J. of Nuclear Sci. and Tech.
No. 51, pp. 52-57, 2010

مجله علوم و فنون هسته‌ای
شماره ۵۱، صفحات ۵۷-۵۲، ۱۳۸۹

Short Paper
مقاله کوتاه

تأثیر غلظت‌های مختلف اورانیم (^{238}U) بر جمعیت‌های میکروبی و فعالیت آنزیمی خاک

سعید باقریفام*[1]، امیر لکزیان[1]، سیدجواد احمدی[2]، امیر فتوت[1]، محمدفرهاد رحیمی[1]
۱- دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی علوم خاک، صندوق پستی: ۱۱۶۳، مشهد ـ ایران
۲- پژوهشکده چرخه سوخت هسته‌ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، سازمان انرژی اتمی ایران، صندوق پستی: ۸۴۸۶-۱۱۳۶۵، تهران ـ ایران

چکیده: اورانیم یکی از مؤلفه‌های همه‌جا حاضر محیط زیست با غلظت متوسط ۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد. معمولاً غلظت آن به علت فعالیت‌های انسانی در بعضی مناطق زمین به بالاتر از حد مجاز رسیده و این امر سبب آلودگی خاک‌ها و آب‌های زیرزمینی گردیده است. به منظور بررسی تأثیر مقدار اورانیم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز و جمعیت‌های میکروبی خاک، مطالعه‌ای در قالب طرح کاملاً کاتوره‌ای به صورت فاکتوریل با شش غلظت مختلف اورانیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک) با سه تکرار در شرایط ثابت انکوباسیون انجام شد. نتایج حاصل نشان داد که غلظت‌های مختلف اورانیم باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم فسفاتاز در طول زمان آزمایش شد. هم‌چنین با افزایش مقدار اورانیم در خاک، جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومیسیت‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. بنابراین مطالعه‌ی تغییرات جمعیت موجودات میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی می‌تواند به عنوان شاخص‌های سودمند در مدیریت خاک‌های آلوده به اورانیم و سایر مواد پرتوزا حایز اهمیت باشد.

***واژه‌های کلیدی:** اورانیم، جمعیت میکروبی خاک، فعالیت آنزیم فسفاتاز*

The Effects of Different Uranium Concentrations on Soil Microbial Populations and Enzymatic Activities

S. Bagherifam*[1], A. Lakziyan[1], S.J. Ahmadi[2], A. Fotovvat[1], M.F. Rahimi[1]
1- Department of Soil Science Engineering, Faculty of Agricultur, Ferdowsi University of Mashhad, P.O.Box: 1163, Mashhad – Iran
2- Nuclear Fuel Cycle Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, AEOI, P.O.Box: 11365-8486, Tehran – Iran

Abstract: Uranium is an ubiquitous constituent of natural environment with an average concentration of 4mg/kg in earth crust. However, in local areas it may exceed the normal concentration due to human activities resulting in radionuclide contamination in groundwater and surface soil. The effect of six levels of uranium concentration (0, 50, 100, 250, 500 and 1000mg kg^{-1}) on soil phosphatase activities and microbial populations were studied in a completely randomized design as a factorial experiment with three replications. The results showed a significant decrease in phosphatase activity. The result of the experiment suggests that soil microbial populations (bacteria, funji and actinomysetes) decrease by increasing the uranium levels in the soil. Therefore, assessment of soil enzymatic activities and microbial populations can be helpful as a useful index for a better management of uranium and radioactive contaminated soils.

***Keywords:** Uranium, Soil Microbial Populations, Enzime Phosphatase Activity*

*email: saeed_bagherifam@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۴/۱۴

۱- مقدمه

اورانیم در طول ۲۰۰ سال گذشته برای استفاده از رنگ زرد آن در صنعت طلاسازی و کوزه‌گری و هم‌چنین به عنوان کاتالیزور در فرایندهای شیمیایی به کار رفته است. از زمان رها شدن هزاران تن اورانیم در محیط زیست در طول جنگ‌های عراق و کوزوو، توجه جهانی به خطرات ناشی از آلودگی‌های اورانیمی افزایش یافته است. در اثر گسترش صنایع هسته‌ای، مراحل مختلف چرخه‌ی سوخت هسته‌ای، فعالیت‌های معدن‌کاری اورانیم و آزمایش تسلیحات هسته‌ای، خاک‌ها با مقادیر مختلف اورانیم آلوده شده‌اند و می‌شوند [۱ و ۲]. با افزایش آگاهی در مورد اهمیت خاک به عنوان یکی از اجزای مهم زیست کره، پژوهش‌های زیادی برای برآورد کیفیت منابع خاک انجام می‌شود. خاک نه تنها نقش اساسی در تولید غذا و پوشاک دارد بلکه بر کیفیت محیط زیست نیز اثر می‌گذارد. بنابراین ارزیابی کیفی و تعریف کیفیت خاک حایز اهمیت است [۳]. بخش زنده‌ی خاک جزء مهمی از کیفیت خاک است و عامل تسریع‌کننده‌ی واکنش‌هایی است که در چرخه‌ی غذایی رخ می‌دهد. بنابراین برآورد شاخص‌های زیستی خاک به تعریف کیفیت خاک کمک می‌کند. فعالیت‌های آنزیمی می‌توانند به عنوان نمایه‌ای از سلامت و حاصل‌خیزی خاک باشند [۴]. آنزیم‌ها مولکول‌های پروتئینی هستند که پس از اتصال به پیش ماده آن را به یک یا تعدادی محصول تبدیل می‌کنند [۵]. آنزیم‌های موجود در خاک همانند آنزیم‌های سایر سیستم‌ها هستند که در آن‌ها سرعت واکنش به طور محسوسی بستگی به pH، قدرت یونی، دما و حضور یا عدم حضور عوامل بازدارنده دارد [۶]. مهم‌ترین و ارزشمندترین کاربرد آنزیم‌ها در خاک، ارزیابی مواد وارد شده به خاک و سلامت نسبی خاک می‌باشد. مطالعات مختلفی انجام پذیرفته تا تغییرات آنزیمی خاک را که به وسیله باران‌های اسیدی، فلزات سنگین، آفت کش‌ها و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در صنعت و کشاورزی ایجاد می‌شوند مشخص سازند. فلزات سنگین اثرات ماندگار بازدارنده بر فعالیت‌های میکروبی خاک دارند [۴ و ۷]. کاهش فعالیت موجودات میکروبی نتیجه‌ی بارز فراهمی فلزات سنگین است که به دنبال آن فعالیت آنزیمی به ویژه آنزیم‌های برون یاخته‌ای کاهش می‌یابد [۸].

آنزیم فسفاتاز یکی از آنزیم‌های خاک می‌باشد که در مطالعات مختلف به عنوان یکی از شاخص‌های مناسب سنجش کیفیت خاک در نظر گرفته شده است. در خاک، فسفر عمدتاً به شکل آلی است. در یک خاک سطحی سهم فسفر آلی بین ۱۵-۸۰ درصد از فسفر کل آن می‌باشد. غلظت بسیار کم فسفر در خاک و نیاز به تجدید دوباره موجب می‌شود که فسفر مواد آلی خاک تبدیل به فسفر معدنی شود که در این میان نقش میکروب‌ها و ترشح آنزیم فسفاتاز توسط آن‌ها را نمی‌توان از نظر دور داشت. فسفاتاز میکروبی به وسیله‌ی بیش‌تر ارگانوتروف‌های میکروفلور خاک تولید می‌شود [۹]. هم‌چنان که در منابع اشاره شده، به دلیل مشابهت شیمیایی اورانیم و فسفر این عنصر می‌تواند بر روی چرخه‌ی فسفر در خاک تأثیر داشته باشد [۱۰]. معدنی شدن رشد و فعالیت‌های زیست‌شیمیایی موجودات میکروبی خاک به وسیله‌ی اثرات مخرب فعالیت انسانی از قبیل پراکنده شدن آلاینده‌های شیمیایی در محیط تغییر می‌یابد [۲]. موجودات میکروبی خاک، بخش زنده‌ی خاک را شامل می‌شوند که معمولاً کم‌تر از ۱٪ حجم خاک را تشکیل می‌دهد در حالی که تعداد آن‌ها بسیار زیاد است. با وجود اشغال حجم کمی از خاک عملکرد آن‌ها برای خاک و اکوسیستم بسیار مهم می‌باشد. تحرک و عدم تحرک مواد معدنی و فلزات سنگین در خاک نیز نتیجه‌ای از فعالیت‌های میکروبی است. تعداد و فعالیت موجودات میکروبی خاک بستگی به رشد گیاه، نوع خاک، تیمار خاک، شخم‌زنی و اقلیم هر منطقه دارد. میکروفلور خاک ترکیبی از گروه‌های مختلف جانداران شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، آلگ‌ها، اکتینومیسیت‌ها و غیره است [۲]. در این تحقیق، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اورانیم بر روی جمعیت باکتری‌ها، اکتینومیسیت‌ها و قارچ‌ها در پایان دوره‌ی آزمایش انجام پذیرفت.

با گسترش و بومی شدن صنایع هسته‌ای در کشور، خطرات ناشی از آلودگی‌های اورانیمی افزایش یافته است. تاکنون در کشور ما مطالعه‌ای در مورد تأثیر اورانیم بر خاک صورت نپذیرفته است. این مطالعات می‌تواند نمایه‌ی خوبی را برای مشخص کردن اثرات این عنصر مهم بر خاک به عنوان یک رکن اساسی در محیط زیست فراهم سازد. مطالعه‌ی حاضر برای اولین بار در کشور و با هدف پی بردن به نحوه‌ی تأثیر اورانیم بر فعالیت‌های میکروبی و آنزیمی خاک به عنوان نمایه‌ای از سلامت خاک و دست‌یابی به حدود سمیت اورانیم در خاک صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ آلوده‌سازی خاک با اورانیم

خاک مورد استفاده در این تحقیق از محل پردیس دانشگاه فردوسی مشهد و از عمق ۰-۱۰cm جمع‌آوری شد. نمونه‌های خاک در جریان هوا خشک شده و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. این عمل به صورت کاملاً کاتوره‌ای با سه تکرار برای هر تیمار در قالب فاکتوریل انجام شد. به منظور آلوده کردن نمونه‌ی خاک با غلظت‌های مختلف اورانیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک) مقادیر مناسب از نمک اورانیم نیترات در آب مقطر لازم حل، و سپس به نمونه‌های خاک اضافه گردید. پس از اضافه کردن هر یک از غلظت‌های فوق مقدار رطوبت نمونه‌های خاک در ۷۰٪ ظرفیت زراعی[1] تنظیم شد. به منظور تهیه‌ی نمونه‌های یکنواخت خاک و با توجه به سمی بودن اورانیم، خاک‌ها در ظروف پلاستیکی دربدار قرار داده شده و با غلظت‌های مورد نظر، محلول‌پاشی و کاملاً مخلوط شدند. سپس ظروف پلاستیکی با مقدار ۱۰۰ گرم از نمونه‌های خاک آلوده پر شده، به مدت ۲ هفته در دمای ۲۸ درجه‌ی سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. در زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ روز از تیمارهای مختلف نمونه‌برداری و مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در نمونه‌ها تعیین شد. جمعیت موجودات میکروبی در پایان دوره‌ی آزمایش شمارش شد.

۲-۲ تجزیه‌ی خاک

مقدار نیتروژن کل خاک به روش کجلدال اندازه‌گیری شد [۱۱]. هدایت الکتریکی توسط دستگاه هدایت‌سنج مدل Jenway 4310 و pH به وسیله‌ی pH متر مدل Metrohm 632 در نسبت خاک به آب ۱:۵ اندازه‌گیری گردید. فسفر قابل دسترسی به روش اولسن [۱۲] اندازه‌گیری شد. مقدار پتاسیم قابل دسترس نمونه‌های خاک با استفاده از استات آمونیم یک نرمال عصاره‌گیری و توسط فوتومتر شعله‌ای مدل Jenway PFP 7 اندازه‌گیری شدند [۱۳]. کربن آلی به روش اکسایش با دی‌کرومات اندازه‌گیری شد [۱۴]. برای اندازه‌گیری مقدار جذب از اسپکتروفوتومتر فرابنفش مدل S2000 استفاده گردید. بافت خاک به روش هیدرومتری تعیین شد.

۲-۳ اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فسفاتاز به ۱ گرم از نمونه‌های خاک ۴ میلی‌لیتر از بافر عمومی[2] با pH=۶٫۵ افزوده شد [۱۵]. ۱ میلی‌لیتر از محلول پارانیتروفنیل فسفات ۰٫۱۱۵ مولار (نمک دی‌سدیم هگزا هیدرات) و ۰٫۲۵ میلی‌لیتر تولوئن به محیط اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار داده شدند. پس از صاف شدن محلول توسط کاغذ صافی واتمن ۴۲ و اضافه نمودن ۴ میلی‌لیتر سدیم هیدروکسید و ۱ میلی‌لیتر کلسیم کلرید ۰٫۵ مولار به آن با تندی ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد تا مواد معلق به طور کامل ته‌نشین، و نمونه‌ها برای اندازه‌گیری نگه‌داری شدند [۱۵]. مقدار جذب نور نمونه‌ها در طول موج ۴۱۰ نانومتر به روش اسپکتروفوتومتری تعیین شد و به صورت میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک محاسبه گردید.

۲-۴ اندازه‌گیری جمعیت میکروبی

برای اندازه‌گیری جمعیت میکروبی خاک‌های آلوده به اورانیم، از روش گسترش روی- آگار استفاده شد. برای باکتری‌ها از محیط کشت مغذی آگار[3] با pH=۷، برای شمارش قارچ‌ها از محیط کشت سزاپکس- دوکس- آگار[4] با ترکیب سوکروز، نیترات نمک‌های معدنی و آگار با pH=۷٫۳ استفاده شد. به عنوان ماده آنتی‌باکتریال از رزبنگال[5] به مقدار ۰٫۰۳۵ گرم برلیتر محیط کشت استفاده شده است. برای اکتینومایسیت‌ها محیط کشت RBME با ترکیب عصاره‌ی مالت، K_2HPO_4، رزبنگال و آگار با pH=۶ به کار گرفته شد [۱۵]. پس از ایجاد ردیف‌های رقت مقدار ۵۰۰µl از رقت‌های 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6} و 10^{-7} در محیط کشت قرار گرفت و جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومایسیت‌ها، به ترتیب، پس از ۱، ۷ و ۱۴ روز شمارش شدند.

۲-۵ تجزیه‌ی آماری

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقایسه‌ی میانگین داده‌های آزمایشی با یک‌دیگر، با آزمون LSD[6] در سطح اطمینان ۵ درصد انجام شد. برای ترسیم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمایش‌های خاک نشان داد که بافت خاک مورد آزمایش، شنی لومی، pH آن ۷٫۲ و هدایت هیدرولیکی آن ۲٫۱ دسی‌زیمنس برمتر و مقادیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم آن نیز، به ترتیب، ۶۱۳، ۸۶٫۴۲ و ۸۲٫۲۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک بود.

۳-۱ تأثیر غلظت‌های مختلف اورانیم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز خاک

بررسی تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمارهای مختلف اورانیم در طول آزمایش نشان داد که روند تغییرات در سطح شاهد و سطح ۵۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک در طول آزمایش تقریباً ثابت است (جدول ۱). در تیمار شاهد میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز تا زمان ۴۰ روز قدری افزایش نشان داد و سپس تا پایان آزمایش در یک سطح تقریباً ثابت باقی ماند. در تیمار ۵۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک نیز همانند سطح شاهد میزان فعالیت در طول زمان آزمایش پس از یک افزایش در شروع آزمایش در سایر زمان‌ها تقریباً ثابت ماند. فعالیت بیشینه در این تیمار در زمان ۲۰ روز و برابر ۲۴۳٫۹۹ و کمینه‌ی آن در زمان ۶۰ روز و برابر ۲۳۷٫۴۶ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک بود. شروع روند کاهشی تأثیر اورانیم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز را از سطح ۱۰۰ میلی‌گرم اورانیم برکیلوگرم خاک مشاهده می‌کنیم. در تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک فعالیت بیشینه در شروع آزمایش و برابر ۲۶۶٫۹۱ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک و کمینه‌ی آن در زمان ۶۰ روز و برابر ۱۹۰٫۱۸ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک بود. در طول آزمایش میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز در این تیمار کاهش پیدا کرد. در پایان آزمایش فعالیت آنزیم فسفاتاز در این تیمار نسبت به زمان شروع آزمایش حدوداً ۲۸٪ کاهش نشان داد. فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک همانند تیمارهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اورانیم روند کاهشی نشان داد چنان که میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز در این تیمار از ۲۴۸٫۴۷ در شروع آزمایش به ۱۷۱ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک در مدت ۶۰ روز تغییر یافت. در این سطح، مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در زمان ۶۰ روز نسبت به شروع آزمایش حدود ۳۱٪ کاهش نشان داد. در تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اورانیم مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در طول زمان آزمایش از ۲۵۷٫۴۷ به ۱۴۱٫۴۸ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک کاهش یافت. بیش‌ترین میزان کاهش در این تیمار نیز همانند سایر تیمارهای اورانیم در فاصله‌ی زمانی ۲۰ تا ۴۰ روز صورت پذیرفت به طوری که در این بازه‌ی زمانی مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز از ۲۲۵٫۳۰ به ۱۶۶٫۵۷ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک یعنی حدود ۳۰٪ کاهش یافت. در مدت ۶۰ روز، مقدار فعالیت این آنزیم در این تیمار نسبت به زمان شروع آزمایش در حدود ۴۵٪ کاهش یافت. بیش‌ترین شیب کاهش در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک مشاهده شد. در این تیمار مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در مدت ۶۰ روز از ۲۶۷٫۳۶ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک در شروع آزمایش به ۹۵٫۷۴ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک تغییر یافت. همانند تیمار ۵۰۰ میلی‌گرم اورانیم خاک بر کیلوگرم بیش‌ترین تغییرات در بازه‌ی زمانی ۲۰ تا ۴۰ روز رخ داد. مقدار فعالیت آنزیم فسفاتاز در این بازه ۳۶ درصد کاهش یافت. در گستره‌ی زمانی ۴۰ تا ۶۰ روز نیز تغییرات بسیار زیاد بود و مقدار فعالیت این آنزیم حدود ۳۰ درصد کاهش یافت. کم‌ترین مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم اورانیم در مدت ۶۰ روز و برابر ۹۵٫۷۴ میکروگرم پارانیتروفنل بر گرم خاک خشک بود که در حدود ۶۵ درصد نسبت به شروع آزمایش کاهش یافته بود. به نظر می‌رسد غلظت فوق فعالیت آنزیم فسفاتاز در خاک را به کلی مختل می‌سازد. در تنها مطالعه‌ی انجام شده در مورد تأثیر اورانیم بر فعالیت‌های آنزیمی خاک‌هایی با ویژگی‌های متفاوت، در غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک فعالیت آنزیم فسفاتاز در بعضی از خاک‌ها تا ۲۵ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش نشان داد، در حالی که در برخی دیگر هیچ تفاوت معنی‌داری ایجاد نشد. در مطالعه‌ی فوق نیز شروع تأثیر سمیت اورانیم از غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک شروع شد. با توجه به نتایج مشاهده شده در این مطالعه و مطالعه‌ی شپرد و همکارانش [۱۰] به نظر می‌رسد تغییرات فعالیت این آنزیم تا حد زیادی بستگی به خصوصیات خاک مورد مطالعه از قبیل اسیدیته، کربن آلی، عناصر غذایی، بافت و میزان رطوبت خاک دارد.

جدول ۱- تغییرات فعالیت آنزیم فسفاتاز در تیمارهای مختلف اورانیم در طول آزمایش.

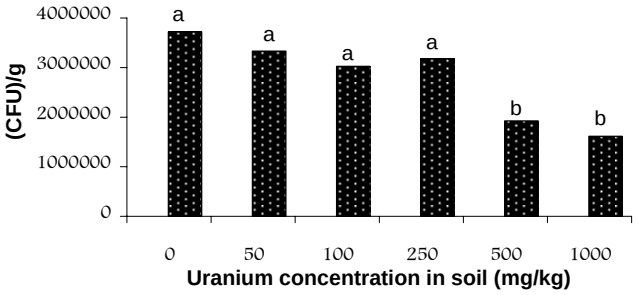
زمان انکوباسیون (روز)					
اورانیم در خاک (mg/kg)	شروع آزمایش	۱۰	۲۰	۴۰	۶۰
۰	۲۳۲٫۵۳ a	۲۴۴٫۳۴ a	۲۴۴٫۷۸ a	۲۵۹٫۰۶ a	۲۵۸٫۰۳ a
۵۰	۲۴۰٫۸ a	۲۴۰٫۸ a	۲۴۳٫۹۹ a	۲۴۳٫۳ a	۲۳۷٫۴۶ a
۱۰۰	۲۶۶٫۹۱ a	۲۴۱٫۹ a	۲۳۰٫۹۸ a	۱۹۴٫۶۱ b	۱۹۰٫۱۸ b
۲۵۰	۲۴۸٫۴۷ a	۲۳۷٫۹۷ a	۲۳۳٫۵۳ a	۱۸۵٫۷۵ bc	۱۷۱ c
۵۰۰	۲۵۷٫۴۷ a	۲۲۹٫۵ b	۲۲۵٫۳ bc	۱۶۶٫۵۷ c	۱۴۱٫۴۸ d
۱۰۰۰	۲۶۷٫۳۶ a	۲۲۰٫۶۷ b	۲۱۶٫۷۴ b	۱۳۷٫۰۵ c	۹۵٫۷۴ d

۳-۲ تأثیر غلظت‌های مختلف اورانیم بر جمعیت‌های میکروبی خاک

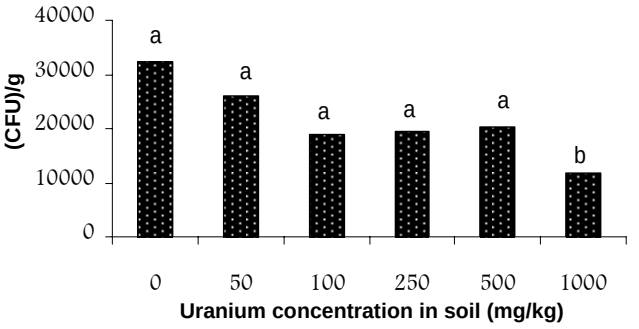
به طور کلی با افزایش غلظت اورانیم در خاک مورد مطالعه در تمام غلظت‌ها جمعیت باکتری‌ها کاهش یافت. اما تنها در غلظت ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک این کاهش معنی‌دار بود. با افزایش غلظت اورانیم از سطح شاهد تا سطح ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک تعداد باکتری‌ها از $۳٫۷\times۱۰^{۶}$ تا $۱٫۶\times۱۰^{۶}$CFU[۷] بر گرم خاک خشک تغییر یافت (شکل ۱). تعداد باکتری‌ها در تیمار ۱۰۰۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک، به ترتیب، ۵۶ و ۴۸ درصد نسبت به سطح شاهد کاهش پیدا کرد که اختلاف مشاهده شده نسبت به شاهد به لحاظ آماری معنی‌دار بود.

جمعیت قارچ‌ها از $۳٫۳\times۱۰^{۴}$ CFU بر گرم خاک خشک در تیمار شاهد به $۱٫۱\times۱۰^{۴}$CFU بر گرم خاک خشک در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم تغییر کرد (شکل ۲). تنها در بالاترین تیمار استفاده شده یعنی ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک بین جمعیت قارچ‌ها و تیمار شاهد تفاوت مشاهده شد که در این حالت تعداد قارچ‌ها $۱٫۱\times۱۰^{۴}$CFU بر گرم خاک خشک بود که نسبت به سطح شاهد حدوداً ۶۵٪ کاهش یافت. به نظر می‌رسد قارچ‌ها به دلیل تولید اسپور که در مقابل عوامل مختلفی چون تابش مقاوم است از غلظت‌های مختلف اورانیم کم‌تر تأثیر می‌پذیرد.

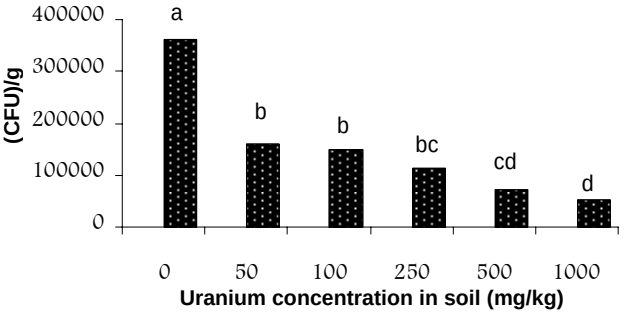
بیش‌ترین تغییرات با افزایش غلظت اورانیم، در اکتینومایسیت‌ها مشاهده گردید؛ جمعیت آن‌ها از $۳٫۶\times۱۰^{۵}$CFU بر گرم خاک خشک در تیمار شاهد به $۵٫۳\times۱۰^{۴}$CFU بر گرم خاک در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک تغییر یافت (شکل ۳). با افزایش غلظت اورانیم در تمام تیمارها، جمعیت اکتینومایسیت‌ها کاهش یافت. در تیمار ۱۰۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک، جمعیت اکتینومایسیت‌ها نسبت به سطح شاهد حدود ۸۵٪ کاهش نشان داد. کاهش جمعیت موجودات میکروبی در اثر افزایش اورانیم خاک می‌تواند به سمیت شیمیایی ناشی از اورانیم و پرتوزایی آن مربوط باشد. به دنبال کاهش جمعیت‌های میکروبی فعالیت آنزیم‌های برون یاخته‌ای از قبیل آنزیم فسفاتاز کاهش می‌یابد [۸]. در تنها مطالعه‌ی انجام شده در مورد تأثیر اورانیم بر جمعیت‌های میکروبی خاک، جمعیت باکتری‌ها، قارچ‌ها و اکتینومایسیت‌ها با افزایش غلظت اورانیم تهی شده در خاک نسبت به سطح شاهد



شکل ۱- تغییرات جمعیت باکتری‌های خاک برحسب غلظت اورانیم در خاک.



شکل ۲- تغییرات جمعیت قارچ‌های خاک برحسب غلظت اورانیم در خاک.



شکل ۳- تغییرات جمعیت اکتینومیسیت‌های خاک برحسب غلظت اورانیم در خاک.

تغییر پیدا کرده‌اند [۲]. تفاوت مشاهده شده در این دو مطالعه می‌تواند به تفاوت در نوع اورانیم مورد استفاده، نوع خاک و تفاوت در نوع محیط کشت به کار برده شده در این دو آزمایش، مربوط باشد. در مطالعه‌ی لاماس، از اورانیم تهی شده و در این تحقیق از نمک اورانیم نیترات استفاده شد. هم‌چنین نوع خاک بررسی شده توسط لاماس متفاوت و دارای مقدار بیش‌تری ماده آلی نسبت به خاک استفاده شده در این پژوهش می‌باشد. علاوه بر موارد فوق جمعیت‌های میکروبی خاک به بسیاری از شرایط محیطی دیگر مانند اسیدیته و مقدار عناصر غذایی موجود در خاک واکنش نشان می‌دهند.

۴- نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که مطالعه‌ی فعالیت‌های آنزیمی و جمعیت‌های میکروبی می‌تواند به عنوان شاخصی از آلودگی خاک در بخش مدیریت پسماندهای هسته‌ای مورد استفاده قرار گیرد. نتایج حاصل نشان داد که فعالیت آنزیم فسفاتاز در غلظت‌های بالای ۱۰۰ میلی‌گرم اورانیم بر کیلوگرم خاک به طور معنی‌داری کاهش یافت. اگرچه جمعیت‌های میکروبی نیز نسبت به تغییرات غلظت اورانیم خاک تغییر پیدا کردند اما با توجه به نتایج به دست آمده، اندازه‌گیری فعالیت‌های آنزیمی برای ارزیابی دامنه‌ی سمیت اورانیم و اثر آن بر کیفیت و سلامت خاک، شاخص حساس‌تری نسبت به اندازه‌گیری جمعیت‌های میکروبی محسوب می‌شود.

پی‌نوشت‌ها:

۱- Filed Capacity

۲- Universal Buffer

۳- Nutrient Agar

۴- Czapex-Dox-Agar

۵- Rose Bengal

۶- LSD: Least Significunt Diference

۷- CFU: Counting Forming Unit

References:

1. J. Entray, N. Vance, M. Hamilton, M. Zabowask, D. Zabowask, L. Watrud, D. Adrino, “Phytoremediation of soil contaminated with low concentrations of radionuclides,” Water Air and Soil Pollution. 88, 167-172 (1996).

2. C.M.D. lamas, “Factors affecting the uranium availability in soils,” PhD Thesis. Fall Agricultural Research (2005).

3. R.P. Dick, “Soil enzyme activities as indicator of soil quality,” Spec. Pub, 35, Madison. WI, 107-124 (1994).

4. E. Hofmann, A. Seegrer, “Soil enzymes as measure of biological activity,” Soil Biology and Biochemistry, 321, 97-98 (1950).

5. M.A. Tabatabaei, J.M. Bremner, “Use of p-nitrophenylphosphate for assaying of soil phosphatase activity,” Soil biology and biochemistry, 1, 301-307 (1969).

6. F.J. Stevenson, “Cycles of soil carbon, nitrogen, phosphorus, sulfure, micronutrients:wiley inter science publication,” John wiley and sons: New York (1986).

7. S.P. Deng, M.A. Tabatabaei, “Cellulase activity of soils; effects of trace elements,” Soil Biology and Biochemistry, 27, 977-979 (1995).

8. A.K. Bandick, R.P. Dick, “Field management effects on soil enzyme activities on soil biological characteristics,” Agriculture, Ecosystem and Environment, 66, 241-249 (1999).

9. R.Q. Maguire, J.T. Sims, f.J. Coale, “Phosphorus solobility in biosolid-amended farm soils in the mid-atlantic region of the usa,” Journal of environmental quality, 29, 1225-1233 (2000).

10. S.C. Sheppard, W.G. Evnden, A.G. Anderson, “Multiple assays of uranium toxicity in soil,” Environmental Toxicology and Water quality, 7, 275-294 (1992).

11. B. Julius, “Practical organic chemistry,” Kjeldal method to measure nitrogen (1910).

12. L. Metzger, “The effect of sewage sludge on soil structure,” Soil Science Society of America Jurnal, 51, 346-351 (1987).

13. A. Klute, “Method of soil analysis part 1: Physical and Mineralogical methods, ASA,” Soil Science Society of America Madison. Wisconsin, USA (1986).

14. A. Walkli, I.A. black, “An examination of the degtareff method for determinating soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method,” Soil Science, 37: 29-38 (1934).

15. K. Alef, P. Nannipiery, “Methods in applied soil microbiology and biochemistry,” Academic Press. 124-200 (1995).