محور مقاله: آلودگی زیست‌بوم، سلامت انسان و زیست‌پالایی

تأثیر آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر تنفس خاک و جمعیت باکتری‌های گرم منفی

معصومه حسنعلی زاده [۱*]، ناصر علی‌اصغرزاد [۲]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

[۲] استاد گروه علوم و مهندسی خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

چکیده

زمانی که میکروارگانیسم‌ها در معرض آلاینده‌ها قرار می‌گیرند تغییراتی را برای ادامه زندگی در خود ایجاد می‌کند. این تغییرات شامل تغییرات فیزیولوژیکی و ژنتیکی می‌باشند. در ابتدا تغییرات فیزیولوژیکی ایجاد می‌شود و در صورت ادامه حضور آلاینده در محیط، تغییرات ژنتیکی به‌وجود می‌آید. آنتی بیوتیک‌ها به طور گسترده در صنعت دام و کشاورزی و هم‌چنین در پزشکی مصرف دارند. اکسی‌تتراسایکلین یکی از پرمصرف‌ترین آنتی‌بیوتیک‌ها در صنعت دامداری‌ها است که از طریق فضولات آن‌ها به خاک وارد می‌شود. در این تحقیق تاثیر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکیلین (OTC) بر فعالیت میکروبی و فراوانی باکتری‌های گرم منفی در یک نمونه خاک لوم سیلتی بررسی شد. برای این منظور سطوح مختلف OTC شامل ۱۰،۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به گلدان‌های حاوی ۲ کیلوگرم خاک در ۳ تکرار اعمال شد و به مدت ۱۲۰ روز در رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه و دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوباسیون شد. نتایج نشان داد که تنفس میکروبی خاک پس از ۱۲۰ روز انکوباسیون در غلظت‌های ۱۰ تا ۴۰ میلی‌گرم آنتی‌بیوتیک بر کیلوگرم خاک، تفاوت معنی‌داری با همدیگر و با شاهد بدون آنتی‌بیوتیک نداشتند ولی در غلظت ۵۰ ، بالاترین تنفس میکروبی حاصل شد. تعداد جمعیت باکتری‌های گرم منفی با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک تا ۴۰ میلی‌گرم، افزایش یافته ولی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم مجددا کاهش یافت. باتوجه به نوع محیط کشت بکار رفته (ائوزین متیلن بلو) برای شمارش باکتری‌های گرم منفی که در ضمن برای شمارش کلیفرم‌ها نیز استفاده می‌شود، چنین به نظر میرسد که باکتری‌های افزایش یافته عمدتاً متعلق به کلیفرم‌ها باشند. این فرایند را می‌توان به ایجاد مقاومت در جامعه میکروبی خاک در مدت ۱۲۰ روز ارتباط داد.

کلمات کلیدی: آنتی‌بیوتیک، اکسی‌تتراسایکلین، تنفس خاک، باکتری‌های گرم منفی

مقدمه

آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان ترکیبات طبیعی، نیمه مصنوعی و مصنوعی با فعالیت ضدمیکروبی تعریف می‌شوند که می‌توانند به صورت تزریقی، خوراکی یا موضعی مصرف شوند. ترکیبات اصلی یا مشتقات آنتی‌بیوتیک می‌توانند علاوه بر تاثیر مستقیم بر سلامتی انسان، از طریق غیرمستقیم و با ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم، سبب آلودگی زیست‌محیطی شوند. علاوه بر این، تاثیرات منفی بر محیط زیست، موضوع بسیار نگران کننده ای است. بنابراین مصرف زیاد آنتی‌بیوتیک‌ها برای درمان انسان و حیوانات باعث توسعه باکتری‌های مقاوم شده و سلامتی انسان و حیوانات را به خطر می‌اندازد. انتقال این سویه‌ها ممکن است از طریق تماس مستقیم با حیوانات و یا از طریق زنجیره غذایی به مصرف کنندگان انجام شود (کمپر، ۲۰۰۸).

میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها بسته به هدف متفاوت است. اما میزان مصرف آنتی‌بیوتیک‌های اکسی‌تتراسایکلین و سولفومتاکسول در صنعت دام بیشترین است (مولایی و همکاران، ۲۰۱۱). در برخی از مطالعات تأثیر منفی آنتی‌بیوتیک‌ها بر فرآیندهای میکروبی نشان داده شده است. پس از انتشار در خاک، آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند در ماتریس خاک تثبیت شوند و یا ممکن است دستخوش تخریب زیستی شده و یا طی فرآیند فوتولیز تجزیه شوند. بخش بزرگی از آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک، هر دو سرنوشت را طی می‌کنند که باعث از دست رفتن فعالیت آنتی‌بیوتیکی می‌شود. پایداری آنتی‌بیوتیک‌ها در خاک، یک عامل کلیدی در تعیین اثرات نامطلوب زیست‌محیطی آن است که این پایداری نه تنها به ماهیت آنتی‌بیوتیک بلکه به ویژگی‌های خاک و نیز شرایط آب و هوایی بستگی دارد. از نظر پایداری، ماهیت آنتی‌بیوتیکی شامل مقاومت به تجزیه نوری، اتصال و جذب به کلوئیدهای خاک، تجزیه زیستی و میزان حل‌پذیری در آب مطرح می‌باشد. با این حال، تثبیت در ماتریس خاک با جلوگیری از تخریب و ایجاد پایداری مهم طولانی‌تر این ترکیبات در خاک باعث ایجاد ثبات بیشتری برای آنتی‌بیوتیک‌ها می‌شود (کومر و همکاران، ۲۰۰۱). اتصال مواد شیمیایی در خاک توسط شیب منحنی جذب ایزوترمی (Kd جامد) مشخص می شود، که نشان‌دهنده رابطه بین غلظت جذب شده و غلظت محلول در حالت تعادل است. مقادیر Kd به‌عنوان ضریب

* ایمیل نویسنده مسئول: masumehasanalizade95@tabrizu.ac.ir

توزیع شناخته می‌شوند. ترکیبات آنتی‌بیوتیک با Kd بالا به شدت به خاک جذب می‌شوند و تحرک کمتری دارند، در حالی که ترکیبات با مقادیر پایین Kd در خاک می‌توانند به صورت آزاد حضور داشته باشند و به آب‌های زیرزمینی یا سطحی منتقل می‌شوند. از سوی دیگر، آنتی‌بیوتیک‌هایی که به شدت به رس‌ها متصل می‌شوند، احتمال دارد که با رسوبات موجود در رواناب سطحی حمل شوند. میزان تحرک آنتی‌بیوتیک‌ها درصورت افزایش کربن آلی خاک، کاهش می‌یابد (تولس، ۲۰۰۱). Kd برای آنتی‌بیوتیک کلروتتراسایکلین بسیار بزرگ‌تر از تیلوسین است بنابراین کلروتتراسایکلین در مقایسه با تیلوسین با شدت بیشتری جذب کلوئیدهای خاک می‌شود. در حال حاضر رفتار جذب انواع مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها به مواد جامد (خاک، رسوبات، لجن، هوموس، کود دامی، کانی‌ها) موجود در محیط زیست، در حال بررسی است. نیمه‌عمر اکسی‌تتراسایکلین در رسوبات دریایی و در عمق ۷-۵ سانتی‌متری به بیش از ۳۰۰ روز هم می‌رسد. با توجه به اینکه نیمه‌عمر آنتی‌بیوتیک‌ها با کاهش دما و بیشتر شدن عمق افزایش می‌یابد در نتیجه می‌توان پی برد که آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند در لایه‌های عمیق خاک به مدت زیادی باقی بمانند (هکتوئن و همکاران، ۱۹۹۵). در حضور آنتی‌بیوتیک، میکروب ابتدا دچار تغییرات فیزیولوژیک شده و در صورت ادامه حضور آنتی‌بیوتیک، میکروب وارد مرحله‌ی تغییر ژنتیکی می‌شود. بسیاری از ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک قابل انتقال هستند، لذا باکتری‌ها دارای مکانیسم‌هایی برای انتقال ژن از یک باکتری به باکتری دیگر می‌باشند. طبق مطالعات چن و همکاران(۲۰۱۳) هر دو جمعیت میکروبی باکتریایی و قارچی در خاک آلوده به OTC نسبت به خاکی که آلوده به آنتی‌بیوتیک نبود، کاهش پیدا کرد. با این حال، نسبت بیومس باکتریایی به قارچها، به نفع باکتری‌ها بخصوص باکتری‌های گرم منفی در خاک بود. سمیت آنتی‌بیوتیک OTC، با اینکه باکتری‌های خاک را هدف می‌گیرد، قارچهای خاک بیشتر دچار آسیب این سمیت می‌شوند و در بین باکتری‌ها، باکتری‌های گرم منفی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت نسبت به این آنتی‌بیوتیک مقاوم‌تر هستند. در بوم‌شناسی میکروبی، تنفس پایه و تنفس برانگیخته شاخص‌های خوبی هستند و به گونه گسترده‌ای برای اندازه‌گیری و ارزیابی فعالیت میکروبی خاک به کار رفته‌اند. تنفس می‌تواند نشان‌دهنده شدت آلودگی خاک باشد که در آن سطوح اکسیژن مصرفی یا دی اکسیدکربن آزاد شده از یک وزن ویژه خاک اندازه‌گیری می‌شود (شیرزاد و همکاران، ۱۳۹۲). در مطالعه فنگ‌لیو و همکاران(۲۰۰۸) هیچ اثر آشکاری از آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین، کلروتتراسایکلین و تیلوسین بر تنفس خاک مشاهده نشد. فرآیندهای جذب و تجزیه نقش خاصی را در کاهش اثرات این آنتی‌بیوتیک‌ها ایفا می‌کنند. این سه ترکیب، جذب قوی بر روی خاک را نشان می‌دهند، و این نشان‌دهنده این است که آنها از نظر زیستی کمتر قابل دسترس هستند. علاوه بر این، تتراسایکلین‌ها دارای جذب بالا در سطوح ذرات و تشکیل کمپلکس با کاتیون‌هایی مانند کلسیم در خاک هستند(کمپر ۲۰۰۸، پیلس و لارید ۲۰۰۷، وسلس و همکاران، ۱۹۹۸، زیلزنی و همکاران، ۲۰۰۶). این امر موجب کاهش قابل‌توجهی از اثرات تتراسایکلین‌ها بر تنفس میکروبی خاک شد.

در پژوهش حاضر تأثیر آلودگی سطوح مختلف اکسی‌تتراسایکلین بر فعالیت تنفس میکروبی و فراوانی باکتری‌های گرم منفی خاک بررسی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. . در یک آزمایش گلدانی، خاک لوم سیلتی با آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین(شکل۱) تیمار شد. تیمارهای آزمایشی شامل شش سطح آنتی‌بیوتیک (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) بود. نمونه‌ها به مدت ۱۲۰ روز در انکوباتور با دمای ۲۶ درجه سلسیوس نگهداری شدند. همچنین میزان رطوبت خاک در ۷۰درصد FC تنظیم شده‌بود.

اندازه گیری فعالیت تنفس میکروبی خاک (پس از ۱۲۰ روز) در خاک گلدان‌ها انجام گرفت. ۱۰ گرم خاک مرطوب به داخل ظرف شیشه ای تیره اضافه شد. ۱۰ میلی لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ مولار در بالن ۵۰ میلی لیتری ریخته شد و در داخل ظرف شیشه ای قرارگرفت. درپوش ظرف شیشه ای را گذاشته و به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد(شکل۲). پس از اتمام انکوباسیون بالن را برداشته و محلول هیدروکسید سدیم را در ارلن مایر ۱۰۰ میلی لیتر ریخته شد و بالن را دو مرتبه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر شستشو داده شد و به ارلن اضافه شد. سپس ۲ میلی لیتر محلول کلرید باریم ۰/۵ مولار اضافه شد. سپس ۳-۴ قطره شناساگر فنل فتالئین به محلول اضافه شد و با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار تیتر شد. برای تهیه شاهد، همان روش را بدون خاک اجرا شد(علی اصغرزاد، ۱۳۸۹). شدت تنفس میکروبی از رابطه زیر محاسبه گردید:

$$(B-S)= 2.2*100/SW*\%dm = mg\ CO_2/g\ dm\ .\ 24h$$

B: حجم اسید کلریدریک(HCl) مصرفی به وسیله شاهد(میلی لیتر) S: حجم اسید کلریدریک(HCl) مصرفی به وسیله نمونه(میلی لیتر)

2.2: فاکتور تبدیل(یک میلی لیتر از HCl، ۰/۱ مولار معادل ۲/۲ میلی گرم CO_2 می باشد) SW: وزن اولیه خاک(گرم)

100/%dm: فاکتور تبدیل خاک خشک

برای تعیین فراوانی باکتری‌های گرم منفی یک نمونه مرکب ۱۰ گرمی از خاک هر ظرف(سطوح ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌طور جداگانه در داخل ارلن مایرهای ۲۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۹۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل ریخته شد. ارلن مایرها به مدت ۵ دقیقه به‌صورت دورانی مخلوط شدند. سپس به مدت ۱۵ ثانیه ثابت نگه داشته شدند تا ذرات درشت ته نشین شود. ۵ لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر آب مقطر استریل تهیه گردید. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون خاک ارلن برداشته شده و به لوله شماره یک منتقل گردید. مجدداً یک میلی‌لیتر از لوله اول برداشته و به لوله دوم منتقل شد. برای بقیه لوله‌ها نیز این کار انجام شد. لوله‌ها دارای رقت‌های 10^{-2} تا 10^{-6} بودند (علی‌اصغرزاد، ۱۳۸۵). در کشت باکتری‌های گرم منفی سه رقت 10^{-4}، 10^{-5} و 10^{-6} انتخاب شد. برای هر رقت یک پتری‌دیش حاوی محیط کشت اختصاصی باکتری‌های گرم منفی (ائوزین متیلن بلو) در نظر گرفته‌شد. سپس از هر رقت ۱۰۰ میکرولیتر به محیط کشت اضافه شد و در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری گردید. برای تهیه یک لیتر محیط کشت اختصاصی ائوزین متیلن بلو از ۱۰ گرم پپتون، ۱۰ گرم لاکتوز، ۲ گرم K_2HPO_4، ۰/۴ گرم ائوزین، ۰/۰۶۵ گرم متیلن بلو و ۱۵ گرم آگار استفاده شد. سپس pH آن روی ۶/۴ تا ۷/۳ تنظیم گردید. این رنگ‌ها (ائوزین و متیلن بلو) همچنین در pH اسیدی با هم ترکیب شده و ایجاد رسوب می‌نمایند، بنابراین می‌توان از تغییر رنگ کلنی‌ها در این محیط به ارغوانی تیره، به وجود کلیفرم‌ها نیز پی‌برد. این تغییر رنگ در اثر تخمیر لاکتوز و ایجاد حالت اسیدی در محیط توسط کلیفرم‌ها صورت می‌گیرد. شمارش کلنی‌ها ۳ روز پس از کشت انجام گرفت(شکل۳). در آزمایش همه کلنی‌های رشد یافته شمارش شد.

شکل۱- (آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین مورد استفاده در این آزمایش)

شکل۲- (جار شیشه‌ای برای اندازه‌گیری تنفس پایه میکروبی خاک)

شکل۳- رشد یک کلنی در محیط کشت ائوزین متیلن بلو

نتایج و بحث

برخی از ویژگی‌های خاک مورد استفاده در این آزمایش در جدول (۱) ارائه گردیده است. همانطوریکه مشاهده می‌شود، خاک دارای بافت متوسط بوده، هدایت الکتریکی بسیار پایینی داشته و درصد آهک آن نیز اندک است. همچنین دارای اسیدیته تقریباً خنثی ولی کربن آلی ان بسیار اندک است.

جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

بافت خاک	شن (٪)	سیلت (٪)	رس (٪)	ای.سی(µS/cm)	پ.هاش	کربنات کلسیم معادل (٪)	کربن آلی (٪)
سیلتی‌لومی	۳۸/۰۸	۴۴/۶۲	۱۷/۳۰	۶۱۸	۷/۲۸	۵/۱۶	۰/۱۱

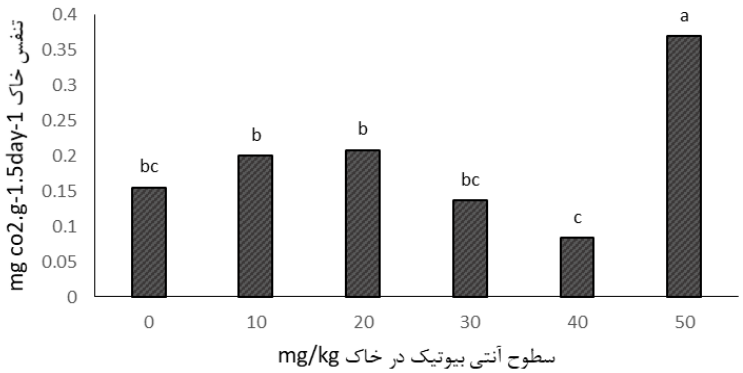
بر اساس نتایج تجزیه واریانس، سطوح آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر تنفس میکروبی خاک و نیز جمعیت باکتری‌های گرم منفی اثر معنی‌داری داشت ($P<0.01$).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس تأثیر سطوح آنتی‌بیوتیک بر تنفس میکروبی و جمعیت باکتری‌های گرم منفی در خاک بعد از ۱۲۰روز انکوباسیون

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		جمعیت باکتری‌های G^-	تنفس خاک
غلظت آنتی‌بیوتیک	۵	۰/۰۲۹ **	۰/۳۵۷ **
خطای آزمایشی	۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات(٪CV)		۰/۴۵	۲۲/۴۲

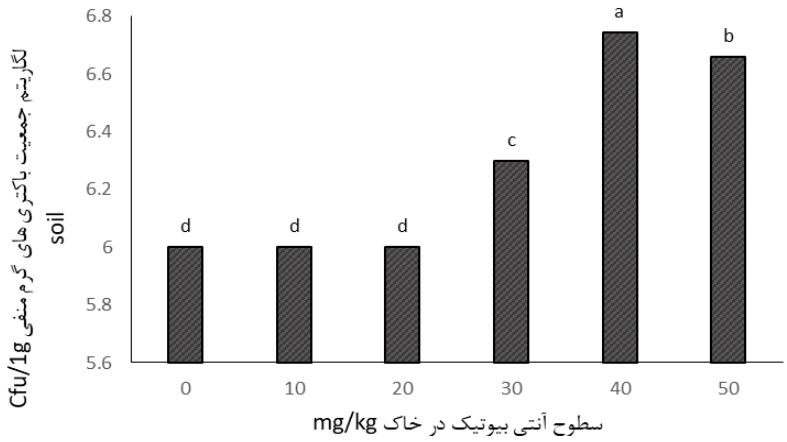
** : در سطح آماری ۰/۰۱ درصد معنی‌داراست.

شکل(۴) اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر تنفس پایه خاک را نشان می‌دهد. تنفس میکروبی در غلظت‌های ۱۰ تا ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تفاوت معنی‌داری با شاهد بدون آنتی‌بیوتیک ندارد ولی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم از آنتی‌بیوتیک، تنفس میکروبی بطور معنی‌دار بیشتر از خاک شاهد و حتی سایر غلظت‌های آنتی‌بیوتیک بود. تعداد جمعیت باکتری‌های گرم منفی با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک تا سطح ۲۰ میلی‌گرم، تغییر معنی‌داری نداشت ولی از این غلظت به بعد شاهد افزایش معنی‌دار این گروه از باکتری‌ها بودیم ولی در غلظت ۵۰ میلی‌گرم مجدداً کاهش نشان داد



گرچه هنوز نسبت به غلظت‌های ۳۰ و پائین‌تر، جمعیت میکروبی بالاتری دارد (شکل ۵).

شکل۴- اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر تنفس میکروبی خاک



شکل۵- اثر سطوح مختلف آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین بر جمعیت باکتری‌های گرم منفی خاکcfu/1g soil

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری تنفس میکروبی خاک و فراوانی جمعیت باکتری‌های گرم منفی در پایان مدت ۱۲۰ روز انجام گرفت. به نظر می‌رسد که گذشت زمان سبب ایجاد تحمل در جامعه میکروبی خاک شده در مقابل این آنتی‌بیوتیک شده و همچنان که دیده می‌شود با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک این اثر مشهودتر است. گرچه بطور کلی باکتری‌های گرم منفی در مقابل این آنتی‌بیوتیک مقاوم‌تر از گرم مثبت‌ها می‌باشند ولی با ادامه اثر آنتی‌بیوتیک ، علاوه بر کاهش گرم مثبت‌ها، گرم منفی‌های حساس نیز ممکن است از بین بروند و بتدریج غلبه با انواع مقاوم بشود(چن وهمکاران، ۲۰۱۳). علاوه براین، شواهدی زیادی در دست است که نشان می‌دهند با افزایش غلظت آنتی‌بیوتیک و تداوم حضور آن در محیط، ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک ممکن است بین باکتری‌ها انتقال یافته و این فرایند سبب توسعه جامعه میکروبی مقاوم می‌شود. چنانچه از نتایج اندازه‌گیری تنفس میکروبی در انتهای دوره نیز چنین بر می‌آید که علیرغم انتظار، تنفس خاک در بالاترین غلظت آنتی‌بیوتیک، حداکثر است که تأیید دیگری بر ادعای فوق الذکر است. البته ایجاد تحمل در جامعه میکروبی در برابر آلاینده‌ها، همواره از طریق القای ژنتیکی نیست بلکه ممکن است از طریق تغییرات فیزیولوژیک در باکتری‌ها باشد. بنابراین افزایش تحمل در جامعه میکروبی شاخص خوبی برای اثبات حضور آلاینده در غلظت‌های نامطلوب است (پوستوما، ۱۹۹۷). گرچه تنفس میکروبی و تعداد جمعیت باکتری‌های گرم منفی در این آزمایش در روزهای ابتدائی انکوباسیون اندازه‌گیری نشده است ولی به نظر می‌رسد که هر دو پارامتر پس از افزودن آنتی‌بیوتیک کاهش پیدا کنند و سپس با ادامه حضور آنتی‌بیوتیک مخصوصاً در غلظت‌های بیشتر، بتدریج این مقاومت و فعالیت میکروبی ظاهر شود. از طرفی آنتی‌بیوتیک اکسی‌تتراسایکلین ماندگاری بالایی در خاک دارد و با ویژگی‌های فیزیکی خاک مورد آزمایش تحرک بالایی می‌تواند داشته‌باشد بنابراین برخی جوامع میکروبی در برابر آنتی‌بیوتیک قدرت محافظتی خود را از دست داده‌اند ولی بقیه آن‌ها بدلیل داشتن ژن‌های مقاوم توانسته مقاومت کنند. در واقع برآیند هر دو عامل یعنی ماهیت و رفتار آنتی‌بیوتیک در خاک و ویژگی‌های جوامع میکروبی تعیین‌کننده نتیجه خواهد بود. چه بسا در برخی شرایط بدلیل تشکیل کمپلس آنتی‌بیوتیک با کلوئیدهای خاک و کاهش تحرک آن، جوامع میکروبی از آن تأثیر چندانی نپذیرند و تغییری در جمعیت و یا فعالیت میکروبی از جمله تنفس آن‌ها ایجاد نشود. همچنین از نتایج حاصله چنین برمی آید که برای ظهور باکتریهای متحمل به انتی بیوتیک الزاما غلظتهای بالای آن مورد نیاز است و در غلظت‌های پایین آنتی‌بیوتیک تحریک‌کننده باکتری‌ها در برابر آلاینده نیستند چون اغلب جمعیت‌های حساس را از بین برده در حالیکه انواع مقاوم را بوجود نمی‌آورند(چن و همکاران، ۲۰۱۳).

منابع

علی اصغر زاد، ناصر. ۱۳۸۵. روش‌های آزمایشگاهی در بیولوژی خاک (ترجمه). چاپ اول. انتشارات دانشگاه تبریز.

شیرزاده ن، علی‌اصغرزاد ن و نجفی ن، ۱۳۹۲.روند تغییرات کربن زیتوده، شناسه‌های اکوفیزیولوژیک، تنفس پایه و بر انگیخته خاک در انکوباسیون با سطوح گوناگون سرب. نشریه آب و خاک، جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه‌های ۱۱۱تا۱۲۴.

Arnold CG, Cédric G, Ciani, Andrea, Müller, Stephan R, Amirbahman, Aria, Schwarzenbach, René P, 1998. Association of triorg compounds with dissolved humic acids. Environmental Science & Technology 32(19): 2976-2983.

Feng Liu, Guang-Guo Ying, Ran Tao, Jian-Liang Zhao, Ji-Feng Yang, Lan-Feng Zhao 2008. Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities; journal homepage:www.elsevier.com

Giller K, Witter E and McGrath SP, 1998.Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review. Soil Biology and Biochemistry. 30:1389-1414.

Golet EM, Xifra I, Siegrist H, Alder AC, Giger W, 2003. Environmental exposure assessment of fluoroquinolone antibacterial agents from sewage to soil. Environmental Science & Technology 37(15):3243-9.

Hektoen H, Berge JA, Hormazabal V and Yndestad M, 1995. Persistence of antibacterial agents in marine sediments. Aquaculture 133: 175–184.

Kemper N, 2008. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. Ecological Indicators 8: 1–13.

Kümmerer K, 2001. Drugs in the environment: emission of drugs, diagnostic aids and disinfectants into wastewater byhospitals in relation to other sources–a review. Chemosphere 45(6): 957-969.

Molaei A, Lakzian A, Haghnia G, Astaraei A, Rasouli-Sadaghiani M, Ceccherini MT, Datta R, 2017. Assessment of somecultural experimental methods to study the effects of antibiotics on microbial activities in a soil: An incubation study. Plos One 12(7): e0180663.

Nowara A, Burhenne J, Spiteller M, 1997. Binding of fluoroquinolone carboxylic acid derivatives to clay minerals. Journal of Agricultural and Food Chemistry 45(4): 1459-1463.

Oka H, Ito Y, Matsumoto H, 2000. Chromatographic analysis of tetracycline antibiotics in foods. Journal of Chromatography A 882(1): 109-133.

Thiele-Bruhn S, 2003. Pharmaceutical antibiotic compounds in soils–a review. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 166(2): 145 167.

Thiele-Bruhn, S. (2003). Pharmaceutical antibiotic compounds in soils—A review. J. Plant Nutr. Soil Sci. 166, 145–167.

Tolls J, 2001. Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review. Environmental Science & Technology 35(17): 3397-3406.

Van Beelen P, Verbruggen EMJ, Peijnenburg WJGM, 2003. The evaluation of the equilibrium partitioning method using sensitivity distributions of species in water and soil. Chemosphere 52:1153-1162.

W. Chen, W. Liu, N. Pan, W. Jiao, and M. Wang 2013. Oxytetracycline on functions and structure of soil microbial Community: Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2013,13 (4), 967-975

Zielezny, Y., Groeneweg, J., Vereecken, H., Tappe, W., 2006. Impact of sulfadiazine and chlortetracycline on soil bacterial community structure and respiratory activity. Soil Biology and Biochemistry 38, 2372–2380.

Topic for submission: Ecosystem Pollution, Human Health and Bioremediation

The effect of oxytetracycline on soil respiration and the population of gram negative bacteria

Hasanalizade*[1], M., Aliasgharzad[2], N

[1] M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Tabriz, Iran
[2] Professor., Soil Science Department, Faculty of Agriculture University of Tabriz, Iran

Abstract

When microorganisms are exposed to contaminants, they make changes to their lives. These changes include physiological and genetic changes. Initially, physiological changes occur, and if genetic variations persist, genetic changes occur. In fact, the mutation may be transmitted to the next generation or even to other microbial species. Antibiotics are widely used in the livestock industry, as well as in medical. There are several methods to assess the dangers of soil ecosystem pollution with antibiotics. In this study, the effect of different levels of antibiotic Oxytetracycline (OTC) on soil microbial respiration and frequency of gram negative bacteria in a silty loam soil was investigated. For this purpose, different levels of OTC including 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg / kg were applied to 2 kg soil in pots in 3 replicates and incubated for 70 days at 70% humidity and 25 ° C. The results showed that soil microbial respiration after 120 days of incubation at concentrations of 10 to 40 mg antibiotic per kg of soil did not differ significantly with each other and with no antibiotic control, but at the 50 mg concentration, the highest microbial respiration was obtained. The number of Gram-negative bacteria increased with increasing antibiotic concentration up to 40 mg, but decreased again at 50 mg concentration. Depending on the type of culture medium used (eosin methylene blue) to count the gram-negative bacteria which is also used to count the coliforms, it appears that the increased bacteria are mainly belong to the coliforms. This process can be linked to the establishment of resistance in the microbial community of the soil within 120 days.

Keywords: Antibiotics, Oxytetracycline, Soil respiration, Gram-negative bacteria

* Corresponding author, Email: masumehasanalizade95@tabrizu.ac.ir