

## تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در دو خاک آهکی و غیرآهکی

### نجمه یزدان‌پناه

دانشجو دکترا خاکشناسی و عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد واحد کرمان

#### مقدمه

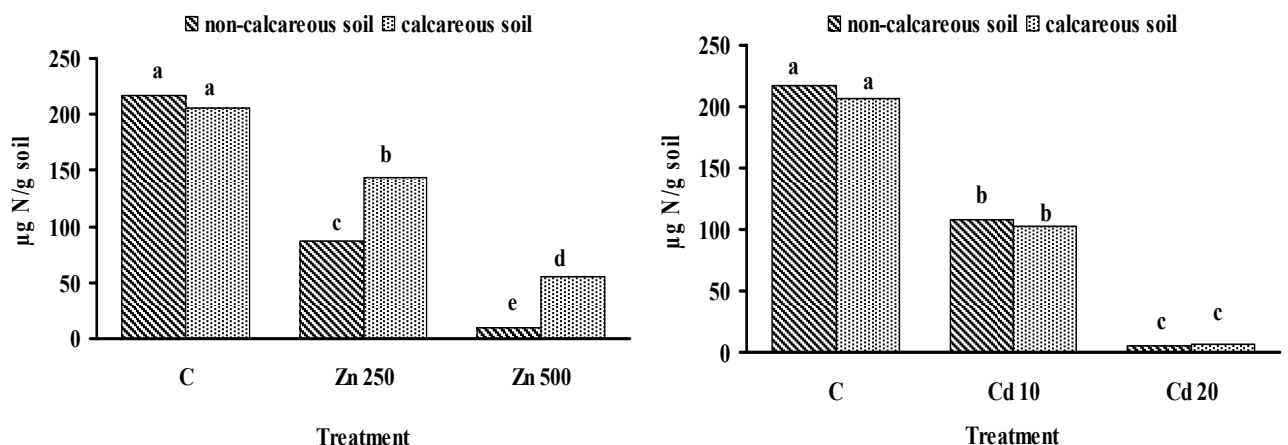
چرخه عناصر غذایی در خاک شامل فرآیندهای بیوشیمیایی، شیمیایی و فیزیکوشیمیایی می‌باشد که توسط میکروارگانیسم‌ها، ریشه گیاهان و جانوران موجود در خاک انجام می‌شود. واکنش‌های بیوشیمیایی توسط آنزیم‌ها کاتالیز می‌شوند، آنزیم‌های متعددی در خاک وجود دارد که اوره‌آز یکی از مهمترین آنهاست. این آنزیم واکنش هیدرولیز اوره به دی‌اکسیدکربن و آمونیاک را تسریع می‌کند. در دهه‌های اخیر فعالیت‌های بشر از جمله استفاده از لجن فاضلاب، سموم و علفکش‌ها سبب تجمع فلزات سنگین در خاک و آلودگی آن شده که می‌تواند زندگی موجودات زنده را به مخاطره بیندازد. این فلزات سمی بوده و بر رشد گیاهان و فعالیت میکروارگانیسم‌ها اثر سوء می‌گذارند. بررسی اثرات فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم اوره‌آز از اهمیت زیادی برخوردار است، زیرا این آنزیم دارای حساسیت بالایی نسبت به این فلزات می‌باشد و سوبسترای این آنزیم (اوره) از طرق مختلفی نظیر مصرف کودهای شیمیایی و مواد دفعی حیوانات وارد خاک می‌شود (۴). بخشی از گروه‌های سولفیدریل آنزیم اوره‌آز با یون‌های فلزی واکنش داده و غیرفعال می‌شود، در نتیجه فلزات سنگین با اثرگذاری بر گروه‌های عاملی آنزیمی، موجب کاهش یا توقف فعالیت آنزیمی می‌شوند (۵). نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که عناصر کادمیم و روی سبب توقف فعالیت آنزیم اوره‌آز شده‌اند (۵). با توجه به اینکه سطوح گسترده‌ای از خاک‌های ایران را خاک‌های آهکی دربرگرفته است، اما اطلاعات زیادی در مورد اثر فلزات سنگین بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک‌های کشورمان وجود ندارد. با توجه به اهمیت و جایگاه خاک در محیط زیست و توسعه پایدار، بررسی تأثیر فلزات سنگین کادمیم و روی بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک‌های آهکی ایران امری بسیار ضروری به نظر می‌رسد. تحقیق حاضر به بررسی تأثیر فلزات سنگین روی و کادمیم بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در دو خاک آهکی و غیرآهکی می‌پردازد.

#### مواد و روش‌ها

برای انجام این آزمایش دو خاک با درصد آهک مختلف (خاک آهکی و غیرآهکی) انتخاب شد. آزمایش به منظور اندازه‌گیری آنزیم اوره‌آز به صورت فاکتوریل در دو خاک آهکی و غیرآهکی، ۶ سطح فلز سنگین (کادمیم با غلظت صفر، ۱۰ و ۲۰ میکروگرم در گرم خاک و روی با غلظت صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ میکروگرم در گرم خاک) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در محیط آزمایشگاه انجام گرفت. محلول سولفات کادمیم و سولفات روی توسط افشانه بر روی خاک بطور یکنواخت پاشیده و پس از برقراری تعادل، فعالیت آنزیم اوره‌آز با استفاده از روش هافمن و تیچر اندازه‌گیری شد (۳). روش این آزمایش بدین ترتیب بود که ۷/۵ میلی‌لیتر سیترات بافر (pH= ۶/۷) و ۱۰ میلی‌لیتر محلول اوره ۱۰ درصد به ۱۰ گرم خاک خشک اضافه و سپس نمونه به مدت ۳ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. با استفاده از آب مقطر خالص حجم نمونه‌ها به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، پس از عبور دادن سوسپانسیون از کاغذ صافی، یک میلی‌لیتر از محلول صاف شده با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر خالص رقیق و ۴ میلی‌لیتر فنولات سدیم و ۳ میلی‌لیتر هیپوکلرید سدیم ۰/۹ درصد به آن افزوده شد. پس از اضافه کردن معرف نسلر (Nesler)، آمونیوم آزاد شده با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. لازم به ذکر است که نمونه شاهد بدون افزودن اوره تهیه شد.

## تایج و بحث

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که فلزات سنگین روی و کادمیم بر آنزیم اوره‌آز تأثیر چشمگیری داشته و فعالیت آنزیم اوره‌آز را کاهش دادند. فعالیت آنزیم اوره‌آز در تیمار شاهد خاک غیرآهکی حدود ۵ درصد از فعالیت آنزیم اوره‌آز در نمونه شاهد خاک آهکی بیشتر بود (شکل ۱). کادمیم با غلظت ۲۰ میکروگرم در گرم خاک سبب توقف کامل فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک آهکی و غیرآهکی شد. درحالیکه غلظت ۱۰ میکروگرم کادمیم در گرم خاک آهکی و غیرآهکی، فعالیت آنزیم اوره‌آز را به نصف فعالیت این آنزیم در خاک شاهد رساند یعنی کاهش ۵۰ درصد در این تیمار مشاهده شد. روی با غلظت ۲۵۰ میکروگرم در گرم خاک در دو خاک آهکی و غیرآهکی، فعالیت آنزیم اوره‌آز را به ترتیب ۳۰ و ۶۰ درصد کاهش داد (شکل ۱)، درحالیکه غلظت ۵۰۰ میکروگرم روی در گرم خاک غیرآهکی فعالیت آنزیم اوره‌آز را کاملا متوقف کرده و در همین تیمار خاک آهکی آنزیم اوره‌آز به میزان کم فعالیت داشت. فعالیت این آنزیم در حضور عنصر روی در خاک آهکی بیشتر از خاک غیرآهکی است که بر اساس مطالعات مک براید فلزات سنگین کاتیونی بر روی ذرات کربنات کلسیم خاک جذب سطحی و گاهی اوقات رسوب می‌شوند (۱). لذا به نظر می‌رسد پدیده رسوب باعث کاهش حلالیت و قابلیت دسترسی عنصر روی می‌شود که به تبع اثرات سمیت آن بر فعالیت آنزیم اوره‌آز نیز کاهش می‌یابد. با وجودی که تحقیقات بسیار زیادی در رابطه با رفتار فلزات سنگین در خاک و اثرات سمی آنها بر سیستم‌های زیستی صورت گرفته ولی در مورد اثر این فلزات بر واکنش‌های بیوشیمیایی موجود در خاک کمتر کار شده است (۵). بررسیهایی که در رابطه با اثرگذاری فلزات سنگین بر فعالیت آنزیمی انجام شده، نشان می‌دهد که فلزات سنگین علاوه بر اینکه می‌توانند برخی از میکروارگانیسم‌های حساس را از بین برده و سبب کاهش فعالیت آنزیم‌ها شوند، با تخریب ساختمان پروتئین، برهمکنش با کمپکس آنزیم - سوبسترا، جایگزینی در سایتهای فعال آنزیم‌ها و یا توقف سنتز آنزیم در سلولهای میکروبی، قادرند فعالیت آنزیمی را کاهش دهند (۶). هنگامی که کادمیم با سایتهای فعال تشکیل پیوند می‌دهد. آنزیم‌ها غیرفعال شده و متابولیسم آنها متوقف می‌گردد. علاوه بر این، کادمیم با وجود اثرات مخرب بر ساختمان و عملکرد غشا از طریق تشکیل پیوند با لیگاندهایی مانند فسفات، سیستئینیل و هیستیدیل گروه‌های پروتئینی بعنوان یک بازدارنده فعالیت آنزیمی محسوب می‌شود (۲).



شکل ۱- فعالیت آنزیم اوره‌آز در دو خاک آهکی و غیرآهکی تیمار شده با کادمیم و روی

## منابع

1. McBride, M. B., 1994. Environmental chemistry of soils. Oxford University Press, New York. 406 p.
2. McGrath, S. P., 1999. Adverse effects of cadmium on soil microflora and fauna. In: McLaughlin, M.J., B.R., Singh, (Eds.), Cadmium in Soils and Plant. Kluwer Academic, Netherlands, pp.199-218.
3. Page, A. L., R. H., Miller, D. R., Keeney, 1982. Methods of soil analysis (2<sup>nd</sup> ed.), Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA.
4. Shaw, W. H. R., 1954. The inhibition of urease by various metal ions. Journal of American Chemistry Society. 76, 2160-2163.
5. Tabatabai, M. A., 1976. Effects of trace elements on urease activity in soils. Soil Biology and Biochemistry. 9, 9-13.
6. Vig, K., M., Megharaj, N., Sethunathan, R., Naidu, 2003. Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil (a review). Advances in Environmental Research. 8, 121-135.