agron. Sustain. Dev. 32(2):309–327.

Goldstein, M., Shenker, M. and Chefetz, B. 2014. Insights into the uptake processes of wastewater-borne pharmaceuticals by vegetables. Environmental Science Technology, 48:5593–5600

Kumar, R., Lee, J. and Cho, J. 2012. Fate, occurrence, and toxicity of veterinary antibiotics in environment. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 55(6):701–709.

Liu, Y., Bao, Y., Cai, Z., Zhang, Z., Cao, p., Li, x., and Zhou, Q. 2015. The effect of aging on sequestration and bioaccessibility of oxytetracycline in soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 20: 35-50.

Martin Ruel, S., Choubert, J.M., Budzinski, H., Miège, C., Esperanza, M. and Coquery, M. 2012. Occurrence and fate of relevant substances in wastewater treatment plants regarding Water Framework Directive and future legislations. Water Science Technology, 65(7):1179–1189.

Michelini, L., Reichel, R., Werner, W., Ghisi, R. and Thiele-Bruhn, S. 2012. Sulfadiazine uptake and effects on Salix fragilis L. and Zea mays L. plants. Water, Air, & Soil Pollution, 223(8), 5243-5257.

Minden, V., Deloy, A., Volkert, A.M., Leonhardt, S.D. and Pufal, G. 2017. Antibiotics impact plant traits, even at small concentrations. AoB Plants, *9*(2).

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.

Van der Aa, N.G.F.M, Kommer, G.J., Van Montfoort, J.E. and Versteegh, J.F.M. 2011. Demorgraphic projections of future pharmaceutical consumption in the Nethelands. Water Science Technology, 63:825-831.

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.

Winker, M. 2010. Are pharmaceutical residues in urine a constraint for using urine as a fertilizer. Sustain Sanitation Pract, 3: 18-24.

Topic for submission: Ecosystem Pollution, Human Health and Bioremediation

Investigation of tetracycline and triclosan uptake by radish

A Maadani Mallak[*1], A., Lakzian[2], A., Khodaverdi, E. [3] Haghnia, Gh.H.[2]

[1]M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Mashhad, Iran
[2] Professor, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Mashhad, Iran
[3]Associate Prof., Targeted Drug Delivery Research Center, Pharmaceutical Technology Institute, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran

Abstract

High content of antibiotics in soil have a negative effect on microbial population and activity of soil enzymes, which is a disruptive factor for plant growth. In order to investigate the effect of tetracycline and triclosan, in sewage sludge on radish growth, a completely randomized design with three replications in greenhouse conditions was performed. Treatments were two types of antibiotics (concentration 100 mg kg^{-1} tetracycline and concentration of 50 mg kg^{-1} triclosan) and control. The results showed that antibiotic effect on reduction of shoot and tuber dry weight and concentration of these compounds in radish were statistically significant ($p < 0.01$). The negative effects of triclosan antibiotics on shoot and tuber dry weight were higher than tetracycline. The highest concentration of antibiotic in shoot was belonged to tetracycline treatment with a content of 169 µg kg^{-1}. In general, this study shows that the presence of antibiotics even at low concentrations in the soil has a negative effect on plant growth parameters.

Keywords: Antibiotics, Pollution, Sewage sludge, yeild

* Corresponding author, Email: madani.aida@yahoo.com