

## تأثیر ذرات نانواهن و نقره بر فعالیت برخی شاخص‌های زیستی در خاک

مهرناز طهماسبی<sup>۱</sup>

شکوفه رضائی\*<sup>۲</sup>

[Rezaee\\_sh@yahoo.com](mailto:Rezaee_sh@yahoo.com)

علی خانمیرزایی<sup>۳</sup>

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  $\text{mgkg}^{-1}$ ) 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 نانواهن، 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 تنفس میکروبی خاک داشت. در اثرات متقابل نانوذرات آهن و نقره، بیش‌ترین تنفس میکروبی به میزان  $47/33$  ( $\mu\text{gCg}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) در غلظت  $200$  ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) نانوذره آهن و نقره بدست آمد. در اثر متقابل نانواهن و زمان، بیش‌ترین تنفس میکروبی به میزان  $51/37$  ( $\mu\text{gCg}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) در غلظت  $100$  ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) نانوذره آهن پس از ۱۷ روز انکوباسیون بدست آمد و در اثرات متقابل نانو نقره و زمان، بیش‌ترین تنفس میکروبی ( $49/02$   $\mu\text{gCg}^{-1}\text{d}^{-1}$ ) در غلظت  $50$  ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) نانو نقره پس از ۱۷ روز انکوباسیون مشاهده شد. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به میزان  $288/20$  ( $\text{gPNPg}^{-1}\text{h}^{-1}$ ) در غلظت  $200$  ( $\text{mgkg}^{-1}$ ) نانوذره آهن پس از ۱۰ روز 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. \*مسئول 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.

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

**Mehrnaz Tahmasebi<sup>1</sup>**

**Shekoofeh Rezaei<sup>2\*</sup>**

[Rezaee\\_sh@yahoo.com](mailto:Rezaee_sh@yahoo.com)

**Ali Khanmirzaei<sup>3</sup>**

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. Therefore 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<sup>-1</sup>). 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<sup>-1</sup>soil) at 200 mgkg<sup>-1</sup> 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<sup>-1</sup>soil h<sup>-1</sup>) was detected after 10 days in 200 mgkg<sup>-1</sup> 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 قرار گرفته‌اند (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). فسفات‌ها آنزیم‌های خارج سلولی و کلیدی در چرخه فسفر هستند که با سرعت بخشیدن به هیدرولیز پیوندهای استرفسفات، موجب آزاد شدن فسفات در خاک شده و شاخص مناسبی برای توان معدنی شدن فسفر آلی خاک‌ها محسوب می‌شوند (۱۰، ۱۱ و ۱۲). اثر نانو اکسید 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 بازدارندگی نانو اکسید مس بر فعالیت آنزیمی (دهیدروژناز، فسفاتاز اسیدی و بتاگلوکوسیداز) توسط کیم و همکاران (۲۰۱۳) بررسی شد. این بازدارندگی 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 کاملاً تصادفی با سه فاکتور ذرات نانو آهن و نقره هر کدام در پنج غلظت ۰ (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 در عصاره اشباع (۱۶)، بافت خاک به روش هیدرومتری (۱۷)، مواد آلی 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 کدال (۲۱) و ظرفیت زراعی اندازه‌گیری شد (جدول ۱). بر اساس طرح آزمایش، ۷۵ نمونه ۱۰۰ گرمی از خاک درون ظروف پلی‌اتیلنی نیم لیتری ریخته شد. ذرات نانو آهن و نقره ساخته شده (با قطر متوسط ۱۰۰ نانومتر) به روش بورهیدرات (۲۲) بر اساس تیمارها با ترازی دیجیتالی توزین و با خاک کاملاً مخلوط گردید و با تنظیم رطوبت در حدود ۵۰ درصد ظرفیت مزرعه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در فواصل زمانی ۱۰، ۱۷ و ۳۰ 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

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

### نتایج

معنی‌دار داشت. اثر زمان و اثر متقابل نانوذره آهن و زمان بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در سطح یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲).

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

### جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نانوذرات آهن، نقره و زمان بر آنزیم 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

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

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

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 در گرم

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 نانوذره باعث افزایش تنفس میکروبی خاک نسبت به تیمار شاهد شد. تنفس خاک با گذشت زمان افزایش

میزان ۲۳۶/۴۷ (میکروگرم پارانیتروفنل در گرم خاک در یک ساعت) در غلظت ۱۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم خاک) در زمان ۳۰ 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.

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 در گرم خاک در یک ساعت) در غلظت ۲۰۰ (میلی گرم بر کیلوگرم خاک) و در زمان ۱۰ روز و کم‌ترین میزان فسفاتاز قلیایی به

جدول ۳- مقایسه میانگین آنزیم فسفاتاز اسیدی، 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

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

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

جدول ۴- مقایسه میانگین آنزیم فسفاتاز قلیایی تحت تاثیر نانو ذره آهن و زمان

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

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

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

میزان  $31/13$  (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) بدست آمد که نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری داشت (جدول ۵). در غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانو ذره آهن، با افزایش غلظت نانو ذره نقره، تنفس میکروبی خاک افزایش یافت.

در اثرات متقابل نانو آهن و نقره، بیشترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) ذرات نانو آهن و نقره به میزان  $47/33$  (میلی‌گرم کربن در گرم خاک) بود که تفاوت معنی‌داری با تنفس میکروبی نمونه شاهد نداشت. کمترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۲۰ و ۲۰۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانو ذره آهن و نانو ذره نقره در خاک به

## 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

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

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

در تیمار ۲۰ (میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) و زمان ۱۰ روز به میزان ۲۸/۲۵ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) بدست آمد. در همه سطوح نانو ذره آهن با افزایش زمان

بیش‌ترین تنفس میکروبی خاک در غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم برکیلوگرم خاک) نانو ذره آهن و زمان ۱۷ روز به میزان ۵۱/۳۷ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) و کم‌ترین مقدار آن



شاهد و ۱۰ روز پس از انکوباسیون مشاهده شد. در یک غلظت ثابت نانو ذره 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 (جدول ۷).

انکوباسیون از ۱۰ به ۱۷ روز، تنفس میکروبی افزایش و پس از آن در زمان ۳۰ روز کاهش یافت (جدول ۶). بیشترین تنفس میکروبی خاک به میزان ۴۹/۰۲ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) در غلظت ۵۰ (میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) نانو ذره نقره و ۱۷ روز پس از انکوباسیون و کمترین آن به میزان ۳۴/۶۰ (میکروگرم کربن در گرم خاک در یک روز) در تیمار

#### 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

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

میانگین‌های دارای حرف مشابه در هرستون، 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

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

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

## بحث و نتیجه‌گیری

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). نانوآکسید تیتانیوم در غلظت‌های ۱۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز و فسفاتاز نداشت ولی غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوآکسید تیتانیوم باعث افزایش فعالیت اوره‌آز و کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز نسبت به تیمار شاهد شد. ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوآکسید آهن تاثیری روی فعالیت اوره‌آز نداشت در حالی‌که غلظت‌های بالاتر نانوآکسید آهن باعث کاهش فعالیت اوره‌آز شد. غلظت‌های مختلف نانوآکسید مس باعث کاهش معنی‌دار آنزیم فسفاتاز گردید (۳۰). خصوصیات خاک از قبیل

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 (۲۶ و ۲۷). از طرفی فعالیت آنزیم‌های برون‌سلولی مانند فسفاتاز حساسیت کمتری نسبت به آلاینده‌ها نشان می‌دهند. فعالیت آنزیم‌های برون‌سلولی به خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک بستگی دارد (۲۸ و ۲۹). این آنزیم‌ها می‌توانند توسط رس‌ها یا مواد آلی خاک جذب و از تماس آن

کاملاً متناقضی مبنی بر کاهش تنوع میکروبی با کاربرد نانوآکسید تیتانیوم توسط شاه و همکاران (۲۰۱۴) مشاهده شد (۴۰). واکنش میکروارگانیسیم‌های 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 از حس‌گرهای زیستی مناسب در سایر تحقیقات مورد توجه قرارگیرد. آنزیم فسفاتاز قلیایی تنها تحت تاثیر نانوذره آهن و زمان قرار گرفت در صورتی که 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 بازدارندگی 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

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 در محیط‌های متفاوت می‌توانند اثرات متفاوتی داشته باشند. تحرک ذرات نانونقره در خاک (از بین عوامل ذکر شده فوق) شدیداً وابسته به pH می‌باشد و هرچه pH خاک بالاتر باشد، تجمع ذرات نانونقره در خاک بیش‌تر و اثرگذاری این ذرات کم‌تر است. به عبارت دیگر قابلیت تحرک زیستی (Bioavailability) ذرات نانونقره در خاک، 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 صورتی که در غلظت‌های بالای نقره، اثرات منفی کمتر مشاهده می‌شود (۱۵). با گذشت زمان تماس، اثر نانوذره تغییر می‌کند (۳۵). با گذشت 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 میکروارگانیسیم 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 تاثیر 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 حالی که در خاک‌های آلی تغییری مشاهده نشد (۳۷). جی و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند کاربرد نانوآکسید تیتانیوم جوامع باکتریایی را به طور معنی‌دار تغییر داد (۳۸) در حالی که بارک و همکاران (۲۰۱۴) تغییر در جمعیت قارچ‌های میکوریزی را مشاهده نمودند (۳۹). نتایج

- molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology & Biochemistry*, Vol. 32, pp. 1007-1014.
- 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.
  - 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.
  - 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.
  - 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.
  - 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.
  - Richards, L.A., 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils, *U.S.D.A Handbook 60*: 65-86.
  - 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.
  - Walkley, A., and Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff optimized fertilizer and pesticide application. 1st Conference of Nanotechnology in Environments. Isfahan University of Technology. Isfahan. Iran.(In Persian)
  - 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.
  - 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.
  - Eldor, P. 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Tercera ed. Eldor P, editor. Chennai, India: Academic Press.
  - Luo, Y., and Zhou, X., 2006. *Soil respiration and the Environment*. Academic press, 328pp.
  - 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.
  - Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia*, Vol. 49, pp. 637– 644.
  - 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.
  - Antonietta Rao, M., Violante, A., and Gianfreda, L., 2000. Interaction of acid phosphatase with clays, organic

- and Biochemistry, Vol. 9, pp. 167-172.
25. Joško, I., Oleszczuk, P., and Futa, B., 2014. The effect of inorganic nanoparticles (ZnO, Cr<sub>2</sub>O, CuO and Ni) and their bulk 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 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, Part 2: 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*

- 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.
- 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 ( $\text{CeO}_2$ ,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ,  $\text{SnO}$ ) 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