شانزدهمین کنگره علوم خاک ایران

دانشگاه زنجان، ۵ تا ۷ شهریور ۱۳۹۸

محور مقاله: آلودگی خاک و آب و سلامت محصولات کشاورزی

تاثیر نانو ذرات نقره بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز

سکینه بالنده*[۱]، امیر لکزیان[۲]، علی جوادمنش[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۲] استاد گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۳] استاد یارگروه علوم دامی دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده:

به علت کاربرد گسترده نانو ذرات نقره در صنعت و امور پزشکی امروزه این ماده به‌عنوان یک آلاینده نوظهور موردتوجه قرارگرفته است. با توجه به خاصیت ضد باکتریایی نقره انتظار می‌رود که این ماده پس از ورود به خاک، جمعیت میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار دهد. لذا این پژوهش باهدف بررسی اثر نانوذره نقره بر فعالیت آنزیمی خاک اجرا گردید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل با سه تکرار در شرایط انکوباسیون انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۵ سطح نقره (۰/۵، ۵، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) و چهار دوره زمانی (۷، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز) بود. نتایج نشان داد که اثر کاربرد نانوذره نقره بر فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز خاک معنی‌دار بود ($p<۰/۰۱$). با افزایش سطح نانو نقره مقدار فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. به‌طوری‌که کمترین میزان فعالیت آنزیمی در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو نقره و بیشترین در تیمار شاهد مشاهده شد. نتایج نشان داد در تمام تیمارهای آزمایشی فعالیت آنزیم اوره‌آز باگذشت زمان افزایش، درحالی‌که فعالیت آنزیم دهیدروژناز کاهش یافت. نتایج این پژوهش نشان داد که نانو ذرات نقره می‌توانند بر آنزیم‌های دخیل در چرخه نیتروژن و کربن تأثیر منفی داشته باشند.

کلمات کلیدی: فعالیت میکروبی، فعالیت ضد باکتریایی، سمیت زیستی

مقدمه:

در دهه‌های اخیر ذرات نانو به علت ویژگی و کاربردهای خاص خود در فناوری بسیار موردتوجه قرارگرفته‌اند. فناوری نانو قادر است ساختاری بسازد که حداقل اندازه یکی از ابعاد آن ۱۰-۱ نانومتر باشد. باوجود روند روبه رشد محصولات تجاری دارای نانو ذرات در حال حاضر تنها از چند ماده در حجم و تعداد بالا در محصولات استفاده می‌شود که شامل نقره، دی‌اکسید تیتانیوم، اکسید روی، سیلیس، نانو مواد با پایه کربن (نانولوله‌های کربنی تک دیواره[۲]SWCNTs)، نانولوله‌های کربنی چندلایه (MWCNTs) و فولرین است. از این میان نانو ذرات نقره (AgNPs)[۴] به دلیل رسانایی خوب، پایداری شیمیایی، خواص کاتالیزوری و فتوژنیک و اپتوالکترونیک بسیار موردتوجه بوده‌اند (Cho و همکاران، ۲۰۰۵). نقره گسترده‌ترین[۵]MNPs تجاری است که در جواهرسازی، دندان‌پزشکی، عکاسی، پزشکی، لوازم‌آرایش، نساجی، بسته‌بندی مواد غذایی، کاتالیزورها و...کاربرد دارد. این ماده در طی تولید، مصرف و دفع محصولات حاوی نانو ذرات نقره وارد محیط‌زیست می‌شود. بخش بزرگی از آن‌ها درنتیجه دفع نامناسب فاضلاب، زباله‌های شهری و پزشکی، استفاده از لجن فاضلاب، کودهای آلی و آفت‌کش‌ها درنهایت وارد زمین‌های کشاورزی می‌شوند (Anjum و همکاران،۲۰۱۳). AgNPs می‌توانند به مدت طولانی در خاک باقی بمانند یا توسط میکروارگانیسم‌ها به‌صورت زیستی جذب شوند درنتیجه احتمال این وجود دارد که به‌صورت خطرات زیست‌محیطی و یا تجمع زیستی در زنجیره غذایی نقش داشته باشند (Rico و همکاران،۲۰۱۱). یکی از مهم‌ترین مسائلی که در مبحث نانو مطرح می‌شود این است که با همه‌گیر شدن کاربرد این مواد در زندگی روزمره بشر استفاده از آن‌ها چه عواقبی بر سلامتی انسان و محیط‌زیست خواهد داشت. مطرح‌ترین کاربرد AgNPs، فعالیت ضد باکتریایی آن‌هاست. نقره برای اکثر جوامع میکروبی سمی است که این موضوع می‌تواند برای انسان و محیط‌زیست هم مفید و هم مضر باشد. نقره به فرم یونی (Ag^+) و نانو برای ریز جانداران خاک و سایر موجودات زنده خاک سمی می‌باشد (Velicogna و همکاران، ۲۰۱۶). ریز جانداران خاک در چرخه‌های عناصر غذایی، تجزیه مواد آلی، دفع سموم از خاک و حفظ سلامت گیاه شرکت دارند. آتش‌سوزی در جنگل، آلودگی‌های نفتی، آلاینده‌ها و فعالیت‌های انسانی جامعه میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (John و همکاران،۲۰۱۱). برای مثال این تغییرات سبب کاهش زیست‌توده، فعالیت آنزیمی و تنوع زیست جانداران خاک می‌شود (Rousk و همکاران،

* ایمیل نویسنده مسئول: sa.balandeh@mail.um.ac.ir

2 Single-walled Carbon Nanotubes
3 Multi Walled Carbon Nanotubes
4 silver nanoparticles
5 metal nanoparticles

۲۰۱۲). بنابراین درک این موضوع که جامعه میکروبی در برابر آلاینده‌ها در محیط خاک چه واکنشی نشان می‌دهند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. فعالیت آنزیمی به‌عنوان شاخصی از سلامت بیولوژیک خاک شناخته می‌شوند که چرخه‌های بیوشیمیایی و پویایی مواد آلی خاک را در برمی‌گیرند(Acosta-Martinez و همکاران، ۲۰۱۸) . فعالیت ضد باکتریایی AgNPs مانع فعالیت برخی آنزیم‌های برون سلولی و درون‌سلولی می‌شود (Peyrot و همکاران، ۲۰۱۴). لذا در این پژوهش تأثیر فرم نانو نقره با پوشش pvp[6] سه درصد بر روی فعالیت دو آنزیم دهیدروژناز و اوره‌آز به‌عنوان شاخصی از سلامت زیستی خاک موردبررسی قرارگرفته است.

مواد و روش:

نمونه‌برداری و آماده‌سازی خاک: نمونه‌برداری از عمق (۰-۱۵cm) خاکی واقع در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی انجام گرفت. نمونه‌های ۱۰۰ گرمی خاک پس از عبور از الک دو میلی‌متری در سه تکرار مجزا شدند و به‌وسیله غلظت‌های مختلف AgNP (۰/۵، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ mg Kg^{-1} soil) تیمار شده و همراه با نمونه شاهد در ظروف پلی‌اتیلنی در غالب طرح کاملا تصادفی با آرایش فاکتوریل قرار گرفتند و در ۴ دوره زمانی (۷، ۱۴، ۲۸ و ۴۲ روز) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۶۰ درصد ظرفیت نگهداشت رطوبتی انکوباسیون شدند.pH خاک با استفاده از دستگاه pH متر در گل اشباع، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره گل اشباع توسط دستگاه هدایت سنج الکتریکی، کربن آلی به روش والکلی‌بلاک، نیتروژن کل به روش کجلدال، کربنات کلسیم معادل به روش تیتراسیون برگشتی، رطوبت ظرفیت مزرعه به روش گلدانی و بافت خاک به روش هیدرومتری اندازه‌گیری شد. رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel نسخه ۲۰۱۳ و تجزیه آماری با نرم‌افزار JUMP نسخه ۸ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال آماری ۱ درصد انجام گردید.

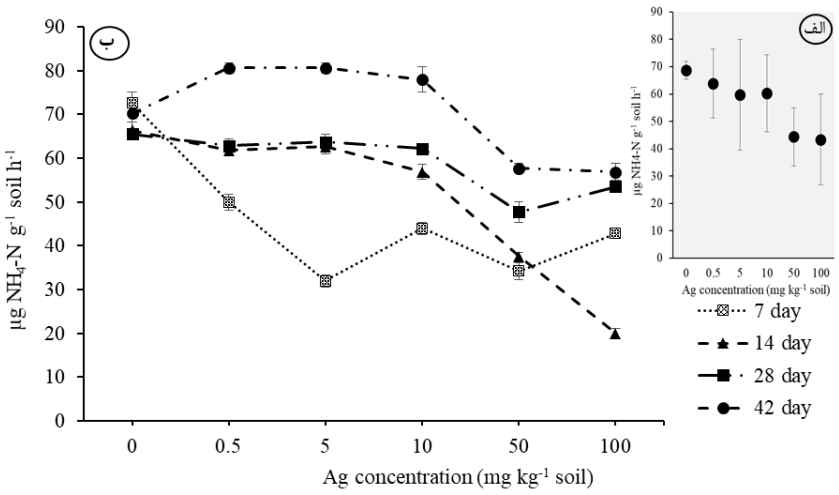
فعالیت آنزیم اوره‌آز: برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز ابتدا ۵ گرم خاک با ۰/۲ میلی‌لیتر تولوئن، ۹ میلی‌لیتر بافر تریس (تریس‌هیدروکسی‌متیل‌آمینومتان، pH=۷) و یک میلی‌لیتر محلول ۰/۲ مولار اوره به‌عنوان بستره تیمار شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. پس از انکوباسیون با محلول KCl-Ag_2SO_4 (۲/۵ مولار نسبت به KCl و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسیدند و سپس مقدار آمونیوم آزادشده در مخلوط خاک به روش تقطیر با بخارآب تعیین شد. نمونه شاهد در شروع انکوباسیون اوره دریافت نکرد و پس از ۲ ساعت انکوباسیون و افزودن محلول KCl-Ag_2SO_4، ۱ میلی‌لیتر محلول اوره به آن افزوده شد و مقدار آمونیوم بلافاصله اندازه‌گیری شد. باکم کردن مقدار نیتروژن آمونیومی شاهد از تیمار اصلی فعالیت اوره‌آز برحسب میلی‌گرم آمونیوم آزادشده به ازای هر گرم خاک خشک در دو ساعت انکوباسیون (mg NH^{4+}-N g^{-1} soil h^{-1}) گزارش شد (Tabatabai and Bremner، ۱۹۷۲).

فعالیت آنزیم دهیدروژناز: ۵ گرم خاک با ۵ میلی‌لیتر محلول تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید (TTC) ۰/۶ درصد به‌عنوان بستره تیمار شد و به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور قرار گرفت. پس از انکوباسیون برای عصاره‌گیری تری‌فنیل‌فورمازان (TPF) تولیدشده مقدار ۲۵ میلی‌لیتر استن به نمونه خاک افزوده و به مدت ۲ ساعت در تاریکی با دستگاه شیکر به هم زده شد. سپس مخلوط موردنظر از کاغذ صافی واتمن ۴۲ عبور داده شد و مقدار جذب نور نمونه‌ها در طول‌موج ۵۴۶ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و مقدار فعالیت آنزیم به‌صورت میکروگرم تری‌فنیل‌فورمازان به ازای هر گرم خاک خشک در ۱۶ ساعت انکوباسیون (µg TPF g^{-1} soil 16 h^{-1}) گزارش شد (Thalmann، ۱۹۶۶).

نتایج و بحث:

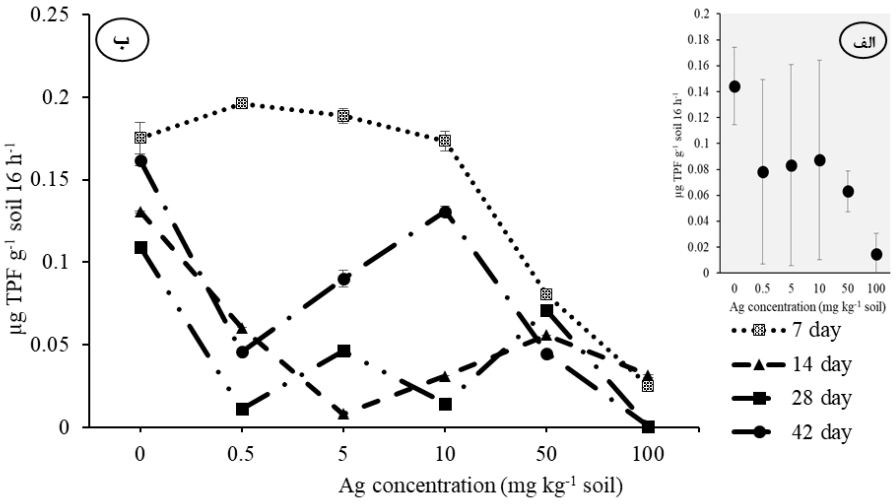
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی غلظت AgNPs و زمان و همچنین اثر متقابل این دو فاکتور بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). شکل ۲ نشان‌دهنده اثر اصلی غلظت نانوذره نقره و اثر متقابل غلظت نانوذره نقره و زمان‌بر فعالیت آنزیم اوره‌آز خاک است. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت AgNPs فعالیت آنزیم اوره‌آز به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. حضور ۰/۵، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذره نقره به ترتیب موجب کاهش ۷/۱، ۱۳، ۱۲/۳، ۳۵/۵ و ۳۶/۵ درصدی فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک شد (شکل ۲-الف). به‌طورکلی در تمام تیمارها باگذشت زمان مقدار فعالیت آنزیم اوره‌آز به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بااین‌حال با افزایش غلظت نانوذره نقره افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در طی زمان کمتر بود. برای مثال در غلظت ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانو نقره پس از طی ۴۲ روز ۶۰/۳ درصد درحالی‌که در غلظت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نانوذره نقره ۴۰/۸ درصد افزایش در فعالیت آنزیم اوره‌آز مشاهده شد (شکل ۲-ب).

6 Polyvinylpyrrolidone



شکل ۲- الف: اثر اصلی غلظت‌های مختلف AgNPs بر فعالیت آنزیم اوره‌آز ب: تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز تحت تأثیر غلظت‌های AgNPs باگذشت زمان

شکل ۳ نشان‌دهنده اثر اصلی غلظت AgNPs و اثر متقابل غلظت AgNPs و زمان‌بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز خاک است. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت AgNPs فعالیت آنزیم دهیدروژناز به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. حضور ۰/۵، ۵، ۱۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم AgNPs به ترتیب موجب کاهش ۴۵/۷، ۴۲/۳، ۳۹/۴، ۵۶/۳ و ۸۹/۱ درصد فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک شد (شکل ۳-الف). به‌طورکلی در تمام تیمارها باگذشت زمان مقدار فعالیت آنزیم دهیدروژناز کاهش پیدا کرد که در تضاد با نتایج مشاهده‌شده برای فعالیت آنزیم اوره‌آز بود (شکل ۳-ب، شکل ۴). نتایج نشان داد که تأثیر منفی نانوذره نقره بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز در کوتاه‌مدت بیشتر از آنزیم اوره‌آز می‌باشد. ازآنجایی‌که دهیدروژناز یک آنزیم درون‌سلولی است و ارتباط مستقیم با فعالیت ریز جانداران خاک دارد می‌توان نتیجه گرفت به دلیل ماهیت ضد باکتریایی AgNPs فعالیت این آنزیم بیشتر از آنزیم برون سلولی اوره‌آز تحت تأثیر سمیت AgNPs قرارگرفته است.



شکل ۲- الف: اثر اصلی غلظت‌های مختلف AgNP بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز ب: تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز تحت تأثیر غلظت‌های AgNP باگذشت زمان

اثر بازدارندگی AgNPs بر ویژگی‌های زیستی خاک شامل تنفس میکروبی، فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، دهیدروژناز و بتاگلوکسیداز، نیتریفیکاسیون، ترکیب جامعه میکروبی، تجزیه مواد آلی توسط Samarajeewa و همکاران (۲۰۱۷) گزارش‌شده است.Shin و همکاران (۲۰۱۲)، با بررسی تأثیر AgNPs بر روی ۶ آنزیم اوره‌آز، اسید فسفاتاز، آریل سولفاتاز، بتا-گلوکسیداز، دهیدروژناز، فلوئورسین دی استات هیدرولاز گزارش کردند که AgNPs از فعالیت همه آنزیم‌های نام‌برده جلوگیری کرد که دراین‌بین AgNPs بر روی فعالیت اوره‌آز و دهیدروژناز نسبت به سایر آنزیم‌های موردمطالعه تأثیر بیشتری داشت. McGee و همکاران (۲۰۱۷) نیز با بررسی تأثیر AgNPs در خاک

گزارش کردند که این ماده سبب کاهش فعالیت اوره‌آز و دهیدروژناز تنها ۳۰ روز پس از شروع انکوباسیون می‌شود که مطابق با نتایج این پژوهش بود. این بازدارندگی ممکن است ناشی از اثر متقابل یون Ag^{+} آزادشده از نانو ذرات با گروه‌های تیول آنزیم‌ها باشد (Liau و همکاران، ۱۹۹۷). اگرچه تحقیقات جدید نشان می‌دهد که تعامل مستقیم AgNPs با آنزیم دلیل اصلی این عمل می‌باشد. برای مثال Rahmatpour و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که پیوند قوی AgNPs با بستره تریپتوفاناز سبب کاهش قابل‌ملاحظه فعالیت آنزیمی در خاک می‌شود. این کاهش فعالیت آنزیمی احتمالاً به دلیل تغییر در ترکیب و یا اشغال جایگاه فعال آنزیم‌ها توسط AgNPs است. ازآنجایی‌که آنزیم اوره‌آز و دهیدروژناز به ترتیب در چرخه نیتروژن و تجزیه ماده آلی نقش دارند تغییر در فعالیت این دو آنزیم فراهمی عناصر غذایی برای گیاه و دیگر ریز جانداران خاک را تحت تأثیر خود قرار می‌دهد.

نتیجه‌گیری:

این پژوهش نشان داد که AgNPs اثر بازدارندگی بر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و دهیدروژناز خاک دارد اما واکنش آنزیم‌های مختلف در طی زمان به AgNPs یکسان نبود. با توجه به این که در یک‌زمان طولانی احتمال تغییر در دسترسی زیستی و سازگاری جمعیت میکروبی خاک با نقره وجود دارد همچنان نیاز به بررسی تأثیر طولانی‌مدت AgNPs بر فعالیت‌های میکروبی خاک احساس می‌شود تا بتوان درک بهتری از تأثیر این ماده در خصوصیات زیستی خاک داشت.

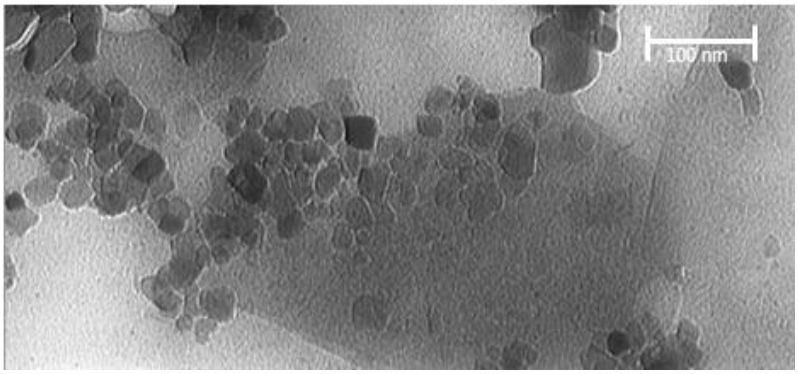
جدول ۱. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک موردمطالعه

بافت خاک	شن (در صد)	سیلت (در صد)	رس (در صد)	CEC ($Cmol^{+}\ kg^{-1}$ soil)	پ.هاش	کربنات کلسیم معادل (در صد)	ماده آلی (در صد)
لومی رسی	۳۳/۱۲	۳۸/۱۶	۲۸/۷۲	۸/۶۹	۷/۷۱	۱۴/۵	۰/۲۷۳

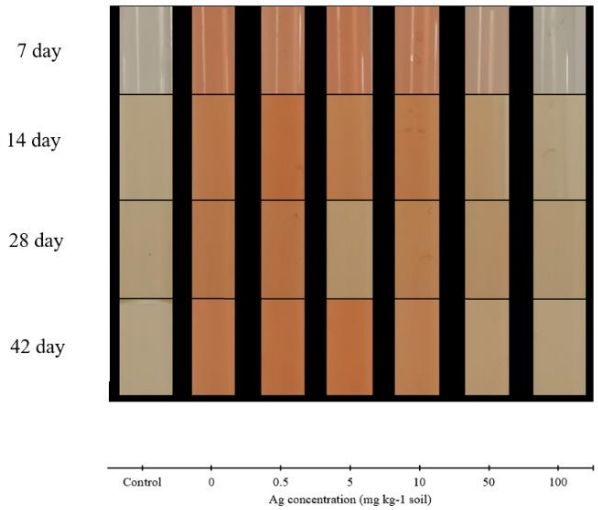
جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس غلظت‌های مختلف AgNP بر مقدار متوسط فعالیت آنزیم در طی دوره آزمایش

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فعالیت اوره‌آز	فعالیت دهیدروژناز
غلظت AgNP	۵	۱۳۱۸/۳۰۲*	۰/۱۸۸۹۱۱۰*
زمان	۳	۲۱۱۱/۳۸۱*	۰/۳۰۹۷۰۱۷*
غلظت AgNP ✻زمان	۱۵	۲۸۰/۳۵۳*	۰/۰۴۵۸۷۱۱*
خطای آزمایشی	۴۸	۲/۳۶۶	۰/۰۰۰۰۹۸

*: معنی‌دار در سطح یک درصد



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ الکترونی (TEM) AgNP



شکل ۴- تغییر رنگ حاصل از تبدیل تری‌فنیل‌تترازولیوم کلرید (TTC) به تری‌فنیل‌فورمازان (TPF) تحت تأثیر فعالیت آنزیم دهیدروژناز در طی دوره انکوباسیون در تیمارهای مختلف AgNPs

منابع

Acosta-Martinez, V., Cano, A. and Johnson, J. 2018. Simultaneous determination of multiple soil enzyme activities for soil health-biogeochemical indices. Applied soil ecology, 126**,** 121-128.

Anjum, N. A., Gill, S. S., Duarte, A. C., Pereira, E. and Ahmad ,I. 2013. Silver nanoparticles in soil–plant systems. Journal of nanoparticle research, 15**,** 1896.

Buzea, C., Pacheco, I. I. and Robbie, K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. Biointerphases, 2**,** MR17-MR71.

Cho, K.-H., Park, J.-E., Osaka, T. and Park, S.-G. 2005. The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient. Electrochimica Acta, 51**,** 956-960.

John, R., Itah, A., Essien, J. and Ikpe, D. 2011. Fate of nitrogen-fixing bacteria in crude oil contaminated wetland ultisol. Bulletin of environmental contamination and toxicology, 87**,** 343.

Liau, S., Read, D., Pugh, W., Furr, J. and Russell, A. 1997. Interaction of silver nitrate with readily identifiable groups: relationship to the antibacterialaction of silver ions. Letters in applied microbiology, 25**,** 279-283.

McGee, C., Storey, S., Clipson, N. and Doyle, E. 2017. Soil microbial community responses to contamination with silver, aluminium oxide and silicon dioxide nanoparticles. Ecotoxicology, 26**,** 449-4.۵۸

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. Environmental toxicology and chemistry, 33**,** 115-125.

Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R. and Gardea-Torresdey, J. L. 2011. Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. Journal of agricultural and food chemistry, 59**,** 3485-3498.

Rousk, J., Frey, S. D. and Bååth ,E. 2012. Temperature adaptation of bacterial communities in experimentally warmed forest soils. Global Change Biology, 18**,** 3252-3258.

Samarajeewa, A., Velicogna, J., Princz, J., Subasinghe, R., Scroggins, R. and Beaudette, L. 2017. Effect of silver nano-particles on soil microbial growth, activity and community diversity in a sandy loam soil. Environmental pollution, 220**,** 504-513.

Shin, Y.-J., Kwak, J. I. and An, Y.-J. 2012. Evidence for the inhibitory effects of silver nanoparticles on the activities of soil exoenzymes. Chemosphere, 88**,** 524-529.

Tabatabai, M. and Bremner, J. 1972. Assay of urease activity in soils. Soil Biology and biochemistry, 4**,** 479-487.

Thalmann, A. 1966. The determination of the dehydrogenase activity in soil by means of TTC (triphenyltetrazolium). Soil Biol, 6**,** 46-49.

Velicogna, J. R., Ritchie, E. E., Scroggins, R. P. and Princz, J. I. 2016. A comparison of the effects of silver nanoparticles and silver nitrate on a suite of soil dwelling organisms in two field soils. Nanotoxicology, 10**,** 1144-1151.

Wigginton, N. S., Titta, A. d., Piccapietra, F., Dobias, J., Nesatyy, V. J., Suter, M. J. and Bernier-Latmani, R. 2010. Binding of silver nanoparticles to bacterial proteins depends on surface modifications and inhibits enzymatic activity. Environmental science & technology, 44**,** 2163-2168.

Topic for submission: Soil and Water Pollution and Crop Health

Effects of silver nanoparticles on Activity of dehydrogenase and urease enzymes

Balandeh[*1], S., lakzian[2], A., javadmanesh[3], A.

[1] M. Sc. Student, Soil Science Department, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[2] professor, Soil Science Department, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad, Iran
[3] Assistant Prof., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

Today Due to the general application of silver nanoparticles in industry and medicine, this substance is considered as an emerging pollutant. Because of the antibacterial properties of silver, it is expected that this substance will affect the soil microbial population after entering into the soil. Therefore, this study aimed to investigate the effect of silver nanoparticle on soil enzyme activity. This experiment was conducted in a completely randomized design with factorial arrangement with three replications in incubation conditions. The experimental treatments included 5 levels of silver (5.0, 5, 10, 50, 100 mg kg $^{-1}$ soil) and four time periods (7, 14, 28 and 42 days). The results showed that the effect of silver nanoparticle application on the activity of dehydrogenase and urease enzymes was significant ($p > 0.001$). By increasing the nano-silver level, the activity of dehydrogenase and urease enzymes was significantly decreased. The lowest enzyme activity was observed in the treatment of 100 mg kg^{-1}nano-silver and the highest in the control treatment. The results showed that in all treatments, urease enzyme activity increased all the time, while the activity of the dehydrogenase enzyme was reduced. The results of this study showed that silver nanoparticles can negatively affect the enzymes involved in the nitrogen and carbon cycle.

Keywords: Microbial activity, Antibacterial activity, Biotoxicity

* Corresponding author, Email: sa.balandeh@mail.um.ac.ir