علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و سوم، شماره دو، اردیبهشت ماه ۱۴۰۰

تأثیر ذرات نانوآهن و نقره بر فعالیت برخی شاخص‌های زیستی در خاک

مهرناز طهماسبی[۱]

شکوفه رضائی[۲*]

Rezaee_sh@yahoo.com

علی خانمیرزایی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۱۵ **تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۲/۱۶**

چکیده

زمینه و هدف: در دهه‌های اخیر استفاده از نانوتکنولوژی در زمینه‌های مختلف کشاورزی افزایش یافته است و خاک به عنوان یکی از اجزای مهم محیط‌زیست دریافت‌کننده انواع نانوذرات می‌باشد ولی به اثر این ذرات بر بخش زنده خاک توجه کم‌تری شده است. هدف این پژوهش بررسی اثرات نانو ذرات آهن و نقره روی برخی از شاخص‌های زیستی خاک بود.

روش بررسی: آزمایشی فاکتوریل با پنج سطح نانوذره آهن و نقره (۰،۲۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ $mgkg^{-1}$) در سه تکرار انجام شد. خاک‌های آغشته به نانوذرات، با حفظ رطوبت و دما نگهداری و ۱۰، ۱۷ و ۳۰ روز پس از انکوباسیون، فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی و تنفس خاک اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: اثر سطوح مختلف نانوآهن، نانونقره و زمان انکوباسیون بر روی تنفس میکروبی خاک، در سطح آماری یک درصد معنی‌دار گردید. اثرات متقابل فاکتورها به استثناء اثر سه‌گانه نانوذره آهن و نقره و زمان، تاثیر معنی‌داری بر تفس میکروبی خاک داشت. در اثرات متقابل نانوذرات آهن و نقره، بیش‌ترین تنفس میکروبی به میزان ۴۷/۳۳ ($\mu gCg^{-1}d^{-}$) در غلظت ۲۰۰ ($mgkg^{-1}$) نانوذره آهن و نقره بدست آمد. در اثر متقابل نانوآهن و زمان، بیش‌ترین تنفس میکروبی به میزان ۵۱/۳۷ ($\mu gCg^{-1}d^{-}$) در غلظت ۱۰۰ ($mgkg^{-1}$) نانوذره آهن پس از ۱۷ روز انکوباسیون بدست آمد و در اثرات متقابل نانو نقره و زمان، بیش‌ترین تنفس میکروبی (۴۹/۰۲ $\mu gCg^{-1}d^{-1}$) در غلظت ۵۰ ($mgkg^{-1}$) نانو نقره پس از ۱۷روز انکوباسیون مشاهده شد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به میزان ۲۸۸/۲۰ ($gPNPg^{-1}h^{-}$ μ^{1})در غلظت ۲۰۰ ($mgkg^{-1}$) نانوذره آهن پس از ۱۰روز انکوباسیون بدست آمد.

۱- دانش‌آموخته گروه خاک‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

۲- استادیار گروه خاک‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.*(مسوول مکاتبات)

۳- استادیار گروه خاکشناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این تحقیق، تأثیر معنی‌دار نانوذرات بر روی تنفس خاک را نشان داد. تأثیر به غلظت و نوع نانوذرات بستگی داشت. اثر نانوذرات روی فعالیت آنزیم‌های خاک بسته به نوع نانوذرات و آنزیم متفاوت بود، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی تحت تأثیر نانوذره آهن قرار گرفت در صورتی‌که نانوذرات روی فعالیت فسفاتاز اسیدی اثر معنی‌دار نداشتند.

واژه‌های کلیدی: فسفاتاز اسیدی، فسفاتاز قلیایی، تنفس میکروبی خاک، نانوذرات.

J. Env. Sci. Tech., Vol 23, No. 2, May, 2021

Nano Iron and Silver Application on Some Biological Indicators Activity in Soil

Mehrnaz Tahmasebi[1]
Shekoofeh Rezaei[2*]
Rezaee_sh@yahoo.com
Ali Khanmirzaei[3]

Date Received: March 7, 2018 Admission Date:October 7, 2017

Abstract

Background and Objective: Even though the various application of the nanotechnology in agricultural practices in the last decade their environmental implications have not been addressed enough. Soil biological activities are among the critical soil quality indices due to the rapid reaction with any changes in the soil condition. Therefor the aim of this study was to evaluate the effect of nano-scaled iron and silver particles on some of biological indices in soil.

Method: The study was designed as a completely randomized factorial with three replicates, nano-scaled iron and silver in five levels (0, 20, 50, 100 and 200 $mgkg^{-1}$). Treated soils were incubated in 50% field capacity moisture regime at 25 ˚C. After 10, 17 and 30 days of incubation subsamples were taken acidic and alkaline phosphatase activity as well as microbial respiration were measured.

Findings: The results revealed that nano-scaled iron, nano-scale silver and incubation time significantly ($p < 0.01$) affected the microbial respiration. The highest microbial respiration was measured (47.33 mgC g^{-1}soil) at 200 $mgkg^{-1}$ nano-scaled particles after 10 days of incubation. Although the alkaline phosphatase changed during the incubation time, nano-scaled particles and time have no effects on acidic phosphatase during the incubation time. The highest alkaline phosphatase activity (282.2 µg p-Nitrophenol g^{-1}soil h^{-1}) was detected after 10 days in 200 $mgkg^{-1}$ nano-scaled particles.

Discussion and Conclusion: The present study demonstrated a significant effect of the nano-scaled particles and time on soil respiration. This effect depended on the concentration and type of the nanoparticles. Soil respiration increased by incubation time. The effect of nano-scaled particles on the enzyme activities depends to the kind of enzyme and nano-scaled particles. Alkaline phosphatase activity affected by nano-Fe although nano-scaled particles and incubation time had no effect on the acid phosphatase activity.

Keywords: Acidic and Alkaline Phosphatase Activity, Nano-Scaled Particles, Soil Respiration.

1- Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
2-Assistant Professor, Department of Soil Science, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, *(Corresponding author)
3- Assistant Professor, Department of Soil Science, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

مقدمه

فناوری نانو در زمره فناوری‌های جدیدی است که در مرحله آغازین رشد خود قرار دارد و این خود زمینه‌ساز مشکلات زیست‌محیطی، به‌وسیله آن‌ها می‌باشد. حوزه کاربرد ذرات نانو تنوع بسیار زیادی دارد و علم کشاورزی نیز از این قاعده مستثنی نیست (۱). ردیابی و شناسایی سریع عوامل بیماری‌زای گیاهی با حس‌گرهای نانو، افزایش جذب مواد غذایی و همچنین افزایش کارایی سیستم‌های کشاورزی با مصرف ترکیبات نانو که همگی باعث کاهش مصرف سم و کود در کشاورزی می‌گردند، باعث افزایش مصرف انواع مختلف نانوذرات و ورود این ذرات به خاک شده است (۲). این ذرات پس از ورود به خاک علاوه بر تأثیر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک، می‌تواند بخش زنده و خصوصیات زیستی خاک را نیز مورد هدف قرار دهد. در گذشته ارزیابی کیفیت خاک تنها بر تعیین و تفسیر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک متمرکز شده بود، اما در سال‌های اخیر اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی و زیستی خاک به دلیل حساسیت به تغییرات مدیریتی و سهولت اندازه‌گیری مورد توجه قرارگرفته‌اند (۳، ۴ و ۵). تنفس میکروبی خاک و فعالیت آنزیمی از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی هستند که نقش کلیدی در عملکرد بیوشیمیایی، تجزیه مواد آلی و چرخه عناصر غذایی ایفا می‌کنند و به طور مؤثری منعکس‌کننده وضعیت حاصل‌خیزی خاک نیز می‌باشند (۶، ۷، ۸ و ۹). فسفاتازها آنزیم‌های خارج سلولی و کلیدی در چرخه‌ی فسفر هستند که با سرعت بخشیدن به هیدرولیز پیوندهای استرفسفات، موجب آزاد شدن فسفات در خاک شده و شاخص مناسبی برای توان معدنی‌شدن فسفر آلی خاک‌ها محسوب می‌شوند (۱۰، ۱۱ و ۱۲). اثر نانواکسید روی و تیتانیوم بر روی فعالیت آنزیمی خاک بررسی و نتایج نشان داد نانوذرات باعث کاهش فعالیت آنزیم پروتئاز، پراکسیداز و کاتالاز شد ولی روی آنزیم اوره‌آز تأثیری نداشت (۱۳). اثر بازدارنگی نانو اکسید مس بر فعالیت آنزیمی (دهیدروژناز، فسفاتاز اسیدی و بتاگلوکوسیداز) توسط کیم و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شد. این بازدارنگی به خاصیت آنتی‌باکتریال نانو اکسید مس نسبت داده شد (۱۴). مطالعات پیروت و همکاران(۲۰۱۴) نشان داد نانوذرات نقره بر روی فعالیت آنزیم فسفاتاز، گلوکوسیداز و آریل سولفاتاز اثر منفی دارند (۱۵). با توجه به افزایش روزافزون مصرف نانوذرات در کشاورزی و محیط زیست و ورود این مواد به خاک، مطالعه اثر نانوذرات بر روی میکروارگانیسم‌ها و فعالیت آنزیمی به‌عنوان شاخص تعیین‌کننده عملکرد میکروبی خاک دارای اهمیت است، اما تحقیقات اندکی در این زمینه انجام شده است. بنابراین در این تحقیق اثر نانوذرات روی شاخص‌های زیستی خاک از جمله تنفس میکروبی و فعالیت فسفاتازها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه فاکتور ذرات نانو آهن و نقره هر کدام در پنج غلظت۰ (عدم مصرف)،۲۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و زمان انکوباسیون ۱۰، ۱۷ و ۳۰ (روز) در سه تکرار انجام شد. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد نظر از قبیل اسیدیته در گل اشباع و هدایت الکتریکی درعصاره اشباع (۱۶)، بافت خاک به روش هیدرومتری (۱۷)، موادآلی به روش اکسیداسیون تر (۱۸)، فسفر قابل جذب (۱۹)، پتاسیم قابل جذب به روش عصاره‌گیری با استات آمونیوم و فلیم‌فتومتری (۲۰)، نیتروژن کل به روش کلدال (۲۱) و ظرفیت زراعی اندازه‌گیری شد (جدول ۱). بر اساس طرح آزمایش، ۷۵ نمونه ۱۰۰گرمی از خاک درون ظروف پلی‌اتیلنی نیم لیتری ریخته شد. ذرات نانوآهن و نقره ساخته شده (با قطر متوسط ۱۰۰ نانومتر) به روش بورهیدرات (۲۲) بر اساس تیمارها با ترازوی دیجیتالی توزین و با خاک کاملا مخلوط گردید و با تنظیم رطوبت در حدود۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در فواصل زمانی ۱۰، ۱۷ و۳۰ روز پس از انکوباسیون، تنفس میکروبی خاک (۲۳) و فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی (۲۴) اندازه‌گیری شد. پس از بررسی داده‌ها برای نرمال و یکسان بودن واریانس تیمارها، تجزیه و

تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن صورت گرفت.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه

Table 1. Selected physical and chemical characteristics of the studied soil

بافت	هدایت الکتریکی (dSm^{-1})EC	pH	رطوبت اشباع	کربن آلی	نیتروژن	فسفر قابل استفاده	پتاسیم قابل استفاده
			(%)			$mgkg^{-1}$	
شنی لوم	۱/۲	۷/۳۸	۳۴/۵۶	۰/۵۰	۰/۰۴	۴/۶	۲۲۰

نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنفس میکروبی خاک تحت تاثیر تیمارهای آزمایش قرار گرفت و اثر اصلی نانوذرات و زمان و اثرات متقابل دوگانه آن‌ها بر روی تنفس میکروبی تاثیر معنی‌دار داشت. اثر زمان و اثر متقابل نانوذره آهن و زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نانوذرات آهن، نقره و زمان برآنزیم فسفاتاز اسیدی، قلیایی و تنفس میکروبی خاک

Table 2. Analysis of variance for the effect of nano-Fe, nano-Ag and time on acid phosphatase, alkaline phosphatase and soil respiration

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		فسفاتاز اسیدی	فسفاتاز قلیایی	تنفس میکروبی
نانوآهن	۴	$^{s.n}$۲۵/۴۸	$^{s.n}$۴۲۱/۷۱	**۵۴۵/۰۳
نانو نقره	۴	$^{s.n}$۲۵/۶۴	$^{n.s}$۶۷/۷۱	**۶۵/۶۲
زمان	۲	$^{s.n}$۵۶/۹۵	**۲۳۰۷۹/۸۴	**۲۴۷۲/۶۳
نانوآهن× نانونقره	۱۶	$^{s.n}$۵۹/۶۴	$^{s.n}$۲۰۶/۸۵	**۹۴/۱۰
نانوآهن× زمان	۸	$^{s.n}$۷۴/۷۰	**۱۳۵۱/۰۴	**۳۳۱/۲۴
نانونقره× زمان	۸	$^{n.s}$۲۳/۵۸	$^{n.s}$۱۹۳/۹۰	*۱۸/۰۵
نانوآهن×نانونقره×زمان	۳۲	$^{n.s}$۴۹/۵۵	$^{n.s}$۱۵۴/۱۷	$^{n.s}$۴۶/۵۰
خطا	۱۵۰	۵۷/۹۷	۲۴۲/۴۶	۷/۸۸
ضریب تغییرات	۴	۳/۳۷	۵/۹۷	۶/۹۵

** و * به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و n.s عدم وجود اختلاف معنی‌دار است.

اثرات اصلی و متقابل تیمارها روی شاخص‌های زیستی

تنفس میکروبی خاک تا غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذره آهن نسبت به تیمار شاهد کاهش و پس از آن افزایش یافت. غلظت‌های مختلف نانونقره باعث افزایش تنفس میکروبی خاک نسبت به تیمار شاهد شد. تنفس خاک با گذشت زمان افزایش یافت و بیشترین تنفس میکروبی خاک به میزان ۴۷ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) در زمان دوم انکوباسیون (۱۷ روز) مشاهده شد. با افزایش زمان انکوباسیون، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی کاهش یافت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت به ترتیب ۲۷۴/۲۱ و ۲۴۰/۸۹ میکروگرم پارانیتروفنل درگرم

خاک در یک ساعت، به ترتیب ۱۰ و ۳۰ روز پس از انکوباسیون مشاهده گردید (جدول ۳). جدول (۴) میانگین اثر متقابل نانوذره آهن و زمان روی آنزیم فسفاتاز قلیایی را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به میزان ۲۸۸/۲۰ (میکروگرم پارانیتروفنل درگرم خاک در یک ساعت) در غلظت ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و در زمان ۱۰ روز و کم‌ترین میزان فسفاتاز قلیایی به میزان۲۳۶/۴۷ (میکروگرم پارانیتروفنل درگرم خاک در یک ساعت) در غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) در زمان۳۰ روز به دست آمد. در همه غلظت‌های نانوذرات با افزایش زمان انکوباسیون (۳۰ روز)، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی کاهش یافت. این کاهش غلظت به ویژه در سطوح بالای نانوذره آهن مشهود بود.

جدول ۳- مقایسه میانگین آنزیم فسفاتازاسیدی، قلیایی و تنفس میکروبی خاک در اثرات اصلی نانوذرات آهن، نقره و زمان

Table 3. Mean comparison effect of nano-Fe, nano-Ag and time on acid phosphatase, alkaline phosphatase and soil respiration

نانوذره آهن Nano-Fe ($mgkg^{-1}$)	فسفاتاز اسیدی ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)	فسفاتاز قلیایی ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)	تنفس میکروبی خاک ($\mu gCg^{-1}d^{-1}$)
۰	۲۲۵/۸۴ A	۲۶۵/۳۲ A	۴۰/۷۲C
۲۰	۲۲۶/۶۴ A	۲۵۸/۵۰ AB	۳۵/۳۹E
۵۰	۲۲۴/۹۴ A	۲۵۷/۳۹ B	۳۸/۸۱D
۱۰۰	۲۲۴/۸۲ A	۲۶۱/۵۲ AB	۵۶/۴۲B
۲۰۰	۲۲۵/۲۲ A	۲۶۰/۸۷ AB	۴۴/۴۱A
نانوذره نقره			
Nano-Ag ($mgkg^{-1}$)			
۰	۲۲۴/۸۱ A	۲۶۰/۲۰ A	۳۹/۱۷ C
۲۰	۲۲۶/۴۸ A	۲۶۵/۵۹ A	۳۹/۳۱ C
۵۰	۲۲۴/۶۶ A	۲۵۹/۹۲ A	۴۰/۶۸ B
۱۰۰	۲۲۵/۶۵ A	۲۶۱/۳۰ A	۴۲/۱۴ A
۲۰۰	۲۲۵/۸۴ A	۲۵۹/۵۹ A	۴۰/۵۹ B
زمان انکوباسیون			
Time (day)			
۱۰	۲۲۵/۸۰A	۲۷۴/۲۲ A	۳۶/۵۰ C
۱۷	۲۲۶/۲۰A	۲۶۷/۰۵ B	۴۷/۰۰ A
۳۰	۲۲۴/۵۱A	۲۴۰/۸۹ C	۳۷/۷۰ B

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هرستون، طبق آزمون چنددامنه‌ی دانکن دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

جدول ۴ -مقایسه میانگین آنزیم فسفاتاز قلیایی تحت تاثیرنانوذره آهن و زمان

Table 4. Mean comparison effect of nano-Fe and time on alkaline phosphatase

نانو ذره آهن Nano-Fe($mgkg^{-1}$)	زمان انکوباسیون Time(day)	فسفاتاز قلیایی ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)
۰	۱۰	فل
	۱۷	۲۸۰/۸۹ A
	۳۰	۲۴۰ /۹۴ E
۲۰	۱۰	۲۶۲/۶۹ BC
	۱۷	۲۷۴/۰۵ AB
	۳۰	۲۳۸/۷۷ E
۵۰	۱۰	۲۷۴/۹۹ AB
	۱۷	۲۵۵/۹۵ CD
	۳۰	۲۴۱/۲۱ E
۱۰۰	۱۰	۲۷۷/۰۹ A
	۱۷	۲۷۰/۹۹ AB
	۳۰	۲۳۶/۴۸ E
۲۰۰	۱۰	۲۸۸/۲۱ A
	۱۷	۲۵۳/۳۵ CD
	۳۰	۲۴۷/۰۵ DE

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هر ستون، طبق آزمون چند دامنه‌ی دانکن دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

در اثرات متقابل نانوآهن و نقره، بیشترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) ذرات نانو آهن و نقره به میزان ۴۷/۳۳(میلی‌گرم کربن در گرم خاک) بود که تفاوت معنی‌داری با تنفس میکروبی نمونه شاهد نداشت. کمترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۲۰ و۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانو ذره آهن و نانو ذره نقره در خاک به میزان ۳۱/۱۳ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت (جدول۵). در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانوذره آهن، با افزایش غلظت نانوذره نقره، تنفس میکروبی خاک افزایش یافت.

جدول ۵- مقایسه میانگین تنفس میکروبی خاک در اثرات متقابل نانو ذره آهن و نقره

Table 5. Mean comparison effect of nano-Fe and nano-Ag on soil respiration

نانوذره آهن	نانوذره نقره Nano-Ag ($mgkg^{-1}$)	تنفس میکروبی خاک ($\mu gCg^{-1}d^{-1}$)
۰	۰	۴۵/۸۶ AB
	۲۰	۳۶/۸۴ FH
	۵۰	۴۱/۱۸ CE
	۱۰۰	۴۲/۳۲ CD
	۲۰۰	۳۷/۳۸ GF
۲۰	۰	۳۴/۲۴ HI
	۲۰	۳۴/۸۷ GI
	۵۰	۴۰/۳۵ ED
	۱۰۰	۳۶/۳۴ FI
	۲۰۰	۳۱/۱۳ J
۵۰	۰	۳۳/۷۷ I
	۲۰	۳۸/۵۱ EF
	۵۰	۳۷/۰۱ FH
	۱۰۰	۴۰/۸۵ CE
	۲۰۰	۴۳/۸۹ BC
۱۰۰	۰	۴۰/۵۵ ED
	۲۰	۴۲/۴۲ CD
	۵۰	۴۲/۶۹ CD
	۱۰۰	۴۳/۹۲ BC
	۲۰۰	۴۳/۲۲ BD
۲۰۰	۰	۴۱/۴۲ CE
	۲۰	۴۳/۸۹ BC
	۵۰	۴۲/۱۵ CD
	۱۰۰	۴۷/۲۳ A
	۲۰۰	۴۷/۳۳ A

میانگین‌های دارای حرف مشابه درهر ستون، طبق آزمون چنددامنه‌ی دانکن دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

بیش‌ترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) نانوذره آهن و زمان ۱۷روز به میزان۵۱/۳۷ (میکروگرم کربن درگرم خاک در یک روز) و کم‌ترین مقدار آن در تیمار۲۰ (میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) و زمان ۱۰ روز به میزان ۲۸/۲۵ (میکروگرم کربن درگرم خاک در یک روز) بدست آمد. در همه سطوح نانوذره آهن با افزایش زمان

انکوباسیون از ۱۰ به ۱۷ روز، تنفس میکروبی افزایش و پس از آن در زمان ۳۰ روز کاهش یافت (جدول۶). بیش‌ترین تنفس میکروبی خاک به میزان ۴۹/۰۲ (میکروگرم کربن درگرم خاک در یک روز) در غلظت ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانوذره نقره و ۱۷ روز پس از انکوباسیون و کم‌ترین آن به میزان ۳۴/۶۰ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) در تیمار شاهد و ۱۰ روز پس از انکوباسیون مشاهده شد. در یک غلظت ثابت نانوذره نقره، تنفس میکروبی با افزایش زمان انکوباسیون از ۱۰ به ۱۷ روز افزایش و از ۱۷ به ۳۰ روز کاهش یافت ولی به طور کلی تنفس در زمان ۳۰ نسبت به زمان ۱۰ روز افزایش داشت (جدول۷).

جدول ۶- مقایسه میانگین تنفس میکروبی خاک در اثرات متقابل نانو ذره آهن و زمان

Table 6. Mean comparison effect of nano-Fe and time on soil respiration

نانو ذره آهن Nano-Fe ($mgkg^{-1}$)	زمان انکوباسیون Time(day)	تنفس میکروبی خاک Soil respiration ($\mu gCg^{-1}d^{-1}$)
۰	۱۰	۳۳/۷۴ G
	۱۷	۴۵/۴۶ BC
	۳۰	۴۲/۹۵ D
۲۰	۱۰	۲۸/۲۵ H
	۱۷	۴۰/۹۳ DE
	۳۰	۳۶/۹۸ F
۵۰	۱۰	۳۳/۲۷ G
	۱۷	۴۹/۶۱ A
	۳۰	۳۳/۵۴ G
۱۰۰	۱۰	۴۲/۰۱ DE
	۱۷	۵۱/۳۷ A
	۳۰	۳۴/۳۰ G
۲۰۰	۱۰	۴۵/۱۶ C
	۱۷	۴۷/۴۸ B
	۳۰	۴۰/۵۷ E

میانگین‌های دارای حرف مشابه درهرستون، طبق آزمون چنددامنه‌ی دانکن دارای اختلاف معنی‌داری نیستند.

جدول ۷- مقایسه میانگین تنفس میکروبی خاک در اثرات متقابل نانوذره نقره و زمان

Table 7. Mean comparison effect nano-Ag and time on soil respiration

نانوذره نقره Nano-Ag($mgkg^{-1}$)	زمان انکوباسیون Time (day)	تنفس میکروبی خاک Soilrespiration($\mu gCg^{-1}d^{-1}$)
۰	۱۰	۳۴/۶۰ F
	۱۷	۴۵/۶۸ C
	۳۰	۳۷/۲۲ DE
۲۰	۱۰	۳۵/۳۰ EF
	۱۷	۴۵/۵۲ C
	۳۰	۳۷/۱۲ DE
۵۰	۱۰	۳۵/۶۸ EF
	۱۷	۴۹/۰۲ A
	۳۰	۳۷/۳۲ DE
۱۰۰	۱۰	۳۸/۷۷ D
	۱۷	۴۸/۲۲ B
	۳۰	۳۹/۴۱ D
۲۰۰	۱۰	۳۸/۰۸ D
	۱۷	۴۶/۴۲ BC
	۳۰	۳۷/۲۶ DE

میانگین‌های دارای حرف مشابه درهرستون، طبق آزمون چنددامنه‌ی دانکن دارای اختلاف معنی‌داری نیستند

بحث و نتیجه‌گیری

نانوذرات استفاده شده در این تحقیق بر روی فعالیت فسفاتازها اثری نداشت. نانوذرات در خاک‌های مختلف می‌توانند اثرات متفاوتی بر فعالیت آنزیمی داشته باشند. فعالیت آنزیمی خاک به شدت تحت تاثیر نوع و غلظت نانوذره، نوع آنزیم و نوع خاک می‌باشد (۲۵). اثر نانوذرات دارای عناصر سنگین بر فعالیت آنزیمی می‌تواند مشهودتر از سایر نانوذرات باشد. مطالعات فراوانی در زمینه اثر منفی عناصر سنگین بر روی فعالیت آنزیمی انجام شده است (۲۶و ۲۷). از طرفی فعالیت آنزیم‌های برون‌سلولی مانند فسفاتاز حساسیت کم‌تری نسبت به آلاینده‌ها نشان می‌دهند. فعالیت آنزیم‌های برون‌سلولی به خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بستگی دارد (۲۸و ۲۹). این آنزیم‌ها می‌توانند توسط رس‌ها یا مواد آلی خاک جذب و از تماس آن با نانوذره جلوگیری شود. نانوذره اکسید روی باعث کاهش فعالیت فسفاتاز قلیایی و افزایش فعالیت فسفاتاز اسیدی شد و با افزایش غلظت نانوذره، اثرات بازدارندگی یا تحریک‌کنندگی افزایش یافت (۲۵). نانواکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز و فسفاتاز نداشت ولی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم نانو اکسید تیتانیوم باعث افزایش فعالیت اوره‌آز و کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز نسبت به تیمار شاهد شد. ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانواکسید آهن تاثیری روی فعالیت اوره‌آز نداشت در حالی‌که غلظت‌های بالاتر نانواکسید آهن باعث کاهش فعالیت اوره‌آز شد. غلظت‌های مختلف نانواکسید مس باعث کاهش معنی‌دار آنزیم فسفاتاز گردید (۳۰). خصوصیات خاک از قبیل

pH، نوع و مقدار مواد آلی و رس خاک، مقدار عناصر غذایی مانند نیتروژن، پتاسیم و .... می‌تواند بر رفتار نانوذرات (۳۱ و ۳۲) و فعالیت آنزیم‌ها (۳۳) مؤثر باشد. ذرات نانونقره درمحیط‌های متفاوت می‌توانند اثرات متفاوتی داشته باشند. تحرک ذرات نانونقره درخاک (ازبین عوامل ذکرشده فوق) شدیدا وابسته بهpH می‌باشد و هرچه pH خاک بالاتر باشد، تجمع ذرات نانونقره درخاک بیش‌تر و اثرگذاری این ذرات کم‌تر است. به عبارت دیگر قابلیت تحرک زیستی (Bioavailability) ذرات نانونقره درخاک، تحت تاثیر عواملی از قبیل جذب سطحی به وسیله‌ی ذرات خاک به ویژه ذرات رس، مواد آلی و همچنین عواملی مانند pH و شوری کاهش می‌یابد (۳۴). در غلظت‌های پایین نانوذرات نقره اثرات منفی بر روی فعالیت آنزیمی بیشتر است در صورتی‌که در غلظت‌های بالای نقره، اثرات منفی کمتر مشاهده می‌شود (۱۵). با گذشت زمان تماس، اثر نانوذره تغییر می‌کند (۳۵). باگذشت زمان، امکان تماس نانوذره با رس و مواد آلی افزایش یافته و از تحرک و فعالیت نانوذرات کاسته می‌شود. دلیل دیگر کاهش فعالیت آنزیمی را می‌توان سازگاری میکروارگانیسم به فاکتورهای تنش‌زا با گذشت زمان دانست (۳۶). زمان تماس بین نانوذره و خاک بر روی فعالیت آنزیمی تاثیرگذار است و بسته به نوع خاک و نانوذره می‌تواند به صورت اثر بازدارندگی یا تحریک‌کنندگی ظاهر شود. اثر بازدارندگی نانوذره مختلف اکسید مس، اکسید کروم و نانوذره نیکل بر روی فسفاتاز اسیدی و قلیایی با گذشت زمان کاهش یافت (۲۵). تنفس میکروبی خاک تحت تأثیر نانوذرات قرار گرفت. در زمینه تحقیقات نانوذرات بر روی جوامع میکروبی نتایج متناقضی مشاهده شده است. رواسک و همکاران (۲۰۱۲) با کاربرد نانو اکسید مس تاخیر معنی‌داری در رشد باکتری‌ها در خاک‌های معدنی مشاهده کردند در حالی‌که در خاک‌های آلی تغییری مشاهده نشد (۳۷). جی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند کاربرد نانواکسید تیتانیوم جوامع باکتریایی را به طور معنی‌دار تغییر داد (۳۸) در حالی‌که بارک و همکاران (۲۰۱۴) تغییر در جمعیت قارچ‌های میکوریزی را مشاهده نمودند (۳۹). نتایج کاملا متناقضی مبنی بر کاهش تنوع میکروبی با کاربرد نانواکسید تیتانیوم توسط شاه و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده شد (۴۰). واکنش میکروارگانیسم‌های خاک به نانوذرات به عوامل مختلفی از جمله نوع، مقدار و زمان تماس نانوذرات، گونه میکروبی، خصوصیات خاک (pH، پتانسیل اکسید و احیا، مواد آلی، رطوبت خاک و....) و شرایط آزمایش بستگی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

از بین شاخص‌های زیستی مورد مطالعه در این تحقیق، تنفس میکروبی خاک واکنش معنی‌داری نسبت به نانوذرات نشان داد و با توجه به حساسیت بالای آن نسبت به تغییرات مدیریتی و محیطی، می‌تواند به عنوان یکی ازحس‌گرهای زیستی مناسب در سایر تحقیقات مورد توجه قرارگیرد. آنزیم فسفاتاز قلیایی تنها تحت تاثیر نانوذره آهن و زمان قرار گرفت در صورتی‌که آنزیم فسفاتاز اسیدی نسبت به نانوذرات واکنش نشان نداد. واکنش شاخص‌های زیستی خاک به نانوذرات متفاوت بوده که این تفاوت به نوع و مقدار نانوذرات، نوع شاخص زیستی، زمان تماس نانوذرات با خاک و شرایط خاک بستگی دارد. با توجه به تنوع نانوذرات و کاربردهای مختلف آن‌ها و اهمیت فعالیت آنزیمی و تنفس میکروبی بعنوان شاخص‌های کیفیت خاک، در هنگام استفاده از نانوذرات باید به اثرات زیست محیطی این ذرات نیز توجه کرد و نانوذراتی را انتخاب نمود که کم‌ترین اثر بازدارنگی را بر روی جامعه میکروبی خاک و فعالیت آنزیمی داشته باشند. همچنین به منظور تعیین و درک بهتر اثر نانوذرات، تحقیقات بیش‌تری در این زمینه توصیه می‌گردد.

Reference

1. Das, R., Kiley, P.J., Segal, M., Norville, J., Yu, A.A., Wang, L et al., 2004. Integration of Photosynthetic Protein Molecular Complexes in Solid-State. Electronic Devices. Nano Letters, Vol. 4 **(**6**)**, pp.1079 -1083.
2. Karimipur, H., and Nematollahi, M., 2007. The use of nanotechnology for

optimized fertilizer and pesticide application. 1st Conference of Nanotechnology in Environments. Isfahan University of Technology. Isfahan. Iran.(In Persian)

3. Islam, K.R., and Weil, R.R., 2000. Soil quality indicator properties in mid-Atlantic soils as influenced by conservation management. J Soil Water Conserv, Vol. 55, pp. 69-78.
4. Wyszkowska, J., Kucharski, J., and Lajszner, W., 2005. Enzymatic activities in different soils contaminated with copper. Polish Journal of Environmental Studies, Vol. 14, pp. 659–664.
5. Eldor, P. 2007. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. Tercera ed. Eldor P, editor. Chennai, India: Academic Press.
6. Luo, Y., and Zhou, X., 2006. Soil respiration and the Environment. Academic press, 328pp.
7. Alvarez, S., and Guerrero, M.C., 2000. Enzymatic activities associated with decomposition of particulate organic matter in two shallow ponds. Soil Biology & Biochemistry, Vol. 32, pp. 1941-1951.
8. Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. Pedobiologia, Vol. 49, pp. 637– 644.
9. Waldrop, M.P., Zak, D.R., Sinsabaugh, R.L., Gallo, M., and Lauber, C., 2004. Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. Ecological Applications, Vol. 14, pp. 1172–1177.
10. Antonietta Rao, M., Violante, A., and Gianfreda, L., 2000. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. Soil Biology & Biochemistry, Vol. 32, pp. 1007-1014.
11. Dick, W.A., and Tabatabai, M.A., 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. In: Metting, F.B. Jr (Ed.), Soil Microbial Ecology. Marcel Decker Inc, New Yourk, USA.
12. Quiquampoix, H., and Mousain, D., 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. p. 89–112. In: Turner, B.L., Frossard, E. and Baldwin, D.S. (eds.) Organic phosphorous in the environment. CABI, Wallingford.
13. Du, W., Sun, Y., Ji, R., Zhu, J., Wu, J., and Guo, H., 2011. TiO and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil. J. Environ. Monit, Vol. 13, pp. 822–828.
14. Kim, S., Sin, H., Lee, S., and Lee, I., 2013. Influence of metal oxide particles on soil enzyme activity and bioaccumulation of two plants. J. Microbiol. Biotechnol, Vol. 23, pp. 1279–1286.
15. Peyrot, C., Wilkinson, K.J., Desrosiers, M., and Sauvé, S., 2014. Effects of silver nanoparticles on soil enzyme activities with and without added organic matter. Environ. Toxicol. Chem, Vol. 33, pp. 115–125.
16. Richards, L.A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils, U.S.D.A Handbook 60: 65-86.
17. Gee, G.W., and Bauder, J.W., 1986 .Particle –size analysis, In: Klute, A.(Ed). Methods of soil Analysis .Part 1-2 nded., vol . 9. AgronMonogr, ASS and SSSA, Madison pp.383-411.
18. Walkley, A., and Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff

method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, Vol. 37, pp. 29-38.

19. Olsen, S.R., Cole, C.V., Watanable, F.S., and Dean, L.A., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. Cir. USDA, U.S. Government Printing office, Washington DC.organic residues. Biology and Fertility of Soils, Vol. 34, pp. 144-150.
20. Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. 1982. Methods of Soil Analysis, Part2: Chemical and Microbiological properties. 2nd ed. A.A.C., Inc., Soil S.S.S.A., Inc., Madison Publisher, Wisconsin, USA.
21. Bremner, J.M., 1965. Total nitrogen. p. 1149–1178. In: Black, C.A., Evans, D.D. and Dinauer, R.C. (eds.) Methods of soil analysis. Part 2. American Society of Agronomy, Monograph No. 9, Madison, Wisconsin.
22. Oughton, D.H., Hertel-Aas ,T., Pellicer , E., Mondoza, E., and Joner, E.J., 2008 .Neutron activation of engineered nanoparticles as a tool for tracing their environmental fate and uptake in organisms .Environmental Toxicology & Chemistry, Vol. 27, pp.1883-1887.
23. Anderson, J.P.E., 1982. Soil respiration. In: Page, A. L. (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin. PP. 831-871.
24. Eivazi, F., and Tabatabai, M.A., 1977. Phosphatases in soils. Soil Biology and Biochemistry, Vol. 9, pp. 167-172.
25. Jośko, I., Oleszczuk, P., and Futa, B., 2014. The effect of inorganic nanoparticles (ZnO, Cr_2O, CuO and Ni) and theirbulk counterparts on enzyme activities in different soils. Geoderma Vol. 232–234, pp. 528–537.
26. Baath, E., 1989. Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). Water Air Soil Pollut,Vol. 47, pp. 335–379.
27. Gao, Y., Zhou, P., Mao, L., Zhi, Y., and Shi, W., 2010. Assessment of effects of heavy metals combined pollution on soil enzyme activities and microbial community structure: modified ecological dose–response model and PCR-RAPD. Environ. Earth Sci, Vol. 60, pp. 603–612.
28. Aon, M.A., and Colaneri, A.C., 2001. II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. Appl. Soil Ecol, Vol. 18, pp. 255–270.
29. Huang, P.-M., Wang, M.-K., and Chiu, C.-Y., 2005. Soil mineral–organic matter–microbe interactions: impacts on biogeochemical processes and biodiversity in soils. Pedobiologia, Vol. 49, pp. 609–635.
30. Xu, C., Peng, C., Sun, L., Zhang, S., Huang, H., Chen, Y., and Shi, J., 2015. Distinctive effects of TiO and CuO nanoparticles on soil microbes and their community structures in flooded paddy soil. Soil Biology & Biochemistry, Vol. 86, pp. 24-33.
31. Dinesh, R., Anandaraj, M., Srinivasan, V., and Hamza, S., 2012. Engineered nanoparticles in the soil and their

potential implications to microbial activity. Geoderma, Vol. 173–174, pp. 19–27.

32. Vittori Antisari, L., Carbone, S., Gatti, A., Vianello, G., and Nannipieri, P., 2013. Toxicity of metal oxide (CeO_2, Fe_3O_4, SnO) engineered nanoparticles on soil microbial biomass and their distribution in soil. Soil Biol. Biochem, Vol. 60, pp. 87–94.
33. Burns, R.G., DeForest, J.L., Marxsen, J., Sinsabaugh, R.L., Stromberger, M.E., Wallenstein, M.D., Weintraub, M.N., and Zoppini, A., 2013. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. Soil Biol. Biochem, Vol, 58, pp. 216–234.
34. Geranmayeh, A., 2011 .Evaluating solubility, aggregation and sorption of nanosilver particles and silver ions in soils, Soil and Water Management, Vol. 8, pp. 1-19. (In Persian).
35. Coutris, C., Joner, E.J., and Oughton, D.H., 2012. Aging and soil organic matter content affect the fate of silver nanoparticles in soil. Sci. Total Environ, Vol. 420, pp. 327–333.