تأثیر بیوچار بر بهبود فعالیت‌های میکروبی در یک خاک آلوده به تتراسایکلین

سیده ریحانه کشیک نویس رضوی[۱]، امیر فتوت[۲]، رضا خراسانی[۳]، امیر لکزیان[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
reyhaneh.razavi2370@gmail.com

۲، ۳ و۴ استاد، دانشیار و استاد گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

تجمع تتراسایکلین در محیط خاک به‌طور بالقوه می‌تواند سلامت اکوسیستم‌های خاکی را تهدید کند. امروزه، بیوچار به‌طور گسترده‌ای به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک برای بهبود خصوصیات خاک استفاده می‌شود که ممکن است بر سرنوشت و رفتار آلاینده‌ها در خاک تأثیر بگذارد. تحقیق حاضر باهدف بررسی تأثیر کابرد بیوچار و بیوچار فعال‌شده با متانول بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک (تنفس میکروبی و زیست‌توده میکروبی) در خاک آلوده به تتراسایکلین انجام شده‌است. بنابراین، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام‌شد. فاکتورها عبارت بودند از دو سطح بیوچار (پوست چوبی گردو (WBC) و بیوچار فعال‌شده با متانول (WBCM) در سطح صفر (K) و ۵ درصد وزنی) و دو سطوح تتراسایکلین (صفر (TC0) و ۴۰۰ (TC400) میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک) که در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ روز اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان‌داد تتراسایکلین تأثیر معنی‌داری ($P>0.05$) روی تنفس میکروبی نداشت اما باعث کاهش معنی‌دار زیست‌توده میکروبی (تا ۲۴ درصد) در زمان‌های ۱۰ و ۳۰ روز شد ($P<0.05$). کاربرد WBC و WBCM باعث شد اثر منفی تتراسایکلین روی زیست‌توده میکروبی تنها در زمان ۱۰ روز معنی‌دار باشد. به‌نظر می‌رسد کاربرد بیوچار به عنوان اصلاح‌کننده می‌تواند به‌کاهش اثرات منفی تتراساکلین روی اکوسیستم‌های خاکی و بهبود سلامت خاک کمک کند.

واژگان کلیدی: آلاینده آلی، تنفس میکروبی، زیست‌توده میکروبی

مقدمه

امروزه، مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین باعث افزایش حضور آن در محیط خاک شده‌است. تخلیه غیر قانونی فاضلاب‌ها، استفاده از کودها و آب آبیاری آلوده به تتراسایکلین از راه‌های ورود آنتی‌بیوتیک تتراسایکلین به خاک هستند. تتراسایکلین با کاهش فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی خاک، مهار فعالیت باکتریایی و افزایش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی می‌تواند روی سلامت اکوسیستم‌های خاکی تأثیر بگذارد پان و چو (۲۰۱۷). افزایش ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی در خاک یک خطر بالقوه برای سلامت انسان درنظر گرفته‌می‌شود. بنابراین ارائه اقدامات مؤثر در جهت کاهش اثرات منفی این آلاینده آلی روی فعالیت‌های میکروبی جامعه خاک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. بیوچار محصول کربنی فرآیند پیرولیز بوده که می‌تواند به‌عنوان اصلاح‌کننده در مدیریت پایدار خاک استفاده‌شود. بیوچار خصوصیات منحصربفرد مانند سطح ویژه بالا، بار سطحی، تلخلخل، گروه‌های عاملی سطحی و ساختارهای آروماتیکی دارد. این خصوصیات که بیش‌تر تحت تأثیر ماده اولیه و دمای پیرولیز قرار می‌گیرد می‌تواند رفتار زیست‌محیطی انواع آلاینده‌های آلی و فلزات سنگین را در محیط‌های مختلف تحت تأثیر قرار دهد بهشتی و همکاران (۲۰۱۸). علاوه‌براین، فعال‌سازی بیوچار یک تکنیک رایج به‌منظور اطمینان پیداکردن از تأثیر بیوچار روی تتراسایکلین در غلظت‌های بالای آنتی‌بیوتیک است. عامل فعال‌کننده معمولا محلول‌های اسیدی و بازی با غلظت‌های متفاوت هستند جینگ و همکاران (۲۰۱۴). تاکنون، اثرات مثبت بیوچار برروی کاهش اثرات منفی تتراسایکلین روی جامعه میکروبی خاک تنها در چند مطالعه (یو و همکاران، ۲۰۱۹؛ لیو و همکاران، ۲۰۲۰) بررسی شده‌است. درک بهتر از اثرات کاربرد بیوچار در خاک آلوده به تتراسایکلین بر روی کاهش اثرات منفی این آلاینده و بهبود فعالیت‌های میکروبی خاک نیازمند مطالعات بیش‌تری است. بنابراین در این مطالعه تأثیر کاربرد بیوچار پوست گردو و بیوچار فعال‌شده با متانول در یک خاک آلوده به تتراسایکلین روی کاهش اثرات منفی تتراسایکلین بر فعالیت‌های میکروبی خاک بررسی شد.

مواد و روش‌ها

خاک مورد مطالعه از لایه سطحی (۰-۳۰ سانتی متر) یک مزرعه کشاورزی واقع در مشهد در استان خراسان رضوی، شمال‌شرقی ایران جمع‌آوری و سپس به آزمایشگاه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شد. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول ۱ آورده شده‌است. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح بیوچار(تولیدشده در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد از پوست چوبی گردو (WBC) و بیوچار چوبی فعال‌شده با متانول (WBCM) در سطح صفر (K) و ۵ درصد وزنی) و سطوح تتراسایکلین (صفر (TC0) و ۴۰۰ (TC400) میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک خشک) بود. ابتدا WBC و WBCM به‌خوبی با خاک مخلوط شدند. برای انتخاب سطوح غلظتی تتراسایکلین در مطالعات آزمایشگاهی به‌منظور بررسی تأثیر آلاینده بر روی فعالیت‌های میکروبی خاک غلظت آلاینده چند برابر بیش‌تر از غلظتی که در طبیعت وجود دارد در نظر گرفته می‌شود. بر مبنای منابع کمترین غلظت مؤثر بر روی کاهش فعالیت‌های میکروبی خاک سطح ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تتراسایکلین بود. برای آلوده‌کردن نمونه‌ها به تتراسایکلین، ابتدا مقدار مناسب از آنتی‌بیوتیک در آب دیونیزه (به‌ازای هر یک کیلوگرم خاک، ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه استفاده شد.) حل و به نمونه‌ها اسپری شد. تیمارها در ظروف درب‌دار ریخته و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به مدت ۱۰، ۳۰ و ۵۰ روز نگهداری شدند. پس از گذشت زمان‌های انکوباسیون، پارامترهای تنفس پایه میکروبی اندرسون (۱۹۸۲) و زیست‌توده میکروبی جنکینسون و لاد (۱۹۸۱) در نمونه‌ها اندازه‌گیری‌شد. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹.۴ استفاده شد. رسم شکل‌ها در نرم‌افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی انجام گرفت.

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اندازه‌گیری شده در خاک مورد مطالعه

خصوصیات خاک	واحد	مقدار اندازه‌گیری شده
نیتروژن کل	$mg\ kg^{-1}$	۵۰۵/۱۳
فسفر قابل‌دسترس	$mg\ kg^{-1}$	۵/۰۹
پتاسیم قابل‌دسترس	$mg\ kg^{-1}$	۷۹/۶۲
مس قابل جذب	$mg\ kg^{-1}$	۰/۶۱
کربن آلی	%	۰/۲۹
کربنات کلسیم معادل	%	۰/۱۵
رطوبت ظرفیت زراعی (FC)	$g\ g^{-1}$	۱۵
هدایت الکتریکی (EC)	$dS\ m^{-1}$	۱/۵۸
pH	-	۷/۴۲
بافت خاک	-	لوم
رس	%	۲۲
سیلت	%	۳۴
شن	%	۴۴

نتایج و بحث

نتایج مربوط به برخی از خصوصیات اندازه‌گیری شده در WBC و WBCM به‌صورت خلاصه در جدول ۲ ارائه شده‌است. pH و محتوای کربن بالای WBC ممکن‌است ناشی‌از دمای پیرولیز بالا باشد. احمد و همکاران (۲۰۱۲) گزارش‌کردند که دمای بالای پیرولیز با آزادسازی عناصر قلیایی از ماده‌خام اولیه می‌تواند باعث افزایش pH و درصد کربن بیوچار شود. فعال‌سازی با

متانول pH بیوچار را تغییر نداد که می‌تواند به‌دلیل pH خنثی متانول بوده‌باشد. این درحالی است که در مطالعه لئو و همکاران (۲۰۱۸) محلول قلیایی KOH باعث افزایش pH بیوچار شده‌بود.

جدول ۲- برخی از خصوصیات بیوچار پوست گردو (WBC) و بیوچار فعال‌شده با متانول (WBCM)

	کربن	نیتروژن	هیدروژن	اکسیژن	$pH_{(1:10)}$	EC ($dS\ m^{-1}$)
	درصد					
بیوچار پوست گردو (WBC)	۸۴/۸	۰/۷	۱/۹۶	۳/۶	۸/۹	۴/۵
بیوچار فعال شده (WBCM)	۸۶/۳	۰/۵	۱/۹۳	۳/۹	۸/۵۹	۴/۵

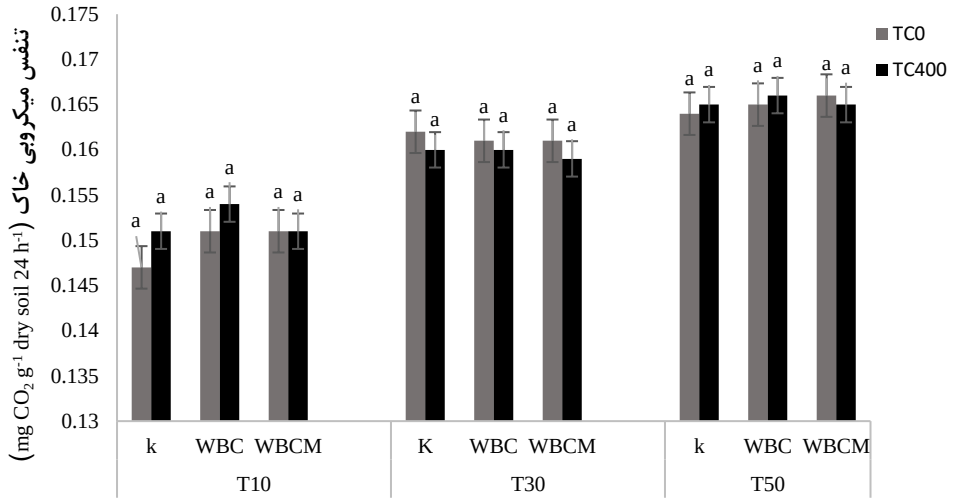
نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده و متقابل کاربرد اصلاح‌کننده (WBC و WBCM) و غلظت آنتی‌بیوتیک (TC0 و TC400) بر میزان تنفس پایه میکروبی و زیست‌توده میکروبی خاک در زمان‌های ۱۰، ۳۰ و ۵۰ روز در جدول ۳ ارائه شده‌است. نتایج اثر فاکتورهای آزمایشی نشان‌داد که اثرات ساده و متقابل تیمارها بر روی تنفس میکروبی خاک در سطح پنج درصد معنی‌دار نبوده‌است. این درحالی‌است که همه فاکتورها تأثیر معنی‌دار ($P<0.05$) بر روی زیست‌توده میکروبی خاک داشتند.

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان تنفس پایه و زیست‌توده میکروبی خاک در طول آزمایش

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		تنفس پایه میکروبی			زیست‌توده میکروبی		
		T10	T30	T50	T10	T30	T50
بیوچار	۲	۰/۰۱۵^{ns}	۰/۰۰۵^{ns}	۰/۰۰۴^{ns}	۳۶۲/۰۲*	۲۱۸/۵۷*	۲/۰۹^{ns}
تتراسایکلین	۱	۰/۰۱۷^{ns}	۰/۰۰۹^{ns}	۰/۰۰۱^{ns}	۱۴۳۶۰/۰۲*	۶۶۷/۳۱*	۰/۶۹^{ns}
بیوچار×تتراسایکلین	۲	۰/۰۰۷^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۰/۰۰۲^{ns}	۲۴۳/۳۶*	۲۸۵/۷۸*	۵/۸۲^{ns}
خطای آزمایش	۱۲	۰/۰۰۹	۰/۰۵۸	۰/۰۰۱	۱۰/۱۱	۹/۲۸	۱۳/۴۴
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲/۰۳۲	۴/۷۳۴	۶/۴۶۹	۱/۴۹	۱/۳۴	۱/۵۸

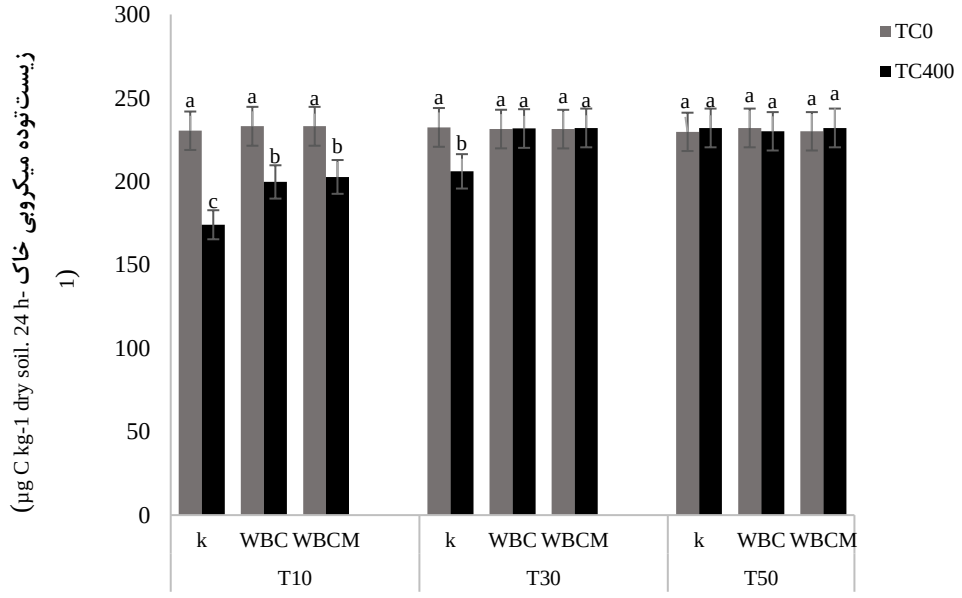
*: معنی‌دار در سطح پنج درصد ns: عدم تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد

شکل ۱ تأثیر متقابل بیوچار و تتراسایکلین را بر میزان تنفس پایه خاک نشان می‌دهد. نتایج نشان‌داد که اثرات متقابل سطوح آلودگی و کاربرد بیوچار در طول زمان انکوباسیون تأثیری روی میزان تنفس پایه میکروبی خاک نداشته‌است ($P<0.05$). مطالعات گزارش‌کردند به‌دلیل تغییر ساختار جامعه میکروبی در خاک آلوه به تتراسایکلین، تأثیر منفی این آلاینده روی گونه‌های منفرد در تنفس میکروبی خاک نشان‌داده نمی‌شود. همچنین بوهن و بک (۲۰۰۵). همچنین محتوای بالا مداده الی و رس خاک به دلیل تشکیل کمپلکس‌های پایدار با تتراسایکلین باعث کاهش دسترسی میکروارگانیسم‌های خاک به تتراسایکلین شده و تنفس میکروبی خاک کاهش پیدا نمی‌کند لیو و همکاران (۲۰۰۹). در تحقیق حاضر نیز محتوای بالای رس (جدول ۱) احتمالاً با ایجاد کمپلکس پایدار با تتراسایکلین توانسته‌است دسترسی میکروارگانیسم‌های خاک را به تتراسایکلین محدود کرده و تنفس پایه کاهش تغییر پیدا نکند. عدم تأثیر کاربرد بیوچار به عنوان اصلاح‌کننده بر روی تنفس میکروبی خاک نیز می‌تواند به دلیل دمای بالای پیرولیز مربوط باشد که با خروج مواد سهل الوصول از ماده خام اولیه نتوانسته مواد غذایی لازم را برای رشد میکروبی فراهم کند و درنتیجه تنفس میکروبی خاک در طول آزمایش تغییر پیدا نکرده‌است (زاوالونی و همکاران، ۲۰۱۱).



شکل ۱- اثر متقابل تیمارهای بیوچار و تتراسایکلین بر تنفس میکروبی خاک (تیمارها شامل شاهد (K)، بیوچار پوست گردو (WBC)، بیوچار فعال‌شده با متانول (WBCM)، غلظت صفر تتراسایکلین (TC0) و غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (TC400) بودند که در زمان‌های ۱۰ (T10)، ۳۰ (T30) و ۵۰ (T50) روز اندازه‌گیری شدند.

شکل ۲ تأثیر متقابل بیوچار و تتراسایکلین را بر میزان زیست‌توده میکروبی خاک نشان می‌دهد. آلودگی خاک به تتراسایکلین باعث کاهش معنی‌دار ($P<0.05$) زیست‌توده میکروبی در زمان‌های ۱۰ و ۳۰ روز شد.



شکل ۱- اثر متقابل تیمارهای بیوچار و تتراسایکلین بر تنفس میکروبی خاک (تیمارها شامل شاهد (K)، بیوچار پوست گردو (WBC)، بیوچار فعال‌شده با متانول (WBCM)، غلظت صفر تتراسایکلین (TC0) و غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (TC400) بودند که در زمان‌های ۱۰ (T10)، ۳۰ (T30) و ۵۰ (T50) روز اندازه‌گیری شدند.

استفاده از WBC و WBCM به‌عنوان اصلاح‌کننده باعث شد اثرات منفی تتراسایکلین تنها در زمان ۱۰ روز روی کاهش زیست‌توده میکروبی خاک به‌میزان ۱۴/۷ و ۱۶/۵ درصد ($P<0.05$) معنی‌دار باشد. کاربرد بیوچار به عنوان اصلاح‌کننده در خاک

آلوده می‌تواند از طریق افزایش کربن آلی و چرخه مواد غذایی، فراهم کردن پناهگاه و زیستگاه برای میکروارگانیسم، تشکیل کمپلکس پایدار با آلاینده‌ها و کاهش دسترسی میکروارگانیسم به آلاینده باعث افزایش زیست‌توده میکروبی خاک شود. در این تحقیق مقایسه زیست‌توده میکروبی بین تیمارهای آلوده به تتراسایکلین و آلوده‌نشده نشان‌داد به دلیل تولید بیوچار در دمای بالا و از دست رفتن کربن و مواد غذایی تأثیر بیوچار از طریق فراهم آوردن مواد غذایی برای میکروارگانسیم در طول آزمایش کم بوده‌است. هالینگ-سورنسن و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند تتراسایکلین با داشتن ضریب توزیع بالا می‌تواند با محتوای ماده آلی کمپلکس‌های پایدار برقرار کرده و در نتیجه اثرات منفی تتراسایکلین روی جامعه میکروبی خاک کاهش پیدا کند. بنابراین در پژوهش حاضر اثرات مثبت کاربرد بیوچار به عنوان اصلاح‌کننده روی بهبود زیست‌توده میکروبی در خاک آلوده به تتراسایکلین به دلیل افزایش محتوای ماده آلی خاک بوده‌است.

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که آلودگی خاک با تتراسایکلین تأثیر منفی بر روی میزان زیست‌توده میکروبی خاک داشت. کاربرد بیوچار پوست گردو و بیوچار فعال‌شده با متانول اگرچه در خاک آلوده‌نشده تأثیری روی میزان تنفس‌پایه میکروبی و زیست‌توده میکروبی خاک نداشت اما آنها توانستند اثرات منفی تتراسایکلین را بر رویی زیست‌توده میکروبی خاک کاهش دادند. بنابراین به‌نظر می‌رسد کاربرد بیوچار در خاک‌های آلوده به تتراسایکلین به عنوان یک تکنیک مقرون به‌صرفه می‌تواند روی سلامت خاک تأثیر مثبت داشته‌باشد.

فهرست منابع

Ahmad, M., Lee, S. S., Dou, X., Mohan, D., Sung, J.-K., Yang, J. E., Ok, Y. S. (2012). Effects of pyrolysis temperature on soybean stover-and peanut shell-derived biochar properties and TCE adsorption in water. *Bioresource Technology, 118: 536-544.*

Anderson J.P.E. (1982). Soil respiration. In: Miller R.H and Keeney D.R (eds). *Methods of soil analysis part 2. Chemical and Microbiological Properties. The American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin,* 831-871.

Beheshti, M., Etesami, H., Alikhani, H. A. (2018). Effect of different biochars amendment on soil biological indicators in a calcareous soil. *Environmental Science and Pollution Research, 25(15): 14752-14761.*

Halling-Sørensen, B., Sengeløv, G., Ingerslev, F., Jensen., L. B. (2003). Reduced Antimicrobial Potencies of Oxytetracycline, Tylosin, Sulfadiazin, Streptomycin, Ciprofloxacin, and Olaquindox Due to Environmental Processes. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 44(1): 7-16.*

Jenkinson D.S and Ladd J.N. (1981). Microbial biomass in soil: Measurment and turnover. *In: Paul E.A and Ladd J.N (eds). Soil Biochemistry, New York, USA, 5:415-471.*

Jing, X.-R., Wang, Y.-Y., Liu, W.-J., Wang Y.-K., Jiang, H. (2014). Enhanced adsorption performance of tetracycline in aqueous solutions by methanol-modified biochar. *Chemical Engineering Journal, 248: 168-174.*

Liu, F., Ying, G.-G., Tao, R., Zhao, J.-L., Yang, J.-F., Zhao, L.-F. (2009). Effects of six selected antibiotics on plant growth and soil microbial and enzymatic activities. *Environmental Pollution, 157(5): 1636-1642.*

Liu, HY., Song, C., Zhao, S., Wang, SG. (2020). Biochar-induced migration of tetracycline and the alteration of microbial community in agricultural soils. *Science of The Total Environment, 706: 136086.*

Luo, J., Li, X., Ge, C., Müller, K., Yu, H., Huang, P., Li, J.T., sang, DCW., Bolan, NS., Rinklebe, J., Wang, H. (2018). Sorption of norfloxacin, sulfamerazine and oxytetracycline by KOH-modified biochar under single and ternary systems. *Bioresource Technology, 263: 385-392.*

Pan, M. and Chu L. M. (2016). Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil. *Science of The Total Environment, 545-546: 48-56.*

Thiele-Bruhn, S. and Beck, I.-C. (2005). Effects of sulfonamide and tetracycline antibiotics on soil microbial activity and microbial biomass. *Chemosphere, 59(4): 457-465.*

Yue, Y., Shen, C., Ge, Y. (2019). Biochar accelerates the removal of tetracyclines and their intermediates by altering soil properties. *Journal of Hazardous Materials, 380: 120821.*

Zavalloni, C., Alberti, G., Biasiol, S., Vedove, G. D., Fornasier, F., Liu, v., Peressotti, A. (2011). Microbial mineralization of biochar and wheat straw mixture in soil: A short-term study. *Applied Soil Ecology, 50: 45-51*.

The Effect of Biochar on Improvement in Microbial Activities in a Tetracyclie-polluted Soil

Abstract
Tetracycline accumulation in soil environment potentially can threaten agroecosystem safety. Nowadays, biochar is widely used as a soil amendment to improve soil properties, which might affect the fate and behavior of contaminants in soil. The present research aimed to investigate the effect of biochar and methanol-activated biochar application on improvement of soil microbial activities (soil respiration and mictobial biomass) in a tetracycline-polluted soil. A factorial experiment was conducted as a completely randomized design. Factors were included two biochar levels (0% (K), 5% walnut shell biochar (WBC), and methanol-activated biochar (WBCM)), two tetracycline levels (0 (TC0) and 400 (TC400) mg/kg soil), which were measured at 10, 30, and 50 days. The results revealed that WBC and WBCM had no significant effect on microbial respiration ($P<0.05$), but it had significant decrease (up to 24%) on microbial biomass at 10 and 30 days ($P<0.05$). WBC and WBCM applications caused the negative effects of tetracycline on soil microbial biomass to be only evident at 10 days. It seems that biochar application as an amendment may ameliorate the adverse effects of tetracycline on soil ecosystems and improve its health.

Keywords Organic pollutant, microbial respiration, microbial biomass