Τα κτηνιατρικά αντιβιοτικά (ΚΑ) αποτελούν αναπόσπαστο κομμάτι της κτηνοτροφίας. Η παγκόσμια κατανάλωση ΚΑ αποτελεί περίπου το 75% της συνολικής παραγωγής αντιβιοτικών ξεπερνώντας τις ποσότητες που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ανθρώπινων λοιμώξεων. Μετά τη χορήγηση, τα ΚΑ σε μεγάλο βαθμό δε μεταβολίζονται και απεκκρίνονται από το ζώο μέσω των ούρων και των κοπράνων. Ως εκ τούτου, η οργανική λίπανση του εδάφους με ζωικά περιττώματα, ως κοπριά, που προέρχονται από την κτηνοτροφία οδηγεί σε συστηματική έκθεση των γεωργικών εδαφών σε υπολείμματα ΚΑ και αποτελεί απειλή για το περιβάλλον και τη δημόσια υγεία λόγω πιθανής: (i) τοξικότητας των ΚΑ στις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους, που επηρεάζουν σημαντικές λειτουργίες του οικοσυστήματος· (ii) διασποράς της αντοχής στα αντιβιοτικά σε μέλη της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους και του άμεσου περιβάλλοντος (π.χ. φυτά). Επιπλέον, η συνεχής έκθεση των γεωργικών εδαφών σε ΚΑ μπορεί να οδηγήσει στην ενίσχυση της βιοαποδόμησης που συνδέεται με τη μικροβιακή ανάπτυξη, παρά την εγγενή αντιμικροβιακή δράση των ΚΑ. Ενώ έγιναν πολυάριθμες προσπάθειες από την ερευνητική κοινότητα, η τρέχουσα γνώση σχετικά με τον τρόπο που εκτίθενται τα γεωργικά εδάφη στα ΚΑ και τον αντίκτυπο των ΚΑ στις μικροβιακές κοινότητες του εδάφους και του περιβάλλοντος είναι ακόμη περιορισμένη, ενώ η πιθανή εξέλιξη της βιοαποδόμησης που συνδέεται με την ανάπτυξη των ΚΑ σε γεωργικά εδάφη δεν έχει μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό και περιορίζεται σε λίγες ομάδες ΚΑ (π.χ. σουλφοναμίδες).

Για την αντιμετώπιση αυτών των κενών στην έρευνα, η παρούσα διατριβή είχε ως στόχο: (i) να διερευνήσει την περιβαλλοντική μοίρα σημαντικών για την κτηνοτροφία ΚΑ όπως η τιαμουλίνη (TIA) και η τιλμικοσίνη (TLM), ξεκινώντας από την κτηνοτροφία και τις ζωικές απεκκρίσεις, μέχρι τα κόπρανα των ζώων και τα γεωργική εδάφη που εναποτίθενται (ii) να εξετάσει τα πιθανά αποτελέσματα των αλληλεπιδράσεων των ΚΑ και της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους (διέγερση βιοαποδόμησης, τοξικότητα και αντιμικροβιακή αντοχή (AMR)), εστιάζοντας στα δύο μη επαρκώς μελετημένα ΚΑ όπως το TIA και το TLM, παράλληλα με τα επαρκώς μελετημένα, όσον αφορά τη συμπεριφορά στο έδαφος, ΚΑ όπως η σουλφαμεθοξαζόλη (SMX). (iii) να ελέγξει την αποτελεσματικότητα της βιοαύξησης χρησιμοποιώντας ένα βακτηριακό στέλεχος που αποδομεί το TIA ως μέθοδο εξυγίανσης μολυσμένων κοπράνων, σε σύγκριση με τις ευρέως χρησιμοποιούμενες μεθόδους της αποθήκευσης σε συνθήκες περιβάλλοντος και αναερόβιας χώνευσης.

Αρχικά, μελετήσαμε την εμμονή των TIA και TLM κατά τη διάρκεια από τη χορήγηση των χοίρων έως την απέκκριση των κοπράνων και την εφαρμογή στα γεωργικά εδάφη. Χορηγήσαμε TIA και TLM σε χοίρους από το στόμα, μέσω τροφής ή νερού και αξιολογήσαμε: (i) τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων των ΚΑ. (ii) την επίδραση των μεθόδων χορήγησης στα επίπεδα απέκκρισης και στο χρονικό μοτίβο απέκκρισης των ΚΑ. (iii) την εμμονή των υπολειμμάτων των ΚΑ στις κοπριές κατά τη διάρκεια των μεθόδων αποθήκευσης σε συνθήκες περιβάλλοντος και αναερόβιας χώνευσης (iv) την εμμονή των ΚΑ στα εδάφη όταν εφαρμόζεται απευθείας ή μέσω κοπριών ενισχυμένων με ΚΑ. Τα υπολείμματα των ΚΑ στα ζωικά περιττώματα ποσοτικοποιήθηκαν σε επίπεδα 0,55-5,99 mg kg-1 για το TIA και 4,27-749,6 mg kg-1 για το TLM. Οι διαφορετικές οδοί χορήγησης (τροφή/νερό) οδήγησαν σε διαφορετικά μοτίβα απέκκρισης και ποσότητες υπολειμμάτων των δύο ΚΑ. Και τα δύο ΚΑ επέδειξαν μεγάλη ανθεκτικότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης σε συνθήκες περιβάλλοντος (DT90= 19,4–119,3 ημέρες για το TIA και 77,9–165 ημέρες για το TLM) και την αναερόβια χώνευση (DT90 >365 ημέρες). Και τα δύο αντιβιοτικά ήταν πολύ ανθεκτικά όταν εφαρμόστηκαν σε εδάφη με το TLM να είναι το πιο ανθεκτικό. Ο υποκαπνισμός ή η ενσωμάτωση μέσω κοπριάς αύξησε την εμμονή τους υποδηλώνοντας μικροβιακή αποδόμηση και ενισχυμένη απορρόφηση αντίστοιχα. Συνολικά, η χρήση περιττωμάτων μολυσμένων με TIA και TLM ως κοπριά αναμένεται να οδηγήσει στη διασπορά των ΚΑ με ανεξερεύνητες συνέπειες για το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία.

Στη συνέχεια, διερευνήσαμε περαιτέρω τις συνέπειες της τακτικής έκθεσης των εδαφών σε ΚΑ δίνοντας ιδιαίτερη έμφαση στις αλληλεπιδράσεις της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους με τα υπό μελέτη ΚΑ. Για να πραγματοποιηθεί η μελέτη, κάναμε ένα πείραμα εδαφικών μικροκόσμων όπου εφαρμόσαμε επανειλημμένα τα ΚΑ (TIA, TLM και SMX) σε δύο εδάφη με διαφορετικό pH και ικανότητα αποδόμησης των ΚΑ (γρήγορη έναντι αργής όπως καθορίστηκε στην προηγούμενη εργασία μας), είτε απευθείας είτε μέσω ενισχυμένες κοπριές. Αυτή η προσέγγιση είχε ως αποτέλεσμα την επιταχυνόμενη βιοαποδόμηση του TIA μόνο στο «γρήγορο» έδαφος και μόνο με την άμεση εφαρμογή του αντιβιοτικού. Ενώ η επαναλαμβανόμενη εφαρμογή οδήγησε είτε σε βιοαποδόμηση χωρίς καμία αλλαγή για το SMX είτε σε καθυστέρηση της βιοαποδόμησης για το TLM. Οικοτοξικολογικές μετρήσεις έδειξαν ότι το TIA και το SMX ανέστειλαν τον ρυθμό νιτροποίησης (PNR) και την αφθονία των μικροοργανισμών που οξειδώνουν την αμμωνία (AOM), ενώ η παρουσία του TLM οδήγησε σε συνολική αύξηση. Η παρουσία υπολειμμάτων των ΚΑ στο έδαφος επέβαλλε ισχυρές δομικές επιδράσεις στην κοινότητα των προκαρυωτών και των AOM, σε αντίθεση με τις κοινότητες των μυκήτων και πρωτίστων που ανταποκρίθηκαν κυρίως στην ενσωμάτωση κοπριάς αντί για τα ΚΑ. Το SMX διέγειρε την ανθεκτικότητα στα σουλφοναμίδια, ενώ η κοπριά διέγειρε τα γονίδια ανθεκτικότητας στα αντιβιοτικά (ARGs) και την οριζόντια μεταφορά γονιδίων (HGT). Τέλος, μπορέσαμε να εντοπίσουμε παθογόνα όπως τα *Clostridia, Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* και *Nocardioides* που δρουν ως πιθανές δεξαμενές ARG στο έδαφος. Συνολικά, τα ευρήματά μας παρείχαν πρωτοφανή στοιχεία σχετικά με τις επιδράσεις μη μελετημένων ΚΑ στη μικροχλωρίδα του εδάφους ενώ παράλληλα, τόνισαν τους κινδύνους που ενέχει η εφαρμογή μολυσμένης με ΚΑ κοπριάς σε γεωργικά εδάφη.

Στην τελευταία πειραματική ενότητα της διατριβής, αξιολογήσαμε την απόδοση της βιοαύξησης ως μια μέθοδο εξυγίανσης του TIA στα κόπρανα και ως εκ τούτου την παρεμπόδιση της περιβαλλοντικής διασποράς των υπολειμμάτων TIA. Δοκιμάσαμε την αποτελεσματικότητα της βιοαύξησης σε ενισχυμένα με ΤΙΑ κόπρανα χοίρου σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης (αντιπροσωπευτικά της ποσότητας που μετρήθηκε στο αρχικό πείραμα), 5 και 50 mg kg-1, χρησιμοποιώντας ένα στέλεχος *Sphingomonas* που είχε απομονωθεί προηγουμένως, ικανό να αποδομήσει το TIA σε υγρές καλλιέργειες. Για την επίτευξη των στόχων μας, συγκρίναμε τη βιοαύξηση με την αποθήκευση σε συνθήκες περιβάλλοντος και την αναερόβια χώνευση ως τις επί του παρόντος χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την προεπεξεργασία των κοπράνων. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν μια συνολικά υψηλότερη απόδοση της βιοαύξησης (DT50 = 32,3 και 66,2 ημέρες), σε σύγκριση με την αποθήκευση σε περιβαλλοντικές συνθήκες (DT50 = 95,38 και 113,8 ημέρες) και την αναερόβια χώνευση (DT50 = 103 και 126,7 ημέρες). Άξιο αναφοράς είναι ότι κατά τη διάρκεια της αναερόβιας χώνευσης παρατηρήσαμε μια σημαντική διεγερτική επίδραση στην παραγωγή βιομεθανίου, ορμώμενη από τη χαμηλή δόση ΤΙΑ που εφαρμόσαμε, η οποία ήταν αποτέλεσμα, όπως προσδιορίστηκε από την ανάλυση αλληλούχισης, της αυξημένης αφθονίας μεθανιογόνων του γένους *Methanosarcina*.

Συνολικά, τα αποτελέσματά μας τόνισαν τη δυνατότητα διασποράς και τον αρνητικό αντίκτυπο των σημαντικών για την κτηνοτροφία αντιβιοτικών όπως τα SMX, TIA και TLM, όταν αυτά καταλήγουν σε γεωργικά εδάφη μέσω της εφαρμογής κοπριάς, και, ως εκ τούτου, τους πιθανούς κινδύνους για τη δημόσια υγεία. Ωστόσο, ενισχύσαμε τις περιβαλλοντικές στρατηγικές βιοαποκατάστασης, επιδεικνύοντας τη δύναμη της βιοαύξησης για την αποκατάσταση έμμονων αντιβιοτικών στο περιβάλλον, όπως το TIA. Αυτή η εργασία ενισχύει τη βάση που τέθηκε από ένα μικρό κομμάτι της σύγχρονης ερευνητικής κοινότητας, για βαθύτερη κατανόηση και επίλυση προβλημάτων στην οικοτοξικολογία των ΚΑ.