Journal of Research in Environmental Health

Volume 9, Issue 2, Summer 2023

Investigating the resistance of soil bacteria to antibiotics in Hamadan municipal and hospital waste Land fills

Samira Abduolrahimi kodakan
* Ph.D. student, Department of Soil Sciences and Engineering ,Faculty of Agriculture,Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran .
s.abduolrahimi@agr.basu.ac.ir
Ali Akbar Safari sinegani
Professor, Department of Soil Sciences and Engineering ,Faculty of Agriculture,Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran .
Received:2023/02/04
Accepted: 2023/04/14

Document Type: Research article

Doi:10.22038/jreh.2023.69012.1571

ABSTRACT

Background and purpose: Municipal and hospital waste landfills, harboring a diverse range of contaminants, particularly pharmaceuticals, offer an ideal environment for resilient bacteria that play a pivotal role in propagating resistance genes. Consequently, we conducted a study to assess the prevalence of microorganisms and antibiotic-resistant bacteria in soil and leachate samples obtained from municipal and hospital waste disposal sites in Hamedan City.

Materials and Methods: We conducted comprehensive assessments of soil and leachate properties and quantified the abundance of microorganisms. Furthermore, we evaluated the prevalence of bacteria resistant to ten frequently used antibiotics: ampicillin, amoxicillin, cefixime, gentamicin, streptomycin, tetracycline, doxycycline, chloramphenicol, lincomycin, and metronidazole. Additionally, we examined the response of bacteria from two pristine soils and a recently established waste landfill to varying concentrations of antibiotics: ampicillin, gentamicin, and tetracycline.

Results: Among the studied areas, the logarithmic population of fungi, actinomycetes, pseudomonas, and enterobacters was most prominent in the newly established waste landfill, with values of 5.35, 5.28, 6.13, and 5.98, respectively. The prevalence of bacteria resistant to all ten antibiotics was notably higher in samples from the new waste landfill compared to other locations, while it was lower in virgin soil than in other areas. Similar trends were observed in the dose-response experiments involving ampicillin, gentamicin, and tetracycline antibiotics. The minimum inhibitory concentrations of these antibiotics for bacteria from the new landfill were 1500, 1000, and 100 mg/l, respectively, whereas, for virgin soil, significantly lower values were recorded (10, 18, and 50 mg/l, respectively).

Conclusion: This study unequivocally demonstrates that municipal and hospital waste landfills serve as conducive habitats for antibiotic-resistant bacteria, potentially fostering the exchange of resistance genes among native soil bacteria. As a result, introducing bacteria into the soil through waste disposal could exacerbate their detrimental effects.

Keywords: Dose response, Leachate, Landfill, Resistant bacteria, Resistance genes

▶ **Citation:** Abduolrahimi kodakan S, Safari sinegani AA. Investigating the resistance of soil bacteria to antibiotics in Hamadan municipal and hospital waste Land fills. *Iranian Journal of Research in Environmental Health*. Summer 2023; 9(2): 169-182.

بررسی پایداری باکتری‌های خاک در برابر پادزیست‌ها در جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی همدان

سمیرا عبدالرحیمی کودکان
* دانشجوی دکتری ، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ، ایران.
s.abduolrahimi@agr.basu.ac.ir
علی‌اکبر صفری سنجانی
استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان ، ایران.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۵
نوع مقاله: پژوهشی

چکیده

زمینه و هدف: جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی که دارای آلودگی‌های گوناگون به‌ویژه دارویی هستند، زیستگاه شایسته‌ای را برای باکتری‌های پایدار در برابر آلاینده‌ها فراهم می‌کنند و بنابراین نقش ویژه‌ای در ترابری ژن‌های پایداری دارند. لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی ریزجانداران و پایداری پادزیستی باکتری‌ها در نمونه‌های خاک و شیرابه جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماند شهری و بیمارستانی شهر همدان انجام شد.
مواد و روش‌ها: ویژگی‌های خاک و شیرابه و همچنین فراوانی ریزجانداران آنها شمارش و آزمون گردید. همچنین درصد باکتری‌های پایدار در برابر ۱۰ پادزیست پرکاربرد آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفکسیم، جنتامایسین، استرپتومایسین، تتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، کلرامفنیکل، لینکومایسین و مترونیدازول بررسی شد. همچنین پاسخ باکتری‌های دو خاک دست‌نخورده و خاکچال پسماند نوین شهری به غلظت‌های گوناگونی از سه پادزیست آمپی‌سیلین، جنتامایسین و تتراسایکلین سنجیده شد.
یافته‌ها: بالاترین لگاریتم فراوانی قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها به‌ترتیب با اندازه ۵/۳۵، ۵/۲۸، ۶/۱۳ و ۵/۹۸ در خاکچال نوین پسماند شهری به‌دست آمد. درصد باکتری‌های پایدار در برابر هر ۱۰ پادزیست در نمونه‌های خاکچال نوین پسماند شهری بیشتر از جایگاه‌های دیگر و در خاک دست‌نخورده کمتر از جایگاه‌های دیگر بود. این یافته در بررسی پاسخ به دوز پادزیست‌های آمپی‌سیلین، جنتامایسین و تتراسایکلین نیز مشاهده شد و غلظت کشنده این پادزیست‌ها برای باکتری‌های خاکچال نوین پسماند شهری به‌ترتیب ۱۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، ولی برای خاک دست‌نخورده بسیار کمتر و به‌ترتیب ۱۰، ۱۸ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود.
نتیجه‌گیری: جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی، زیستگاه شایسته‌ای برای باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست‌ها فراهم می‌کند که باعث افزایش ترابری ژن‌های پایداری در میان باکتری‌ها می‌شود. از این دیدگاه باکتری‌هایی که از راه پسماندها به خاک می‌رسند، می‌توانند زیان‌بارتر هم باشند.

کلید واژه‌ها: باکتری‌های پایدار، پاسخ به دوز، خاکچال، ژن‌های پایداری، شیرابه

◀ **استناد:** عبدالرحیمی کودکان س، صفری سنجانی ع. بررسی پایداری باکتری‌های خاک در برابر پادزیست‌ها در جایگاه‌های خاک-سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی همدان. *فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط*. تابستان ۱۴۰۲؛۹(۲): ۱۶۹-۱۸۲.

مقدمه

گسترش شهرها و افزایش شهرنشینی مردم و از سوی دیگر پیشرفت پزشکی و صنعتی شدن کارهای آدمی، مایه افزایش چشم‌گیر آشغال‌های جامد شهری (MSW) [1] شده است (۱). روی هم رفته، MSW از آشغال‌های خانگی، پزشکی، کشاورزی یا هر آشغالی پدید آمده است که جداسازی نشده و بیشتر در جایگاهای ویژه در زیر خاک دفن و یا خاک‌سپاری می‌شوند (۲). پیدایش بیش از اندازه MSW و ناکارآمدی در گردانش و مدیریت آن، یک چالش جهانی است و زیان‌های زیست‌محیطی مانند آلودگی و کاهش بهداشت را در سراسر جهان به‌دنبال دارد (۳). اکنون پیدایش MSW در جهان چیزی حدود ۲ میلیارد تن در سال است که نزدیک به ۳۳٪ آن را مقامات شهری مدیریت نمی‌کنند (۴). افزون بر این، برآورد می‌شود که پیدایش MSW در جهان تا سال ۲۰۵۰ به اندازه ۳/۴۰ میلیارد تن افزایش یابد (۵). با گذشت سال‌ها، شوربختانه خاک‌سپاری پسماند، هنوز یکی از روش‌های کهن و پرکاربرد است که می‌تواند به آلودگی خاک و آب‌های زیرزمینی از راه فروروی شیرابه زهری، بیانجامد. شیرابه‌های پدید آمده از خاک‌سپاری پسماند دارای مواد زهری ناخواسته مانند آلاینده‌های آلی، پادزیست‌ها، فرآورده‌های دارویی و بهداشتی (PPCP) [2] و فلزات سنگین است که می‌تواند هنگام بارندگی از آشغال‌ها رها شده و به لایه‌های زیرین خاک و آب‌های زیرزمینی برسند (۶). همه این آلاینده‌ها برای زندگی آبزیان و چرخه خوراکی جانداران زیان‌بار و زهری هستند که می‌توانند ناهنجاری‌های ژنتیک و سرطان‌زایی را در جانداران و آدمی افزایش دهند. افزون بر آلاینده‌های شیمیایی، آلودگی‌های زیستی مانند باکتری‌های پایداری در برابر پادزیست‌ها (ARB) [3]، ژن‌های پایداری پادزیستی (ARGs) [4] و باکتری‌های بیماری‌زا در شیرابه‌های پدید آمده در جایگاه خاک‌سپاری پسماندها، یکی دیگر از نگرانی‌های مهم است که می‌تواند ARGs را از باکتری‌ها و پاتوژن‌های پسماند به باکتری‌های بومی خاک و آب برساند. ترابری افقی ژن (HGT) [5] یا پراش‌ژنی، یکی از سازوکارهای شناخته شده در پایداری پادزیستی باکتری‌ها است (۷). کاهش پادزیست‌ها و PPCPها از پسماند و شیرابه‌های آن می‌تواند در کاهش پایداری پادزیستی باکتری‌های آب و خاک سودمند باشد. رشد باکتری‌های پایدار و بیماری‌زا مانند سالمونلا، سودوموناس، انتروباکتریا و کلستریدیوم پرفرینگنس در پسماندها می‌تواند به پراکنش این ژن‌ها در زیستگاها کمک کند (۸). پادزیست‌ها، داروهایی هستند که به شکل گسترده برای درمان و پیشگیری از عفونت‌های باکتریایی نه تنها در درمان آدمی، بلکه در درمان‌های دام‌پزشکی نیز استفاده می‌شوند (۹). بهره‌گیری از پادزیست‌ها در اندازه‌های فراوان می‌تواند بر یاخته ریزجانداران و آدمی، پیامد ویژه داشته باشد و مایه دگرگونی آنها شود (۱۰). پادزیست‌ها بر روی گروه‌های مختلف میکروبی پیامد انتخابی دارند. بنابراین، فراوانی و تنوع نسبی گونه‌های میکروبی خاک ممکن است آسیب ببیند (۱۱). پژوهش آکیمنکو و همکاران که بر روی خاک‌های آلوده به پادزیست‌های پنی‌سیلین، فارمازین و نیستاتین انجام شد، نشان داد که تمام غلظت‌های مورد مطالعه پادزیست‌ها، پیامد سرکوب کننده‌ای بر تراکم جمعیت ریزجانداران خاک دارند (۱۲). مطالعه مولایی و همکاران که بر روی پادزیست اکسی تتراسایکلین انجام شد، نشان داد که غلظت‌های بالای پادزیست (۱۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) مایه کاهش زیست توده میکروبی و تنفس می‌شود (۱۳). جذب و درون‌دهی پادزیست‌ها به یاخته باکتری‌ها می‌تواند مایه دگرگونی‌های ژنتیکی یا جهش در باکتری‌های پاسخ دهنده شود که به باکتری‌ها توان زنده ماندن و فراوانی بیشتر در برابر پادزیست‌ها که دارای ژن‌های پایداری شده‌اند را می‌دهد (۱۴). افزایش شهرنشینی و پسماندهای شهری و بیمارستانی با رهاسازی بی‌رویه داروهای تاریخ گذشته در زیستگاه‌ها، می‌تواند باعث افزایش ژن‌های پایداری در ریزجانداران

1. Municipal solid waste
2. pharmaceutical and personal care products
3. antibiotic-resistant bacteria
4. antibiotic resistance genes
5. horizontal gene transfer

شود. ترابری و جابجایی این ژن‌های پایداری، پایداری باکتری‌های دارنده را افزایش می‌دهد. بررسی سرنوشت و پیامد داروهای رها شده در کشور غنا نشان داد که آنها به همراه پسماند جامد شهری، به خاک و آب می‌رسند (۱۵). بسیاری از پژوهشگران در نقاط گوناگون جهان گزارش کرده‌اند که در شیرابه‌ها و جایگاه خاک‌سپاری پسماند، ژن‌های پایداری در برابر پادزیست‌ها و یا باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست‌ها افزایش چشم‌گیری داشته‌اند که برخی از آن‌ها سویه‌های بیماری‌زا بوده‌اند (۱۶). وجود سویه‌های بیماری‌زا و تند رشد در این جایگاه‌ها می‌تواند زیان و آسیب بهداشتی را برای کارگران جایگاه خاک‌سپاری پسماند، مردمان پیرامون و جانوران که در کنار جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماند چرا می‌کنند و یا می‌نوشند را بیشتر کند. افزون بر این، پرندگان آزاد که در این جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماند فرود می‌آیند، می‌توانند به گونه‌ای، این ریزجانداران دارای ژن‌های پایداری را پراکنده کنند (۱۷). از آنجایی که آلاینده‌های انباشت شده در جایگاه خاک‌سپاری پسماندهای شهری می‌تواند باعث پیدایش پایداری پادزیستی در گروه‌های باکتریایی شوند، مطالعه حاضر با هدف بررسی پایداری پادزیستی باکتری‌ها در خاک‌جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی همدان انجام شد.

روش کار

جایگاه نمونه‌برداری

این پژوهش میدانی در جایگاه خاک‌سپاری پسماندهای شهری همدان انجام شد که در پهنه‌ای با طول جغرافیایی ۳۴ درجه و ۵۷ دقیقه و ۲۱ ثانیه تا ۳۴ درجه و ۵۸ دقیقه و ۱۷ ثانیه و عرض جغرافیایی ۴۸ درجه و ۳۵ دقیقه و ۵۰ ثانیه تا ۴۸ درجه و ۳۷ دقیقه و ۹۴ ثانیه قرار دارد (شکل ۱). جنس خاک این جایگاه‌ها از گونه ته نشست‌های آبرفتی و سنگ مادر مارنی است. روزانه نزدیک ۵۰۰ تن پسماند خانگی و ۵ تن پسماند بیمارستانی از شهرهای همدان، بهار و جورقان به این جایگاه ترابری می‌شود. پسماندها در زمینی بدون بسترسازی شایسته و بدون پوشش آغازین و پایانی شایسته‌ای انباشته می‌شوند. نبودِ الگویی درخور برای خاک‌سپاری پسماند و انجام خاک‌سپاری به شیوه کهن، باعث پخش شیرابه پدید آمده به پیرامون شده است، همچنین با وزش باد، نبودِ پوشش گیاهی، پخش پسماند به پیرامون جایگاه خاک‌سپاری، فراوانی بندپایان و جانوران می‌تواند مایه گسترش بیماری در جایگاه خاک‌سپاری پسماند شود (۱۸).

روش نمونه‌برداری، آماده‌سازی و آنالیز نمونه‌ها

در این پژوهش از ۶ جایگاه گوناگون خاک‌سپاری پسماندهای شهری همدان، در آبان ماه سال ۱۳۹۹ نمونه‌برداری از خاک (۰-۳۰ سانتی‌متر) و آب در ۳ تکرار به گونه مرکب انجام شد. در شکل ۱ جایگاه نمونه‌برداری و در جدول ۱ ویژگی‌های ۶ جایگاه نمونه‌برداری آورده شده است.

شکل ۱. نمایش جایگاه‌های نمونه‌برداری از خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی همدان

نیاز به یادآوری است که جایگاه خاک‌سپاری پسماند نوین شهری هم‌اکنون کارا است و هنوز روی آشغال‌های آن با خاک پوشانده نشده است و نمونه‌برداری از خاک این جایگاه (شماره ۲) از بخش زیرین آشغال‌ها انجام شد، ولی در جایگاه‌های دیگر از لایه صفر تا ۳۰ سانتی‌متری خاک رویین (پوششی) آنها نمونه‌برداری انجام شد.

جدول ۱. ویژگی‌های ۶ جایگاه خاک‌سپاری پسماند

جایگاه	کد جایگاه روی نقشه	وضعیت جایگاه	رنگ جایگاه	مساحت (هکتار)	عمق (متر)	زمان تقریبی خاک‌سپاری پسماند
۱	S1	منطقه دست‌نخورده		۵۳/۳۹	–	–
۲	S2	دفن پسماند شهری		۱/۶۰	۲۲-۱۸	۹۴-۱۳۹۲
۳	S3	دفن پسماند شهری		۵/۵۷	۱-۱/۵	قبل از ۱۳۸۰
۴	S4	شهری+ بیمارستانی		۳/۶۶	۳ -۲/۵	۸۴-۱۳۸۳
۵	S5	دفن بیمارستانی		۱/۲۴	۲/۵ -۱/۵	۹۴-۱۳۹۳
۶	S6	خاک پیرامون لاگون		–	–	–

خاک‌ها به آزمایشگاه رسانده شد، بخشی از آن در مجاورت هوا خشک و در دمای آزمایشگاه نگه‌داری و مانده‌های گیاهی، ریشه و مواد آلی از آن جدا شدند و سنگ‌ریزه با الک ۲ میلی‌متری جداسازی شد. بخشی دیگر از خاک‌ها بی‌درنگ پس از رسانده شدن به آزمایشگاه برای انجام آزمون‌های زیستی در یخچال نگهداری شد. برخی ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک‌ها اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری بافت و توزیع اندازه ذرات به روش هیدرومتری (۱۹) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری pH و EC [1] در عصاره خاک، اندازه ۵ گرم از خاک به نسبت ۱:۲ با آب مقطر آمیخته و برای ۳۰ دقیقه شیک و در ۴۵۰۰ دور برای ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و در عصاره رویین pH و EC به‌ترتیب با بهره‌گیری از دستگاه pHمتر و EC سنج (۲۰) اندازه گرفته شد. درصد کربن آلی به روش والکی- بلاک (۱۹۳۴) (۲۱) و گنجایش تبادل کاتیونی به روش استات آمونیوم اندازه‌گیری شد (۲۲). برای ارزیابی تنفس پایه (BR) [2]، نمونه‌های خاک در ظرف‌های ویژه تنفس ریخته و در مجاورت محلول هیدروکسید سدیم ۰/۵ نرمال برای ۷ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از پایان انکوباسیون سود مانده با اسید کلریدریک ۰/۲۵ نرمال تیتر شد. برای تیتراسیون از شناساگر فنل فتالئین بهره‌گیری شد (۲۳). برای اندازه‌گیری تنفس برانگیخته با سوبسترا (SIR) [3] نیز مانند روش تنفس پایه انجام شد و تنها به اندازه ۲ میلی‌لیتر از محلول گلوکز ۰/۲٪ به نمونه‌های خاک افزوده شد (۲۴). زمان انکوباسیون برای همه نمونه‌ها ۲۴ ساعت بود.

1. Electrical conductivity
2. Basal respiration
3. Substrate induced respiration

ارزیابی شمار و درصد پایداری باکتری‌ها در خاک

در این پژوهش شمار باکتری‌ها در خاک هر جایگاه و توان پایداری آنها در برابر آلودگی ۱۰ پادزیست پرکاربرد آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین، سفکسیم، جنتامایسین، استرپتومایسین، تتراسایکلین، داکسی‌سایکلین، کلرامفنیکل، لینکومایسین و مترونیدازول در کشتگاه جامد نوترینت آگار (NA) [4] به گونه زیر بررسی شد و ناهمانندی درصد باکتری‌های پایدار هر خاک آزمون و گزارش گردید.

فراوانی باکتری‌ها به روش کلنی شماری (CFU) [5] در کشتگاه پایه نوترینت آگار شمارش شد (۲۴). فراوانی قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها به‌ترتیب در کشتگاه اختصاصی PDA [6]، RBSCN-Agar [7] (۲۵)، Kings B-Agar و EMB [8] (۲۶، ۲۷) شمارش شد. برای این کار از خاک‌ها و شیرابه سری رقت (۴-۱۰) تهیه شد و سپس به اندازه ۵۰ میکرولیتر از عصاره روئی در کشتگاه آماده شده در پتری‌ها ریخته و با پیپت پاستور پخش شد. پتری‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد برای ۷۲ ساعت انکوبه و سپس شمارش شدند.

همچنین درصد باکتری‌های پایدار با کاربرد ۱۰ پادزیست پرکاربرد در کشتگاه جامد NA بررسی‌شد. برای این کار در آغاز

4. Nutrient agar
5. Colony count
6. Potato dextrose agar
7. Rose Bengal starch casein nutrient agar
8. Eosin methylene blue

از خاک‌ها و شیرابه سری رقت (۴-۱۰) تهیه شد، سپس غلظت ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای پادزیست‌های آموکسی‌سیلین، آمپی‌سیلین و تتراسایکلین، غلظت ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای جنتامایسین، داکسی‌سایکلین و لینکومایسین، غلظت ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای پادزیست استرپتومایسین، غلظت ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای پادزیست‌های کلرامفنیکل و مترونیدازول و غلظت ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای پادزیست سفکسیم به کشتگاه NA آماده شده، افزوده شد (۲۸). سپس به اندازه ۵۰ میکرولیتر از عصاره روئی سری رقت‌های آماده شده در کشتگاه آماده شده در پتری دیش‌ها ریخته و با پیپت پاستور پخش شد. پتری دیش‌ها در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد برای ۷۲ ساعت انکوبه و سپس شمارِ باکتری‌های خاک و درصد باکتری‌های پایدار از تقسیم CFU کشتگاه دارای فلز بر CFU کشتگاه گواه (بدون فلز) ضرب‌در ۱۰۰ برای هر نمونه از خاک برآورد و آزمون گردید.

اندازه‌گیری غلظت بازدارنده پنجاه درصدی

در این پژوهش برای خاک دست‌نخورده با کمترین درصد باکتری‌های پایدار و خاک جایگاه پسماند نوین با بیشترین درصد باکتری‌های پایدار پاسخ به دوز ۳ پادزیست آمپی‌سیلین، جنتامایسین و تتراسایکلین و ۴ فلز سرب، مس، روی و کادمیوم آزمون شد. غلظت‌ها برای هر پادزیست در هر خاک بسته به پاسخ باکتری‌های آنها ناهمانند بود؛ به گونه‌ای که برای پادزیست آمپی‌سیلین در خاک دست‌نخورده، دامنه غلظت صفر تا ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر و در خاکچال پسماند نوین دامنه غلظت صفر تا ۱۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر آزمون شد؛ برای پادزیست جنتامایسین در خاک دست‌نخورده دامنه غلظت صفر تا ۱۸ میلی‌گرم بر لیتر و در خاکچال پسماند نوین، دامنه غلظت صفر تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌کار رفت. همچنین برای پادزیست تتراسایکلین در خاک دست‌نخورده غلظت صفر تا ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای خاکچال پسماند نوین، غلظت صفر تا ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌کار برده شد. با افزودن غلظت‌های گوناگون پادزیست‌ها به محیط کشت NA و مایه‌زنی عصاره خاک‌ها در رقت ۴-۱۰ در پتری دیش‌ها و سپس شمارش فراوانی باکتری‌ها پس از ۳ روز (دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد) شمارش آنها انجام شد.

آنالیز آماری

این پژوهش با طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. داده‌های به‌دست آمده از همه آزمایش‌ها در بخش‌های گوناگون به کمک نرم‌افزار SAS آزمون آماری شد. بر اساس نتایج آزمون کولموگروف-اسمیرنوف[1]، داده‌های درصد کربن آلی، فراوانی اکتینومیست‌ها و درصد باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست پراکندگی نرمال نداشتند و داده‌های درصد کربن آلی بر روش وارون، داده‌های فراوانی اکتینومیست‌ها بر روش استانداردسازی و درصد باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست‌های استرپتومایسین، لینکومایسین، تتراسایکلین، آموکسی‌سیلین، جنتامایسین، کلرامفنیکول و مترونیدازول بر روش کاکس باکس نرمال شدند. آزمون میانگین داده‌های آزمایشی به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل بهره‌گیری شد.

یافته‌ها

در بررسی دانه‌بندی و بافت خاک‌های نمونه‌برداری شده از سه خاک دست‌نخورده، خاکچال کهنه پسماند شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی، بافت همگی لومی بوده و به‌ترتیب دارای ۴۱/۳٪، ۵۰/۶٪ و ۳۶٪ شن، ۳۷/۳٪، ۲۸/۶٪ و ۴۲/۶٪ سیلت و ۲۱/۳٪، ۲۰/۶٪ و ۲۱/۳٪ رس بودند. برای خاکچال نوین پسماند شهری و خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی بافت لوم شنی به‌دست آمد که به‌ترتیب دارای ۷۲/۶٪ و ۵۵/۳٪ شن، ۱۵/۳٪ و ۳۱/۳٪ سیلت، ۱۲٪ و ۱۳/۳٪ رس بودند. برای خاک پیرامون لاگون شیرابه بافت لوم رسی شنی با ۵۰/۶٪ شن، ۲۸/۶٪ سیلت و ۲۰/۶٪ رس بود. بنابراین خاک‌های ۶ جایگاه نمونه‌برداری شده دارای بافتی میانه تا سبک بوده و بیشتر بافتی لوم تا لوم شنی داشتند.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس برخی ویژگی‌های شیمیایی

1. Kolmogorov-Smirnov test

خاک‌ها، نشان جایگاه نمونه‌برداری بر همه ویژگی‌ها در پایه آماری ۱٪ معنادار بود و تنها نشان آن بر pH از دیدگاه آماری معنادار نبود. آزمون میانگین ویژگی‌های شیمیایی خاک‌های نمونه‌برداری شده از ۶ جایگاه خاک‌سپاری پسماند نشان داد که کربن آلی در خاک این جایگاه‌ها ناهمانندی معناداری دارد؛ به گونه‌ای که بیشترین اندازه کربن آلی در خاک پیرامون لاگون شیرابه (۲/۵۶٪) و کمترین آن در خاکچال پسماند بیمارستانی (۰/۸۷٪) مشاهده شد (جدول ۲).

pH در همه خاک‌ها قلیایی بوده و همچنین ناهمانندی معناداری در خاک‌ها نشان نداد. بیشترین رسانندگی الکتریکی در خاک پیرامون لاگون شیرابه و کمترین در خاک دست‌نخورده اندازه‌گیری شد. همچنین بیشترین گنجایش تبادلی در خاک دست‌نخورده با بافت لومی و کمترین اندازه آن در خاکچال نوین پسماند شهری با بافت لوم شنی به‌دست آمد.

جدول ۲. آزمون میانگین داده‌های هر یک از ویژگی‌های زیستی خاک‌های مورد مطالعه

جایگاه	خاک دست‌نخورده	خاکچال نوین پسماند شهری	خاکچال کهنه پسماند شهری	خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی	خاکچال پسماند بیمارستانی	خاک پیرامون لاگون شیرابه
کربن آلی (درصد)	۱/۱۵^{ab}±۰/۲۶	۱/۲^{b}±۰/۱	۱/۲۶^{b}±۰/۲۳	۱/۰۶^{ab}±۰/۲	۰/۸۷^{c}±۰/۱۷	۲/۵۶^{a}±۰/۲۷
pH	۸/۵۲±۰/۰۷	۸/۰۹±۰/۳	۸/۳۸±۰/۳۱	۸/۴۳±۰/۳۶	۸/۱۵±۰/۱۸	۷/۹۱±۰/۳۳
رسانندگی الکتریکی (میلی زیمنس بر سانتی‌متر)	۰/۱e±۰/۰۱	۲/۳^{b}±۰/۱۷	۰/۷۶^{d}±۰/۱۱	۱/۹^{c}±۰/۲	۲/۱۶^{bc}±۰/۱۵	۷/۲^{a}±۰/۳
گنجایش تبادلی (سانتی‌مول بار بر کیلوگرم خاک)	۳۸/۷۵^{a}±۱/۷۶	۱۳/۹۸^{cd}±۱/۳۵	۱۷/۸۲^{b}±۱/۰۲	۱۸/۱۱^{b}±۱/۰۲	۱۵/۱۶^{d}±۰/۸۸	۱۶/۲۴^{bc}±۰/۵۱
تنفس پایه (میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در خاک خشک در روز)	۰/۰۷^{bc}±۰/۰۷	۰/۳۶^{a}±۰/۰۳	۰/۰۹^{bc}±۰/۰۷	۰/۰۳^{c}±۰/۱	۰/۳۴^{a}±۰/۰۱	۰/۱۵^{b}±۰/۰۷
تنفس برانگیخته (میلی‌گرم دی‌اکسید کربن در خاک خشک در روز)	۰/۳۱^{bc}±۰/۱۲	۰/۶۸^{a}±۰/۱۶	۰/۲۱^{c}±۰/۱۸	۰/۵۷^{ab}±۰/۰۶	۰/۲۲^{c}±۰/۰۸	۰/۲۶^{c}±۰/۲

در هر رج از جدول، داشتن دست‌کم یک واژه یکسان (a، b، c و....) نشان‌دهنده نبودِ ناهمانندی معنادار در پایه آماری ۵٪ است.

بر اساس نتایج آزمون میانگین داده‌های تنفس پایه خاک‌ها (جدول ۲)، بیشترین اندازه تنفس در خاکچال نوین پسماند شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی و کمترین اندازه تنفس در خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی بود. بالاترین اندازه تنفس برانگیخته در خاکچال نوین پسماند شهری و کمترین اندازه تنفس برانگیخته در خاکچال کهنه پسماند شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی اندازه‌گیری شد.

شمارش باکتری‌ها و تجزیه واریانس داده‌های آنها در خاک‌های ۶ جایگاه نشان داد که دست‌کاری خاک، پیامد معناداری (در پایه آماری ۱٪) بر آنها داشته است ($p\leq ۰/۰۱$). بر اساس نتایج آزمون میانگین لگاریتم فراوانی ریزجانداران در خاک‌ها (جدول ۳)، برای هر ۴ گروه قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها، بالاترین فراوانی در خاکچال نوین پسماند شهری و کمترین فراوانی به‌ترتیب برای قارچ‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها در خاک دست‌نخورده و برای اکتینومیست‌ها در خاک پیرامون لاگون شیرابه به‌دست آمد. لگاریتم فراوانی کل باکتری‌ها در کشتگاه NA در خاکچال پسماند نوین شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی بالا و به‌ترتیب ۷/۶ و ۷/۶۷ بود و کمترین لگاریتم فراوانی (۷) در خاکچال کهنه پسماند شهری به‌دست آمد.

جدول ۳. آزمون میانگین داده‌های لگاریتم فراوانی ریزجانداران خاک‌های بررسی شده

جایگاه	خاک دست‌نخورده	خاکچال نوین پسماند شهری	خاکچال کهنه پسماند شهری	خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی	خاکچال پسماند بیمارستانی	خاک پیرامون لاگون شیرابه	شیرابه
قارچ‌ها	۴/۵^{de}±۰/۱۷	۵/۳۵^{a}±۰/۰۸	۵/۰۷^{ab}±۰/۰۷	۴/۷۶^{bcd}±۰/۱۵	۴/۹۲^{bc}±۰/۱۵	۴/۶۹^{cde}±۰/۳۵	۴/۴e±۰/۱۷
اکتینومیست‌ها	۵/۰۲^{b}±۰/۲	۵/۲۸^{a}±۰/۰۷	۴/۷۹^{ab}±۰/۱۹	۴/۹۹^{ab}±۰/۰۸	۴/۵^{ab}±۰/۳۴	۳/۵۳^{c}±۱/۳۲	۴/۴^{ab}±۰/۱۷
باکتری‌ها	۷/۲۸^{d}±۰/۰۳	۷/۶^{ab}±۰/۰۷	۷^{c}±۰/۱۳	۷/۴۹^{ab}±۰/۱۳	۷/۶۷^{a}±۰/۰۷	۷/۴۶^{b}±۰/۱	۹/۶۷^{d}±۳/۲۱
سودوموناس‌ها	۵/۵۳^{b}±۰/۲۱	۶/۱۳^{a}±۰/۲۱	۵/۸۹^{a}±۰/۱۶	۶/۰۹^{a}±۰/۲۲	۶/۰۶^{a}±۰/۱۲	۵/۹۳^{a}±۰/۲۱	۵/۰۱^{c}±۰/۱۲
انتروباکترها	۴/۵^{c}±۰/۱۷	۵/۹۸^{a}±۰/۱۲	۵/۲۱^{b}±۰/۱۷	۵/۷^{a}±۰/۱۴	۵/۳^{b}±۰/۱۳	۵/۲۱^{b}±۰/۲۲	۴/۶۶±۰/۳۱

در هر رج از جدول داشتن دست‌کم یک واژه یکسان (a، b، c و....) نشان‌دهنده نبودِ ناهمانندی معنادار در پایه آماری ۵٪ است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌های درصد باکتری‌های پایدار در برابر ۱۰ پادزیست به‌کار برده شده در خاک‌ها، پیامد جایگاه نمونه‌برداری در پایه آماری ۱٪ به‌جز پادزیست کلرامفنیکل بر همه آنها معنادار بود (p≤۰/۰۱). آزمون میانگین داده‌های درصد باکتری‌های پایدار تفاوت معناداری را نشان دادند (جدول ۴) که بالاترین درصد باکتری‌های پایدار در خاکچال نوین پسماند شهری و کمترین درصد باکتری‌های پایدار برای پادزیست سفکسیم در خاک دست‌نخورده و خاک پیرامون لاگون شیرابه برای پادزیست مترونیدازول خاک دست‌نخورده برای پادزیست لینکومایسین در شیرابه و برای جنتامایسین در خاکچال پسماند بیمارستانی و خاک پیرامون لاگون شیرابه بود. نتایج میانگین بین داده‌های هر پادزیست در همه خاک‌ها بالاترین درصد باکتری‌های پایدار را در پادزیست سفکسیم (۵۱/۲۷) و کمترین درصد باکتری‌های پایدار را در لینکومایسین (۹/۲۷) نشان داد.

گذشته از آن پاسخ‌دهی باکتری‌ها به پادزیست‌های به‌کار رفته در جایگاه‌های گوناگون ناهمانند بود، ولی در مجموع در همه خاک‌ها بالاترین درصد باکتری‌های پایدار در کاربرد پادزیست‌های تتراسایکلین (۲۳/۷) و سفکسیم (۵۱/۲۷) و کمترین آن در کاربرد پادزیست‌های آموکسی‌سیلین (۱۸/۲)، لینکومایسین (۹/۲۷) و جنتامایسین (۹/۹۵) مشاهده شد که همین در نمونه‌های خاکچال پسماند نوین شهری و شیرابه بیش از نمونه‌های دیگر بود.

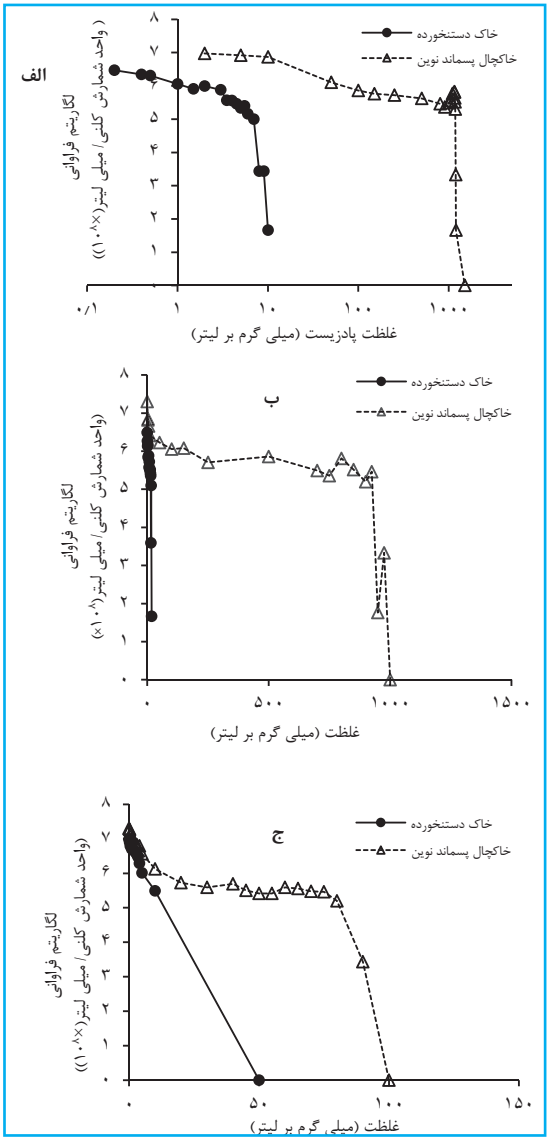
جدول ۴. آزمون میانگین درصد پایداری پادزیستی[1] باکتری‌های خاک در برابر ۱۰ پادزیست پرکاربرد در جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی همدان

جایگاه	خاک دست‌نخورده	خاکچال نوین پسماند شهری	خاکچال کهنه پسماند شهری	خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی	خاکچال پسماند بیمارستانی	خاک پیرامون لاگون شیرابه	شیرابه	میانگین
آمپی سیلین	۲۴/۴۸^{c}±۵/۱۳	۵۹/۳۱^{a}±۲/۲۱	۳۶/۸۸^{b}±۳/۸۵	۹/۳۳^{de}±۵/۲۸	۳/۳۶^{e}±۱/۶۲	۱۱/۸^{d}±۵/۱۵	۳/۰۳^{e}±۵/۲۴	۲۱/۱۷
آموکسی سیلین	۱/۳۵^{c}±۰/۴۷	۶۴/۳۲^{a}±۱۱/۵۱	۹/۰۷^{b}±۱/۵۴	۰/۳^{d}±۰/۵۲	۰/۴۷^{d}±۰/۵۱	۰^{d}±۰	۳۴/۰۹^{ab}±۷/۲۲	۱۸/۲
سفکسیم	۲۵/۶۴^{b}±۸/۹	۸۳/۶۵^{a}±۳/۲۴	۶۳/۴۲^{ab}±۱۵/۲۹	۸۳/۹۲^{a}±۵۱/۹۸	۴۵/۰۳^{ab}±۱۱/۱۳	۲۳/۶۷^{b}±۱۰/۱۲	۳۳/۵۹^{b}±۲۴/۶۲	۵۱/۲۷
جنتامایسین	۰/۳۷^{c}±۰/۶۵	۲۱/۳۷^{a}±۸/۵۹	۲/۵^{b}±۰/۴۷	۰/۳^{c}±۰/۵۲	۰^{d}±۰	۰^{d}±۰	۲۵/۲۵^{a}±۱۳/۱	۹/۹۵
استرپتومایسین	۱/۳۳^{c}±۱/۴۳	۵۱/۲۱^{a}±۴/۰۸	۶/۰۱^{b}±۴/۷۲	۶/۲۱^{b}±۳/۴۹	۶/۴۵^{b}±۳/۵۳	۰/۷۸^{c}±۰/۶۸	۰^{c}±۰	۱۱/۱
تتراسایکلین	۴/۴۲^{c}±۲/۳	۶۴/۳۸^{a}±۵/۵۱	۲۸/۰۷^{b}±۹/۲۱	۱۱/۳۹^{c}±۶/۳	۸/۳۹^{c}±۳/۱۸	۲۱/۷۴^{b}±۶/۶۳	۰^{d}±۰	۲۳/۷
داکسی سایکلین	۰/۶۶^{d}±۰/۵۷	۸۱/۰۹^{a}±۳/۶۹	۳۰/۶۵^{b}±۱۱/۲۵	۳/۱۸^{c}±۱/۲۷	۰/۱۷^{d}±۰/۲۹	۰/۳^{d}±۰/۵۲	۲۵/۲۵^{b}±۲۱/۷۶	۲۰/۱۸
کلرامفنیکول	۸/۶۴±۷/۱۵	۲۲/۵۱±۰/۰۹	۵/۸۴±۱/۸۱	۵/۹۸±۶/۷۵	۱/۱۸±۰/۷	۱/۳۸±۰/۳۶	۱۱/۱۱±۹/۶۲	۷/۸۷
لینکومایسین	۰/۷۵^{bc}±۱/۳۱	۴۸/۷۴^{a}±۵/۵۳	۰/۶۵^{bc}±۱/۱۳	۰/۱۸^{c}±۰/۳۱	۴/۸۴^{b}±۲/۰۸	۰/۵^{bc}±۰/۴۶	۰^{c}±۰	۹/۲۷
مترونیدازول	۴/۰۸^{d}±۱/۹۷	۶۹/۶^{a}±۱۷/۸۱	۱۴/۲۶^{b}±۱/۷۴	۹/۶۱^{bc}±۴/۰۰۸	۵/۴۲^{dc}±۱/۲۱	۵/۱۶^{dc}±۳/۳۳	۲۰/۲^{b}±۶/۱۲	۱۸/۳۳

در هر رج از جدول داشتن دست‌کم یک واژه یکسان (a، b، c و ...) نشان‌دهنده نبودِ ناهمانندی چشم‌گیر در پایه آماری ۵٪ است.

1. Antibiotic resistance percentage

چگونگی پاسخ به دوز باکتری‌ها در برابر ۳ پادزیست آمپی‌سیلین، تتراسایکلین و جنتامایسین در ۲ خاک دست‌نخورده با کمترین درصد باکتری‌های پایدار و خاکچال پسماند نوین با بیشترین باکتری‌های پایدار در نمودارهای شکل ۲ آورده شده است. پاسخ به دوز باکتری‌های خاک برای هر ۳ پادزیست یاد شده در خاکچال نوین پسماند شهری در برابر خاک دست‌نخورده با دامنه غلظت‌های بالاتری بود و پایداری بیشتری را از خود نشان دادند. غلظت کشنده این پادزیست‌ها برای باکتری‌های خاکچال نوین پسماند شهری به‌ترتیب ۱۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بود، ولی برای خاک دست‌نخورده به گونه نمایانی کمتر و به‌ترتیب ۱۰، ۱۸ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. در مجموع در هر دو خاک، کمترین پاسخ یا بیشترین درصد باکتری‌های پایدار در برابر آمپی‌سیلین و بیشترین پاسخ و کمترین درصد پایداری در برابر تتراسایکلین مشاهده شد. این بخش از پژوهش نشان داد که ریزجانداران در خاکچال پسماند نوین شهری در برابر خاک دست‌نخورده سازگاری بیشتری به پادزیست‌ها دارند و پایداری بیشتری از خود نشان می‌دهند.



شکل ۲. لگاریتم فراوانی باکتری‌های ۲ خاک دست‌نخورده و خاکچال پسماند نوین در برابر ۳ پادزیست آمپی‌سیلین (الف)، جنتامایسین (ب) و تتراسایکلین (ج)

بحث

در این پژوهش کمترین میزان pH در خاک پیرامون لاگون شیرابه اندازه‌گیری شد که نشان می‌دهد آلودگی‌های مردمزاد[1] که در پی زندگی و کارهای آدمی در این خاک‌ها پدید می‌آید، درجا نمی‌ماند و به بخش‌های پست‌تر می‌رسند و در آنجا پیامد بزرگ‌تری به‌جا می‌گذارند. اندازه‌گیری کربن آلی نشان داد که خاک‌سپاری پسماندهای شهری در برابر پسماندهای بیمارستانی پیامد بیشتری بر این ویژگی خاک دارد. در بررسی که بارتکوویاک و همکاران بر روی سه جایگاه خاک‌سپاری پسماند بر روی کربن آلی، فسفر، پتاسیم و منیزیم انجام دادند، گزارش کردند که در این جایگاه‌ها، از پسماندهای فروزینه و ته‌نشین شده از مواد آلی تازه، آمیزه‌های هوموسی محلول در آب (اسیدهای فولویک) به آسانی در نیمرخ خاک شسته می‌شوند (۲۹). برای ارزیابی پیامد پادزیست‌ها بر کارکرد جوامع میکروبی خاک، ویژگی‌هایی مانند فعالیت میکروبی، زیست توده و تنفس اندازه‌گیری می‌شود. به این شکل که تنفس برانگیخته با سوبسترا، کل زیست توده میکروبی را نشان می‌دهد (۹، ۳۰). در اندازه‌گیری تنفس پایه خاک‌ها، بیشترین اندازه تنفس در خاکچال نوین پسماند شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی و کمترین اندازه تنفس در خاکچال پسماند شهری و بیمارستانی بود. بالاترین میانگین تنفس برانگیخته در خاکچال نوین پسماند شهری و کمترین اندازه تنفس برانگیخته در خاکچال کهنه پسماند شهری و خاکچال پسماند بیمارستانی اندازه‌گیری شد. در هر صورت کمترین اندازه تنفس پایه و برانگیخته در خاک دست‌نخورده به‌دست آمد. دانیلووا و همکاران در مطالعه‌ای که با اندازه‌گیری تنفس برانگیخته با سوبسترا بر روی خاک‌های آلوده به اکسی تتراسایکلین انجام دادند، دریافتند که در مدت ۵ روز اول آزمایش، میکروب‌هایی از خاک که به پادزیست حساس بودند، مردند که مایه کاهش سطح کلی SIR شد. پیامد بازداری وابسته به دوز پادزیست بر SIR در خاک در گام اول انکوباسیون مشاهده شد. با این‌حال، بازیابی بیشتر مقادیر SIR به سطح خاک شاهد مشاهده شد که ممکن است با تشکیل بردباری به اکسی تتراسایکلین در باکتری‌ها و کاهش زیست فراهمی پادزیست همراه باشد (۹، ۳۱). در پژوهش واکلین و همکاران که بر خاک‌های آلوده شده با مس با بهره‌گیری از سیستم MicroResp و اندازه‌گیری تنفس خاک انجام دادند، با افزایش غلظت‌های مس در خاک، اندازه تنفس CO_2 افزایش یافت. یافته‌های آنها نشان داد که پایداری ریزجانداران وابسته به افزایش بهره سوخت‌وسازی (qCO_2) است که در پی آلودگی رخ می‌دهد (۳۲). ویتر و همکاران تنفس میکروبی و گوناگونی ریزجانداران را با بررسی اسیدهای چرب فسفولیپیدی در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب دارای فلز بررسی کردند. یافته‌های آنها نشان داد که کندی رشدنمایی پس از افزودن بستره به خودی خود کمتر وابسته به دگرگونی‌های زادی یا ژنتیک در ریزجانداران است، بلکه بیشتر وابسته به دگرش جامعه میکروبی در زیستگاه و افزایش فراوانی گونه‌های پایدار است که می‌توانند الگوهایی ویژه و کارآمد برای بهره‌گیری از بستره در زیستگاه آلوده داشته باشند (۳۳).

در بررسی شمار باکتری‌ها در خاک‌های نمونه‌برداری شده، بیشترین فراوانی باکتری‌ها برای خاکچال پسماند بیمارستانی و کمترین آن در خاکچال کهنه پسماند شهری بود. همچنین برای هر ۴ گروه ریزجانداران شمار قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها در خاکچال نوین پسماند شهری بالاترین بود و کمترین فراوانی برای قارچ‌ها، سودوموناس‌ها و انتروباکترها در خاک دست‌نخورده و برای اکتینومیست‌ها در خاک پیرامون لاگون شیرابه به‌دست آمد. کم بودن فراوانی ریزجانداران در خاک‌های دست‌نخورده وابسته به کمبود مواد آلی و کمبود فراوانی اکتینومیست‌ها در خاک پیرامون لاگون شاید به نمناکی و خیسی آن وابسته باشد (۳۴). از سوی دیگر بالا بودن لگاریتم فراوانی ریزجانداران در جایگاه نوین پسماند شهری می‌تواند وابسته به تازگی و فراهمی سوبسترای ریزجانداران در خاک این جایگاه باشد. فلورز و همکاران شماری از باکتری‌های بیماری‌زا و

1. Anthropogenic

فرصت‌طلب را از خاک‌ها و شیرابه‌های جایگاه خاک‌سپاری پسماند در مکزیک جدا کردند و یادآور شدند که فراوانی این باکتری‌ها برای بهداشت مردم و بهداشت کاری آنها زیان‌بار است. از نمونه‌های خاک و آب، ۲۵ جدایه به‌دست آمد که از همه باکتری‌های جدا شده، ۱۳ باکتری گرم مثبت و ۱۲ باکتری گرم منفی بودند که همگی از جنس‌های Bacillus، Citrobacter، Pseudomonas، Klebsiella، Enterobacter، Proteus، Aeromonas، Listeria و Shigella بودند. یادآور شود که بیشتر این باکتری‌ها از گروه باکتری‌های روده‌ای هستند (۳۵). در بررسی ساکی و میزاء، بیشتر باکتری‌های جدا شده از خاک‌های آلوده در آکرا، کشور غنا از جنس‌ها و گونه‌های Ecoli،Salmonella spp، Vibro spp و Bacillus spp بودند. از میان همه باکتری‌های جدا شده از جایگاه‌های نمونه‌گیری، جنس باسیلوس فراوان‌ترین بود. این فراوانی وابسته تیمار خاک با پسماندها و توانایی زیستن و پایداری این باکتری‌ها در زیستگاه‌های آلوده است (۳۶).

داده‌های درصد باکتری‌های پایدار در برابر ۱۰ پادزیست به‌کار برده شده در این پژوهش در جایگاه‌های گوناگون ناهمانندی معناداری را در پایه آماری ۱٪ نشان داد که بالاترین درصد باکتری‌های پایدار برای بیشتر پادزیست‌ها در خاکچال نوین پسماند شهری و کمترین درصد باکتری‌های پایدار در خاک دست‌نخورده مشاهده شد. در بررسی پاسخ به دوز ۳ پادزیست آمپی‌سیلین، جنتامایسین و تتراسایکلین برای خاکچال نوین پسماند شهری در برابر خاک دست‌نخورده، دامنه غلظت‌های بالاتر و پایداری بیشتری مشاهده شد. همان‌گونه که مشاهده شد، غلظت کشنده این پادزیست‌ها برای باکتری‌های خاکچال نوین پسماند شهری به‌ترتیب ۱۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و برای خاک دست‌نخورده به‌ترتیب ۱۰، ۱۸ و ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. بسیاری از پژوهش‌ها جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماند را به خاستگاه عناصر ژنتیکی جابجا شونده برای پایداری، ژن‌های پایداری پادزیست‌ها گزارش کرده‌اند. ژن‌های پایدار در باکتری‌ها می‌توانند زادی باشند که همراه پسماند به خاک می‌رسند یا در پی فشار گزینشی یک پادزیست ویژه به باکتری‌های خاک پدید می‌آیند. اندازه بالای پادزیست‌های افزوده شده به خاک می‌تواند نقش ویژه‌ای بر پایداری باکتری‌های بومی خاک داشته باشد که می‌تواند به دیگر ریزجانداران برسد (۳۷). در پژوهشی در کشور غنا اندازه بالای پادزیست‌ها، به‌ویژه پنی‌سیلین، در همه نمونه‌ها (چه در خاک و چه در شیرابه) گزارش شد که بازتابی از آسانی خرید آن‌ها و روش‌های نادرست کاربرد آن‌ها دارد که در پایان خود را در جایگاه خاک‌سپاری پسماند می‌رسانند (۳۸).

در میان باکتری‌ها خانواده انتروباکتریاسه در برابر پادزیست‌های بتالاکتام (آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و سفوروکسیم) پایداری بالایی دارند، پایداری در برابر آمپی‌سیلین در گونه‌های باسیلوس و لیستریا بیشتر مشاهده شد. اگر بیشتر سویه‌های باسیلوس برای آدمی بیماری‌زا نباشند، فراوانی این باکتری‌ها که دارای ژن‌های پایداری هستند، می‌تواند آسیب‌زا باشد. آنها می‌تواند ژن‌های پایداری را به دیگر باکتری‌های بیماری‌زا برسانند. پایداری باکتری‌های روده‌ای در برابر پادزیست‌ها نگرانی بزرگ بهداشت جهانی است (۳۹).

ثریدیچ و همکاران باکتری پایدار به پادزیست اشرشیاکلی را در نمونه‌های شیرابه جایگاه خاک‌سپاری پسماندشهری بی‌هوازی و نیمه‌هوازی بررسی کردند که هر دو پایداری بالایی را در برابر دسته بزرگی از پادزیست‌ها نشان دادند. این بررسی نشان داد که بودن پادزیست‌ها در شیرابه می‌تواند بر پاسخ‌دهی ای کولای[1] در جایگاه خاک‌سپاری پسماند نشان بگذارد (۴۰). وانگ و همکاران دریافتند که ژن‌های پایداری در برابر پادزیست‌ها به گونه شگفت‌آوری با کپی ژن S-rRNA16 باکتریایی در ۱۲ نمونه شیرابه جایگاه دفن پسماند، که از ۶ جایگاه گوناگون در چین سرچشمه گرفته‌اند و سن آن‌ها از ۵ ماه تا ۸ سال است، وابستگی دارد. این پژوهش نشان داد که گوناگونی باکتری‌ها در شیرابه‌های پسماند در فرآیند پخش بهتر ژن‌های پایداری با جابجایی افقی ژن کارایی دارد (۷). سانگ و همکاران گزارش دادند که پادزیست‌ها و ژن‌های پایداری

1. E.coli

با برخی پارامترهای فیزیکوشیمیایی (مانند غلظت نیترات و نمناکی) جایگاه خاک‌سپاری پسماند وابستگی دارند (۴۱). افزون بر این، سن، آب‌وهوا و چگونگی شیرابه پسماند، پیامد چشم‌گیری بر غلظت فلزات سنگین، گوناگونی باکتری‌ها، پادزیست‌ها و ژن‌های پایداری در شیرابه پسماند دارد (۴۲). پژوهش کولینز و همکاران نشان داد که Enterococcus faecalis جدا شده از جایگاه خاک‌سپاری پسماند، پایداری ۱۰۰٪ در برابر کلرامفنیکل، اریترومایسین و تتراسایکلین دارد. در این پژوهش ژن‌های پایداری در برابر پادزیست‌ها و فلزها بیشتر بر ژن‌های پایداری در برابر فلزها یافت شد (۴۳). پژوهش‌های یاد شده و یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که جایگاه‌های خاک‌سپاری پسماندهای شهری و بیمارستانی زیستگاه شایسته‌ای برای باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست‌ها بوده و ترابری ژن پایداری[1] در آنها بیشتر انجام می‌شود. این پژوهش به گونه ویژه‌ای نشان داد که باکتری‌های رسیده از پسماندهای شهری در جایگاه نوین خاک‌سپاری پایداری بسیار بالایی در برابر پادزیست‌ها دارند که فراتر از فشارگزینشی پادزیست‌ها در افزایش پایداری باکتری‌های بومی خاک است.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج این پژوهش، درصد باکتری‌های پایدار در برابر ۱۰ پادزیست به‌کار برده شده بالا بوده و این نشان‌دهنده فراوانی باکتری‌های پایدار در برابر پادزیست‌ها و ژن‌های پایداری در این جایگاه‌های دفن پسماند است. در میان جایگاه‌های بررسی شده، بررسی باکتری‌های خاک در جایگاه نوین پسماند شهری به گونه‌ای ویژه نشان داد که بخش بزرگی از باکتری‌های پایدار می‌تواند همراه پسماندها به خاک برسند که این شانس ترابری افقی ژن‌های پایداری را از آنها به باکتری‌های بومی خاک بیشتر می‌کند.

تشکر و قدردانی

این نوشتار منتج از پایان‌نامه دانشجو با کد ۱۶۳۳۵۱۴ می‌باشد. بدین‌وسیله از دانشگاه بوعلی سینا برای فراهم کردن هزینه و همچنین از همکاری کارکنان محترم سازمان دفن پسماند شهر همدان و همه کسانی که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Chen Y.C. Evaluating greenhouse gas emissions and energy recovery from municipal and industrial solid waste using waste-toenergy technology. J. Clean. 2018; 192: 262–269.
2. United Nations. Environment Programme (UNEP).Waste Management in ASEAN Countries.accessed on 30 January 2021. 1-76.
3. Melare DS. Gonzalez A.V. Faceli S.M. Casadei K.V. Technologies and decision support systems to aid solid-waste management: A systematic review. Waste Manag. 2017; 59: 567–584.
4. World Bank. The World Bank Annual Report. The World Bank: Washington, DC, USA, accessed on 20 March. 2021.
5. Kaza S. Yao L. Bhada-Tata P. VanWoerden F. What aWaste 2.0: A Global Snapshot of SolidWaste Management to 2050; World Bank Publications: Washington, DC, USA. accessed on 30 January. 2021.
6. Yu X. Sui Q. Lyu S. Zhao W. Liu J. Cai Z. Yu G. Barcelo D. Municipal solid waste landfills: An underestimated source of pharmaceutical and personal care products in the water environment. Environ. Sci. Technol. 2020; 54: 9757–9768.
7. Wang Y. Tang W. Qiao J. Song L. Occurrence and prevalence of antibiotic resistance in landfill leachate. Environ. Sci. Pollut. Res. 2015; 22: 12525–12533.
8. Wu S. Xu S. Chen X. Sun H. Hu M. Bai Z. Zhuang G. Zhuang X. Bacterial Communities Changes during FoodWaste Spoilage. Sci. Rep. 2018; 8: 8220.
9. Danilova N. Galitskaya P. Selivanovskaya S. Veterinary antibiotic oxytetracycline's effect on the soil microbial community. Journal of Ecology and Environment. 2020; 1-9.
10. Qiao M. Ying G.G. Singer A.C. Zhu Y.G. Review of antibiotic resistance in China and its environment. Environ. 2017; 110: 160–172.
11. Grenni P. Ancona V. Barra CA. Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: a review. Microchem J. 2018; 136:25–39.
12. Akimenko Y.V. Kazeev K. SH. Kolesnikov S.I. Impact assessment of soil contamination with antibiotics for example, an ordinary chernozem. American Journal of Applied Sciences. 2015; 12 (2): 80-88.
13. Molaei A. Lakzian A. Haghnia G. Astaraei A. Rasouli-

1. Resistance gen transfer

Sadaghiani M.H. Ceccherini M.T. Assessment of some cultural experimental methods to study the effects of antibiotics on microbial activities in a soil: An incubation study. PLoS One. 2017; 12(7):1–14.

14. Martinez J.L. The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria. Proc. Biol. Sci. 2009; 276: 2521–2530.
15. Borquaye L.S. Disposal of unused and expired medicines in Ghana. West African Journal of Pharmacy. 2018; 29 (1): 84–92.
16. LaPara T.M. Burch T.R. McNamara P.J. Tan D.T. Yan M. Eichmiller J.J. Tertiary-treated municipal wastewater is a significant point source of antibiotic resistance genes into Duluth-Superior Harbor. Environmental Science and Technology. 2011; 45(22): 9543–9549.
17. Borquaye L. Ekuadzi SH. Darko E. Ahor G. Nsiah H.S. Lartey S.T. Mutala J.A. Boamah AH. Woode V.E. Occurrence of Antibiotics and Antibiotic-Resistant Bacteria in Landfill Sites in Kumasi, Ghana. Journal of Chemistry. 2019; 10 pages.
18. Khanlari GH. Taleb Bidokhti A.R. Momeni A.A. Ahmadi H.R. The effect of leachate of Hamedan landfill site on ground water. Journal of Geological Engineering. 2012; 5(3-4):92-81.
19. Gee G.W. Or D. Particle size analysis. In: Dane, J. H. and Topp, G. C. ed. Methods of soil analysis. Agronomy Monograph. American Statistical Association and Soil Science Society of America, Madison. 2002. 9: 255-293.
20. Spark D. Methods of Soil Analysis. Chemical Methods. Part 3, Soil Science Society American of Journal, Book Series No 5. 1996. 1390 pages.
21. Walkley A. Black A.I. Examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic and titration method. Soil Science. 1934; 34: 29–38.
22. Rolins M.B. Pool D.L. Measurement of exchangeable cations in bentonites", Journal clays and clay minerals, 1968; 16: 165-172.
23. Isermeyer H. Estimation of soil respiration in closed jars. Method in applied soil microbiology and biochemistry. London: Academic Press, Harcourt Brace & Company. 1952; 214-216.
24. Alef K. Nannipieri P. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic press. 1995; pp. 608.
25. Safari Sinegani A.A. Sharifi Z. Safari Sinegani M. Methods in applied microbiology. Bu-Ali Sina University Publications. 1389; 525P (Persian).
26. Collins C. Lyne P. Microbiological Methods. Butter Morths & Co. 1987; pp. 450.
27. King E.O. Ward M.K. Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. Journal of Laboratory and Clinical Medicine. 1954; 44: 301–307.
28. Patel J. Cockerill F. Alder J. Bradford P. Eliopoulos G. Hardy D. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement. CLSI standards for antimicrobial susceptibility testing. 2014; pp 1-226.
29. Bartkowiak A, Lemanowicz J, Breza-Boruta B, Zielinski A. Assessment of the Effect of Uncontrolled Landfill Sites on the Contentof Available Forms of Selected Macro and Microelements in Forest Soil. International Journal of Environmental Research. 2018; 12: 901–907.
30. Blagodatskaya E. Kuzyakov Y. Active microorganisms in soil: Critical review of estimation criteria and approaches. Soil Biol Biochem. 2013; 67:192–211.
31. Zhang Y.J. Hu H. Chen Q. Singh B. Yan H. Chen D. He J. Transfer of antibiotic resistance from manure-amended soils to vegetable microbiomes. Environ Int Elsevier. 2019; 130:1–10.
32. Wakelin S. Gerard E. Black A. Hamonts K. Condron L. Yuan T. Nostrand J.V. Zhou J. O'Callaghan M. Mechanisms of pollution induced community tolerance in a soil microbial community exposed to Cu. Environmental Pollution. 2014; 190: 1-9.
33. Witter E. Gong P. Baath E. Marstrop H. A stady of the structure and metal tolerance of the soil microbial community six years after cessation of sewage sludge application. Environmental Toxicology and Chemistry. 2000; 19: 1983- 1991.
34. Safari Sinegani A.A. Soil biology and biochemistry. Bu-Ali Sina University Publications. 1394; 586P (Persian).
35. Flores-Tena F.J. Guerrero-Barrera A. Avelar-gonzalez F.J. Ramirez-Lopez E. Martinez-Saldana M.C. Pathogenic and opportunistic gram-negative bacteria in soil, leachate and air in San Nicolás landfill at Aguascalientes, Mexico. Rev Latinoam Microbiol. 2007; 49 (1-2): 25-30.
36. Sackey L.N.A. Meizah K. Assesment of the quality of leachate at Sarbah landfill site at Weija in Accra. Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology. 2015; 7(6): 56–61.
37. You X. Wu D. Wei H. Xie B. Lu J. Fluoroquinolones and β-lactam antibiotics and antibiotic resistance genes in autumn leachates of seven major municipal solid waste landfills in China. Environment International. 2018; 113: 162–169.
38. Bartkowiak A. Lemanowicz J. Breza-Boruta B. Zielinski A.

Assessment of the Effect of Uncontrolled Landfill Sites on the Contentof Available Forms of Selected Macro and Microelements in Forest Soil. International Journal of Environmental Research. 2018; 12: 901–907.

39. Kummerer K. Significance of antibiotics in the environment. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2003; 52(1): 5–7.
40. Threedeach S. Chiemchaisri W. Watanabe T. Chiemchaisri C. Honda R. Yamamoto K. Antibiotic resistance of Escherichia coli in leachates from municipal solid waste landfills: Comparison between semi-aerobic and anaerobic operations. Bioresour. Technol. 2012; 113: 253–258.
41. Song L. Li L. Yang S. Lan J. He H. McElmurry S.P. Zhao Y. Sulfamethoxazole, tetracycline and oxytetracycline and related antibiotic resistance genes in a large-scale landfill, China. Sci. Total Environ. 2016; 551: 9–15.
42. Wu D. Huang X.-H. Sun J.-Z. Graham D.W. Xie B. Antibiotic resistance genes and associated microbial community conditions in aging landfill systems. Environmental Science and Technology. 2017; 51(21): 12859–12867.
43. Collins-Fairclough A.M. Co R. Ellis M.C. Hug L.A. Widespread Antibiotic, Biocide, and Metal Resistance in Microbial Communities Inhabiting a MunicipalWaste Environment and Anthropogenically Impacted River. mSphere 2018; 3, e00346-18.