

## تأثیر بازدارندگی سرب، کادمیم و کروم بر فعالیت آنزیم‌های ال - آسپاراژیناز و اوره‌آز

### فرشید نوربخش و گیتی امتیازی

به ترتیب مربی و دانشجوی دکتری، گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان و دانشیار گروه

میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

### مقدمه

چرخه عناصر غذایی در خاک شامل واکنش‌های بیوشیمیایی بسیاری است. واکنش‌های بیوشیمیایی بوسیله آنزیم‌ها انجام می‌گیرد. معدنی‌شدن نیتروژن یکی از مهم‌ترین فرآیندهای بیوشیمیایی چرخه نیتروژن است که به وسیله گروهی از آنزیم‌ها که عمدتاً متعلق به گروه هیدرولازها هستند صورت می‌گیرد. یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های مسئول، معدنی‌شدن نیتروژن، ال - آسپاراژیناز است (۴). این آنزیم ال - آسپاراژین را هیدرولیز کرده و ال - آسپاراتیک اسید و آمونیاک ایجاد می‌نماید (۴ و ۶). یکی از گام‌های مهم جهت شناسایی ویژگی‌های رفتاری یک آنزیم در خاک مطالعه عوامل مؤثر بر آن و تأثیرپذیری آن از خصوصیات مختلف خاک است، در این ارتباط اطلاعات اندکی از تأثیر فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم ال - آسپاراژیناز وجود دارد (۴). اوره‌آز یکی دیگر از مهم‌ترین آنزیم‌های مؤثر بر نیتروژن معدنی خاک است که اوره را به آمونیاک و دی‌اکسیدکربن هیدرولیز می‌نماید. اگرچه اطلاعات موجود از رفتار این آنزیم در حضور فلزات سنگین بیشتر از ال - آسپاراژیناز است لیکن بیشتر مطالعات انجام شده عمدتاً در خاک‌های کاملاً متفاوت با خاک‌های نیمه خشک منطقه مرکزی در ایران صورت گرفته است. به طور کلی چنین به نظر می‌رسد که یون‌های فلزی با گروه‌های سولفید ریل آنزیم‌ها واکنش داده و ترکیبات سولفید فلزی ایجاد می‌کنند، گروه سولفید ریل در آنزیم‌ها ممکن است بخشی از سایت فعال آنزیم بوده و یا در ایجاد وضعیت مناسب فضایی آنزیم دخالت داشته باشد (۳). از آنجا که هیچ گزارشی از تأثیر فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم‌های ال - آسپاراژیناز و اوره‌آز در خاک‌های نیمه خشک تا خشک منطقه مرکزی ایران وجود ندارد، این مطالعه جهت ارزیابی این مهم صورت گرفت.

### مواد و روشها

پنج نمونه خاک مختلف از بین مهم‌ترین سری‌های خاک استان اصفهان تهیه گردید. نمونه‌ها طبق روش فرانکنبرگر و طباطبایی (۴ و ۵) ابتدا هوا خشک گردید، آن گاه پس از عبور از الک ۲ میلی‌متری در ظروف شیشه‌ای در بسته نگهداری گردید (۴ و ۵). بافت خاک، درصد مواد آلی، ظرفیت تبادل کاتیونی، نیتروژن کل، قابلیت هدایت الکتریکی و pH خاک‌ها، هر کدام مطابق با روش‌های استاندارد تعیین گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ال - آسپاراژیناز از روش فرانکنبرگر و طباطبایی و جهت اندازه‌گیری آنزیم اوره‌آز از روش برمنر و طباطبایی استفاده شد (۷). برای مطالعه تأثیر فلزات سنگین بر نمونه‌ها، ابتدا ۵ گرم از نمونه‌های خاک یک میلی‌متری محلول نمک فلز سنگین (حاوی ۲۵ میکرو مول فلز سنگین در هر میلی‌لیتر محلول) به صورت قطره‌قطره اضافه گردید تا کاملاً پخش گردد، آن گاه پس از نیم ساعت نگهداری در دمای اطاق (جهت تأثیر فلز بر آنزیم‌ها)، فعالیت آنزیم ال - آسپاراژیناز اندازه‌گیری شد. برای هر یک از خاک‌ها ۳ تکرار در نظر گرفته شد. همچنین یک تیمار شاهد برای هر خاک به کار رفت که در آن به جای یک میلی‌لیتر محلول فلز سنگین یک میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردد. عملیات فوق یک بار برای آنزیم ال - آسپاراژیناز و یک بار برای آنزیم اوره‌آز صورت گرفت. شدت تأثیر فلز سنگین بر فعالیت هر یک از آنزیم‌ها با تعیین درصد بازدارندگی (Percent Inhibition) با استفاده از فرمول زیر تعیین گردید.

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

که در این فرمول A عبارت است از فعالیت آنزیم بدون حضور فلز سنگین و B فعالیت آنزیم در حضور فلز سنگین.

از این روش پیش از این جهت مطالعه تأثیر فلزات سنگین بر آنزیم‌های سلولاز (۲)، گلوکوزیداز و گالاکتوزیداز (۳)، ال - گلوتامیناز (۵) و ال - آسپاراژیناز (۴) استفاده شد و به نظر می‌رسد روش استاندارداری جهت تأثیر عوامل سمی (از جمله فلزات، سموم، بازدارنده‌ها و ...) بر فعالیت آنزیم‌ها باشد.

### نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های خاک‌های منتخب در این مطالعه در جدول ۱ ملاحظه می‌شوند. چنانکه ملاحظه می‌شود خاک‌ها دارای تنوع قابل ملاحظه‌ای در ویژگی‌ها بوده و دامنه قابل قبولی را ارائه می‌نمایند. جدول ۲ میانگین درصد بازدارندگی سه فلز کروم، کادمیم و سرب بر فعالیت آنزیم ال - آسپاراژیناز را نشان می‌دهد. چنانکه ملاحظه می‌شود اثر بازدارندگی کروم در تمام خاک‌ها بر فعالیت ال - آسپاراژیناز کمتر از کادمیم و سرب بوده و این تفاوت در سطح ۰/۰۱ معنی دار است. همچنین تأثیر بازدارندگی سرب و کادمیم به جز در خاک پل شهرستان و الور با یکدیگر یکسان است. تأثیر بازدارندگی این عناصر بر فعالیت اوره‌آز نیز تشابه زیادی با آنزیم ال - آسپاراژیناز دارد (جدول ۳). به طوری که سمیت کروم در تمامی خاک‌ها از کادمیم و سرب کمتر است. همچنین کادمیم و سرب در تمامی خاک‌ها تأثیر بازدارندگی مشابهی بر فعالیت اوره‌آز دارند. عیوضی و طباطبایی (۳) نشان دادند تأثیر کاهنده این سه فلز بر آلفاگلوکوزیداز بیشتر از بتاگلوکوزیداز است، هم‌چنین این محققان دریافتند که میانگین بازدارندگی برای کروم، کادمیم و سرب بر روی بتاگلوکوزیداز به ترتیب ۴۹، ۵۷ و ۳۷ درصد بوده است. دنگ و طباطبایی این ارقام را برای آنزیم سلولاز ۱۱/۵، ۱۸/۵ و ۱۱/۷ گزارش کردند که با یافته‌های تحقیق حاضر بر روی آل - آسپاراژیناز و اوره‌آز متفاوت است. دلیل این تفاوت مربوط به تأثیر اختصاصی فلزات بر آنزیم‌ها است به طوری که یک فلز معین ممکن است تأثیر یکسانی بر آنزیم‌های مختلف نگذارد. فرانکنبرگر و طباطبایی (۴) تأثیر این سه فلز بر ال - آسپاراژیناز را مورد بررسی قرار داده و نشان دادند میانگین درصد بازدارندگی آنها به ترتیب برای کروم، کادمیم و سرب ۱۵/۲، ۲۱ و ۲۵/۷ بوده است.

جدول ۱ - ویژگی‌های پنج خاک برگزیده جهت مطالعه تأثیر فلزات سنگین بر فعالیت ال - آسپاراژیناز و اوره‌آز

محل یا سری خاک	کربن آلی %	شن %	رس %	EC ds/m	pH	فعالیت ال - آسپاراژیناز	فعالیت اوره از
						$MgNH_4g^{-1}2hr^{-1}$	
پل شهرستان	۰/۹۸	۱۸/۳	۳۸/۰	۱/۶۶	۷/۴	۸/۷۶	۵۵/۱۰
الور	۱/۴۴	۲۲/۲	۳۹/۶	۰/۷۸	۷/۷	۱۳/۵۸	۶۱/۲۰
قهدریجان	۰/۴۴	۵۷/۹	۲۱/۵	۵/۹۳	۷/۵	۷/۳۹	۱۸/۰۴
اردستان	۱/۹۹	۷۰/۱	۱۸/۷	۴/۳۰	۷/۸	۱۴/۷۱	۷۵/۶۳
تلک آباد	۰/۱۳	۳۱/۶	۲۶/۲	۶/۸۰	۷/۸	۶/۹۹	۱۵/۳۰

جدول ۲ - مقایسه میانگین درصد بازدارندگی فلزات سنگین بر آنزیم ال - آسپاراژیناز

سری خاک	Pb	Cd	Cr
پل شهرستان	۲۴/۷ c	۱۸/۴ b	۱۵/۱ a
الور	۳۰/۱ c	۲۲/۵ b	۱۴/۳ a
قهدریجان	۲۵/۶ b	۲۳/۷ b	۱۰/۲ a
اردستان	۳۲/۷ b	۲۶/۹ b	۱۹/۳ a
تلک آباد	۱۶/۱ b	۱۴/۶ b	۷/۸ a

از نتایج حاصل از این تحقیق چنین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که فلزات سنگین به ویژه سرب قادر است فعالیت آنزیم آل - آسپاراژیناز و اوره آز را در خاک کاهش دهد که این کاهش ممکن است لطمه جبران‌ناپذیری به سلامت بیوشیمیایی خاک، معدنی شدن طبیعی نیتروژن، استفاده مؤثر از کود اوره و نهایتاً پایداری سیستم‌های کشاورزی وارد نماید، لذا چنان که پیش از این اشاره گردید، مطالعه گسترده‌ای جهت ارزیابی تأثیر فلزات سنگین بر فعالیت‌های آنزیمی در مزارع به ویژه مزارع اطراف جاده‌های بزرگ لازم است صورت گیرد.

جدول ۳- مقایسه میانگین درصد بازدارندگی فلزات سنگین بر آنزیم اوره آز

سری خاک	Pb	Cd	Cr
پل شهرستان	۶۱/۱ b	۱۵/۴ b	۱۲/۵ a
الور	۱۴/۸ b	۱۲/۶ b	۱۰/۶ a
قهدریجان	۱۴/۷ b	۱۴/۴ b	۸/۹ a
اردستان	۲۴/۹ b	۲۲/۸ b	۱۸/۰ a
تلک‌آباد	۱۲/۱ b	۱۱/۲ b	۵/۲ a

## منابع مورد استفاده

۱. رحمانی، ح. ر. ۱۳۷۴. آلودگی خاک توسط عنصر سرب حاصل از وسایل نقلیه در محدوده برخی از بزرگراه‌های ایران، پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی، دانشکده صنعتی اصفهان.
2. Deng, S.P. and M.A. Tabatabai. 1995. Cellulase activity of soils: Effect of trace elements. *Soil Biol. Biochem.* 27:977-979.
3. Eviazi, F. and M.A. Tabatabai, 1990. Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in Soils. *Soil Biol. Biochem.* 22:891-897.
4. Frankenberger, Jr., W.T. and M.A. Tabatabai. 1991. Factors affecting L-asparaginase activity in Soils. *Soil Biol. Fertil. Soils.* 11: 1-5.
5. Frankenberger, Jr., W.T. and M.A. Tabatabai. 1991. Factors affecting L-glutaminase activity in Soil Biol. Biochem. 23: 875-879.
6. Frankenberge, Jr., W.T. and M.A. Tabatabai. 1991. L-asparaginase activity of Soils. *Biol. Fertil. Soils.* 11:6-12.
7. Tabatabai, M.A. 1994. Soil Entymey, pp: 775-833, In: R.W., Weaver at (Eds), *Methods of soil Analysis, Part 2.* Sci. Soc. Am. Madison WI. USA