

The Effect of Nanoparticles and Silver Ions on the Concentration of Protein and Amino Acids in Soil Columns

Shirin Amiry and Banafshe Khalili^{1*} 

(Received: August 13-2024 ; Revised: October 13-2024 ; Accepted: December 7-2024)

1. Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

*: Corresponding author Email: bkhalili@iut.ac.ir

Abstract

Soils are continuously exposed to large amounts of engineered nanoparticles, particularly silver nanoparticles (AgNPs), which can affect soil microbial activities and nitrogen cycling. The hypotheses of the present study were: (i) vegetation types would differ in their responses to Ag types and concentrations, (ii) these responses would be linked to changes in soil protein and amino acid concentrations, and (iii) combined plant root systems alongside Ag types and concentrations would have offsetting effects on soil protein and amino acid concentrations. A greenhouse experiment was conducted to test these hypotheses using a factorial arrangement of treatments within a randomized block design. Two soil types with loamy sand and sandy loam textures were collected from agricultural fields in Isfahan, specifically from the Badroud (33° 44' 50" N, 51° 57' 55" E) and Femi (33° 42' 17" N, 51° 59' 58" E) regions. The treatments included: 1) soil types (loamy sand and sandy loam), 2) root systems (non-planted, wheat, and safflower), 3) Ag types (no Ag added, AgNPs, and AgNO₃), and 4) Ag concentrations (50 and 100 ppm). The plants were harvested 110 days after sowing, with soil samples collected from both the root zone and non-planted soil, after which the concentrations of protein and amino acids were measured. In the Badroud soil, protein concentration significantly decreased ($p < 0.05$) with increasing depth. Although depth changes did not show a significant difference in protein concentration in the soil under wheat cultivation, increasing depth resulted in a significant decrease ($p < 0.05$) in protein concentration in the soil under safflower cultivation. In the Fami soil, the addition of silver nitrate led to a significant ($p < 0.05$) increase in protein concentration, despite the fact that the addition of silver nanoparticles had no significant ($p < 0.05$) effect on soil protein concentration. In the Badroud soil, the highest concentration of soil amino acids was observed in the silver nitrate treatment, while the silver nanoparticle treatment did not significantly affect soil amino acid concentrations ($p < 0.05$). However, applying silver treatments at both tested concentrations resulted in a significant increase ($p < 0.05$) in soil amino acid levels. Overall, the effects of nanoparticles varied depending on the measured parameters (protein or amino acid), soil texture, and type of cultivation. Further studies are needed to determine the mechanisms by which AgNPs and AgNO₃ affect the soil nitrogen cycle in the presence of plants at different soil depths.

Keywords: Silver nanoparticles, Silver nitrate, Amino acid concentration, Protein concentration, Soil texture, Soil nitrogen pools

How to cite this article: Amiri, S. and Khalili, B. 2025. The Effect of Nanoparticles and Silver Ions on the Concentration of Protein and Amino Acids in Soil Columns. *J. Water and Soil Sci.* 29(1): 51-64. DOI: [10.47176/jwss.29.1.36562](https://doi.org/10.47176/jwss.29.1.36562)

Copyright © 2025 Amiry and Khalili. Published by Isfahan University of Technology.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

اثر نانوذرات و یون‌های نقره بر غلظت پروتئین‌ها و آمینواسیدها در ستون‌های خاک

شیرین امیری و بنفشه خلیلی^{*۱}

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۳؛ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۷/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۱۷)

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: bkhalili@iut.ac.ir

چکیده

خاک‌ها به طور مداوم در معرض نانوذرات به ویژه نانوذرات نقره قرار دارند که می‌تواند بر جمعیت میکروبی و چرخه نیتروژن خاک اثرگذار باشد. فرضیات این مطالعه عبارت‌اند از: (۱) نوع گیاه موجب تغییر در پاسخ گیاه به نوع و غلظت نانوذرات می‌شود، (۲) این پاسخ ممکن است منجر به تغییر در غلظت آمینواسیدها و پروتئین خاک شود و (۳) ترکیب اثرهای سیستم ریشه، نوع و غلظت نقره ممکن است اثرهای تعدیل‌کننده‌ای بر غلظت آمینواسیدها و پروتئین خاک در طول ستون خاک داشته باشد. این فرضیات در آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های تصادفی آزمون شد. نمونه برداری خاک از دو منطقه بادرود (33° 44' 50" N, 51° 57' 55" E) و فمی (33° 42' 17" N, 51° 59' 58" E) در استان اصفهان با دو بافت متفاوت (شن و لوم) در عمق ۰ تا ۴۰ سانتی متری انجام شد. تیمارها شامل: (۱) نوع خاک (شن لومی و لوم شنی)، (۲) سیستم ریشه‌ای (خاک بدون کشت، گندم و گلرنگ)، (۳) نوع نقره (تیمار بدون نقره، نانوذرات نقره و نیترات نقره) و (۴) غلظت نقره (۵۰ و ۱۰۰ ppm) است. گیاهان ۱۱۰ روز پس از کاشت برداشت و نمونه‌های خاک از ناحیه ریزوسفر و خاک بدون کشت جمع‌آوری و غلظت پروتئین و آمینواسیدهای خاک اندازه‌گیری شد. در خاک بادرود با افزایش عمق غلظت پروتئین خاک به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافت. اگرچه تغییرات عمق تفاوت معنی‌داری بر غلظت پروتئین در خاک زیر کشت گندم نشان نداد، اما افزایش عمق باعث کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) غلظت پروتئین در خاک تحت کشت گلرنگ شد. در خاک فمی، افزودن نیترات نقره منجر به افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) غلظت پروتئین شد. این در حالی است که افزودن نانوذرات نقره تأثیر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر غلظت پروتئین خاک نداشت. در خاک بادرود بیشترین غلظت آمینواسیدهای خاک در تیمار نیترات نقره دیده شد. تیمار نانوذرات نقره اثر معنی‌داری ($p < 0.05$) در غلظت آمینواسیدهای خاک نشان نداد، با این حال اعمال تیمار نقره در هر دو غلظت، افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) آمینواسیدهای خاک را به دنبال داشت. به طور کلی، اثر نانوذرات و یون‌های نقره بر غلظت پروتئین‌ها و آمینواسیدهای خاک برحسب بافت خاک و پوشش گیاهی متفاوت بود؛ بنابراین مطالعات بیشتری به منظور تعیین مکانیسم‌هایی که طی آن نانوذرات و نیترات نقره بر ذخایر و چرخه نیتروژن خاک در حضور گیاه در اعماق مختلف خاک تأثیر می‌گذارند، لازم است.

واژه‌های کلیدی: نانوذرات نقره، نیترات نقره، غلظت آمینواسیدها، غلظت پروتئین، بافت خاک، ذخایر نیتروژن خاک

حق انتشار این مستند، متعلق به دانشگاه صنعتی اصفهان است. © ۱۴۰۴.

این مقاله تحت گواهی زیر منتشر شده و هر نوع استفاده غیرتجاری از آن مشروط به استناد صحیح به مقاله و با رعایت

شرایط مندرج در آدرس زیر مجاز است: (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



مقدمه

مطالعات نانوتکنولوژی به ستنز، بررسی و کاربرد نانوذرات (1-100nm) می‌پردازد (۱۸). افزایش روزافزون نانوتکنولوژی در صنایع مختلف، دامنه‌ای از غلظت‌ها و انواع نانوذرات را وارد خاک، آب و سایر اکوسیستم‌ها کرده و افزایش غلظت این ترکیبات را در آینده نزدیک به دنبال خواهد داشت (۱). نانوذرات با نسبت سطح به حجم و ویژگی کاتالیکی قابل توجه، بسیار واکنش‌پذیرتر و در نتیجه سمی‌تر از ذرات درشت هستند (۲۵ و ۳۴). این مواد به دلیل اندازه کوچک و ویژگی‌های منحصربه‌فرد فیزیکی و شیمیایی به بسیاری از صنایع و همچنین زندگی روزمره بشر راه یافته‌اند (۳۲).

نانوذرات نقره یکی از متداول‌ترین مواد استفاده‌شده در محصولات حاوی نانوذرات شامل محصولات آرایشی، ترکیبات ضد میکروبی، صنایع الکترونیک، حسگرهای نوری، اپتیک و نساجی، محصولات شوینده، کاتالیزورها، جوهرهای رسانه و غیره است (۷). بر اساس آمار گزارش‌شده، ۶۳ تا ۹۱ درصد از نانوذرات تولیدشده تا سال ۲۰۱۰ به اکوسیستم‌های آبی و خاک راه یافته‌اند (۱۵). تجمع نانوذرات در خاک می‌تواند موجب اختلال در خاک، گیاه و همچنین در تولید محصول شود (۱). تولید مواد خام، تولید نانوذرات فعال، استفاده از فراورده‌های نانو و مدیریت غلط زباله‌های نانو که منجر به آزادسازی این مواد در هوا، آب و خاک می‌شود، از جمله روش‌های انتشار اولیه ترکیبات نانو در اکوسیستم‌هاست (۱). مطالعه پیتول و همکاران نشان داد نانوذرات از طریق روش‌های زیستی تجزیه نمی‌شوند. به همین دلیل به صورت منفرد و یا در ترکیب با ذرات خاک به مدت طولانی در خاک باقی مانده و حاصلخیزی و جمعیت میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار داده و موجب تغییر در فیزیولوژی و متابولیسم گیاهان مختلف می‌شوند (۲۳). ترشحات ریشه گیاهان شامل مقادیر زیادی از مولکول‌های زیستی با وزن مولکولی مختلف و یون‌های غیر آلی است که از نظر ترکیب و غلظت با هم متفاوت هستند. غلظت ترشحات ریشه با نوع گیاه تغییر کرده و شامل مقادیر مختلفی از

مولکول‌هایی با وزن مولکولی زیاد مانند اسیدهای چرب و پلی‌ساکاریدها است. همچنین مولکول‌هایی با وزن مولکولی کم مانند آمینواسیدها و اسیدهای آلی در محیط ریزوسفر، محیط تغذیه‌ای مناسبی را برای میکروبیوم خاک ایجاد می‌کنند (۳). نانوذرات واردشده به خاک، هنگامی که در تماس مستقیم با ترشحات باشد، به راحتی می‌تواند روی سطح ریشه رسوب کند یا به آن بچسبد (۱۱). در نتیجه، نانوذرات جذب‌شده به دنبال برهم‌کنش‌های خاص یا تصادفی تحت تغییرات فیزیکی و شیمیایی گسترده با ترشحات ریشه و گاهی اوقات به طور هم‌زمان با اسیدهای هیومیک قرار می‌گیرند. همچنین عوامل اکسیداسیون و احیا که با ترشحات گیاهی وارد خاک می‌شود، با واکنش‌های اکسایش - کاهش مختلف می‌تواند با نانوذرات برهم‌کنش دهند (۲۹). از سوی دیگر نانوذرات نیز می‌توانند با تأثیر بر سیستم ریشه گیاه غلظت ترشحات ریشه را تغییر دهند (۱). نیتروژن موجود در لایه بالایی خاک (۱۵ سانتی‌متری) بسته به بافت خاک حدود ۰/۱ تا ۰/۶ درصد وزنی یا ۲۰۰۰ تا ۱۲۰۰۰ کیلوگرم در هکتار است و به فرم‌های آلی، نیتروژن زیست‌توده میکروبی، یون‌های آمونیوم تثبیت و جذب‌شده در بخش رس و مواد آلی و نیتروژن معدنی (آمونیم و نترات) در خاک وجود دارد (۵). بخش عمده نیتروژن آلی خاک به فرم پروتئین‌ها، آمینواسیدها و سایر مولکول‌های آلی پیچیده نیتروژن‌دار است (۶). چرخه نیتروژن در خاک شامل فرایندهایی از جمله؛ تثبیت نیتروژن، آمونیفیکاسیون، نیتریفیکاسیون، اکسیداسیون بی‌هوازی آمونیوم و دنتریفیکاسیون است (۲۰). اثر سمیت نانوذرات بر جمعیت میکروبی خاک، به عنوان مهم‌ترین کنترل‌کنندگان چرخه‌های بیوژئوشیمیایی خاک به شکل، اندازه، ترکیب شیمیایی، غلظت نانوذرات و همچنین زمان در معرض قرار گرفتن آن‌ها بستگی دارد. سلول‌های باکتریایی ممکن است تا حدی یا به طور کامل به برخی از نانوذرات مقاوم شوند، اما این مقاومت در برابر همه نانوذرات به‌ویژه نانوذرات نقره اتفاق نمی‌افتد (۱۸، ۱۹، ۲۵). مطالعات بلینگر و همکاران (۴) نشان داد، باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن نسبت به دنتریفیکاتورها مقاومت

نمونه، نانوذرات به شدت نسبت ماریپیچی آلفا به صفحات بتا در پروتئین را کاهش داده و از این طریق موجب تغییر در ساختار پروتئین می‌شود (۹). مطالعه سینها و کر (۲۸) نشان داد برهم‌کنش بین پروتئین و نانوذرات با اثر بر جذب، نیروی الکترواستاتیک، نیروی آبگریزی و پیوند هیدروژنی باعث غیرفعال شدن پروتئین‌ها در سلول می‌شود. از طرفی نانوذرات به شدت نسبت بخش ماریپیچی آلفا به صفحات بتا در پروتئین را کاهش داده و باعث تغییر در ساختار پروتئین می‌شود (۲).

در این پژوهش فرض شد: (۱) پاسخ ذخایر نیتروژن خاک به نوع و غلظت نقره بسته به سیستم ریشه‌ای گیاه می‌تواند متفاوت باشد و (۲) این پاسخ با تغییر الگوی ذخایر نیتروژن با عمق خاک همراه خواهد بود. بدین منظور تأثیر متقابل نانوذرات نقره/نیترات نقره، غلظت نقره و سیستم ریشه‌ای بر الگوی تغییرات غلظت پروتئین‌ها و آمینواسیدها در طول ستون دو خاک متفاوت بررسی شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری از دو منطقه بادرود ($33^{\circ} 44' 50'' \text{ N}$, $51^{\circ} 57' 55'' \text{ E}$) و فمی ($33^{\circ} 42' 17'' \text{ N}$, $51^{\circ} 59' 58'' \text{ E}$) در استان اصفهان با دو بافت متفاوت به ترتیب شن و لوم در عمق ۰ تا ۴۰ سانتی‌متری انجام شد (جدول ۱). به منظور انجام این پژوهش در بخش آزمایش گلدانی خاک‌ها از الک ۴ میلی‌متر عبور داده شد و سپس در ستون‌های ضد عفونی شده ریخته شد. تمامی مراحل فوق در آزمایشگاه مرکز روابط خاک و گیاه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد.

ستز و اندازه‌گیری ویژگی‌های نانوذرات

در این مطالعه نانوذرات نقره از طریق احیای شیمیایی با حل کردن نیترات نقره در اتانول و احیای نقره در این محیط الکلی با استفاده از امواج اولتراسونیک تهیه شد. سپس برای شناسایی ترکیبات و خواص بلورنگاری ذرات، از روش پراش ایکس (XRD) و برای اندازه‌گیری ابعاد و تعیین شکل از

بیشتری به نانوذرات نقره در محیط آزمایشگاهی دارند. نتایج آزمایش نینجا کومار و همکاران (۲۲) نشان داد، غلظت ۶۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نانوذرات نقره در خاک‌های قطب شمال که در دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۷۶ روز انکوباسیون شدند، باعث از بین رفتن باکتری تثبیت کننده نیتروژن در این خاک‌ها شده است. نتایج پژوهش دیگر کومار و همکاران (۱۹) با شرایط متفاوت از جمله دما (۱۵ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد) و مدت زمان انکوباسیون (۹۰ روز) در خاک‌های قطب شمال نیز، نتایج آزمایش قبل آن‌ها را تأیید کرده و کاهش قابل توجه باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن را در غلظت‌های متفاوتی از نانوذرات نقره نشان داد. مطالعه یانگ و همکاران (۳۳) نشان داد باکتری‌های هتروتروف اکسیدکننده آمونیاک به شدت به سمیت نانوذرات نقره در محیط آزمایشگاه حساس‌اند. این حساسیت حتی نسبت به حساسیت گونه‌های تثبیت کننده نیتروژن نیز بیشتر بوده است. مطالعه شلیچ و همکاران (۲۷) نشان داد سرعت فرایند نیتریفیکاسیون در خاک‌های آلوده به لجن فاضلاب در غلظت ۲۴۰ تا ۹۶۰۰ میلی‌گرم نانوذرات نقره در کیلوگرم خاک در مدت ۲۸ روز انکوباسیون کاهش یافت.

آمینواسیدها از نظر فراوانی دومین ترکیبات در ترشحات ریشه هستند؛ بنابراین بررسی اثر نانوذرات بر این ذخایر نیتروژن خاک دارای اهمیت است (۲۱). وانگ و همکاران (۳۰) دریافتند که مقادیر زیاد نانوذرات مس مقدار آمینواسیدهای ضروری در گیاه گندم را به شدت تغییر دادند. همچنین نانوذرات دی اکسید تیتانیوم مقدار آمینواسیدهای موجود در دانه این گیاه را افزایش دادند. مطالعه جونز و همکاران (۱۴) نشان داد اگرچه مقدار ذخایر آمینواسیدها در خاک کم است، الگوی تغییرات ناشی از نانوذرات بر این مواد بسیار سریع و شدید اتفاق می‌افتد. مقادیر پروتئین خاکنیز بیانگر ذخایر نیتروژن آلی خاک است. از طرفی طی فرایند معدنی شدن نیتروژن آلی در طول فصل رشد، فراهمی زیستی آن برای گیاهان افزایش می‌یابد (۱۳). مطالعه السر و هاوارد (۹) نشان داد، نانوذرات هم‌اندازه با مولکول‌های پروتئین با این مولکول‌ها تعامل داشته و ساختار آن‌ها را تغییر می‌دهد. برای

جدول ۱. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌ها

منطقه نمونه‌برداری	بافت	رس	سیلت kg 100 kg ⁻¹	شن	کربنات کلسیم kg 100 kg ⁻¹	ماده آلی kg 100 kg ⁻¹	EC _e ds/m	pH _e
فمی	لوم شنی	۱۹/۵	۲۸/۳	۵۲/۲	۲۲/۱	۱/۲۶	۲/۳۲	۷/۸
بادرود	شن لومی	۸/۸	۷/۹	۸۳/۳	۱۳/۵	۰/۹۶	۱/۹۷	۷/۷

میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM) استفاده شد. همچنین بار سطحی ذرات با دستگاه زتاسایزر اندازه‌گیری شد. پوشش نانوذرات به‌کاربرده‌شده در این پژوهش PVP است و تمامی ذرات توسط پژوهشکده نانوفناوری دانشگاه صنعتی اصفهان تولید شد.

اعمال تیمارهای نانوذرات و نیترات نقره در خاک و کاشت گیاه
پس از کاشت و استقرار بذر گندم و گلرنگ در هر ستون خاک، تعداد بوته‌ها در هر گلدان کاهش یافته و سپس ۵۰ میلی‌گرم محلول نیترات نقره و ۱۰۰ میلی‌گرم سوسپانسیون نانوذرات نقره (سنتز شده توسط پژوهشکده نانوفناوری دانشگاه صنعتی اصفهان) در هر کیلوگرم خاک به گلدان‌ها اضافه شد. پس از کامل شدن دوره رشد رویشی گیاه، ارتفاع هر گیاه ثبت و برداشت شدند. در رطوبت مناسب و با اعمال فشار، پس از قطع ساقه از محل طوقه، خاک گلدان خارج شد. نمونه‌برداری از هر خاک ریزوسفری در عمق‌های متفاوت انجام شد. تیمارها در این پژوهش شامل بافت خاک در دو سطح (بادرود و فمی)، نوع گیاه در دو سطح (گندم و گلرنگ)، تیمار نوع نقره در سه سطح (شاهد، نانوذرات نقره، نیترات نقره) و تیمار غلظت نقره در دو سطح (غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک) و با دو تکرار انجام شد که در مجموع ۵۰ ستون خاک مطالعه شد.

استخراج و اندازه‌گیری پروتئین و آمینواسیدهای خاک
پروتئین‌ها و آمینواسیدهای آزاد به روش اصلاح‌شده خلیلی و همکاران (۱۶) استخراج شد. آمینواسیدهای آزاد خاک به روش

روزن (۲۶) اندازه‌گیری شد. پروتئین خاک به روش لوری (۳۱) اندازه‌گیری شد.

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌های ستونی به‌صورت طرح کرت‌های خردشده در دو تکرار و در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی اجرا شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC, USA) و نرم‌افزار Excel تجزیه و تحلیل و رسم شدند.

نتایج و بحث

این پژوهش به‌منظور بررسی برهم‌کنش سیستم ریشه‌ای (گندم و گلرنگ)، نوع نقره (نیترات و نانوذرات نقره)، غلظت نقره (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم خاک) و عمق خاک (۰-۱۰، ۱۰-۲۰، ۲۰-۳۰، ۳۰-۴۰ سانتی‌متری) بر غلظت پروتئین و آمینواسیدهای خاک در ستون‌های خاک مناطق بادرود و فمی انجام شد.

۱- غلظت پروتئین در خاک بادرود و فمی

الف- اثر عمق خاک

نتایج مقایسه میانگین اثر عمق خاک بر غلظت پروتئین در خاک بادرود نشان داد بیشترین غلظت پروتئین در عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متر بوده و با افزایش عمق در عمق‌های ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش یافته است (جدول ۲). اثر عمق خاک بر غلظت پروتئین خاک در خاک فمی تفاوت معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد نداشت. نتایج انتشاری (۱۰) در

جدول ۲. آثار اصلی عمق خاک بر غلظت پروتئین (mg/g) در خاک بادرود

عمق خاک (cm)	غلظت پروتئین (mg/g)
۰-۱۰	۰/۳۱ ^a
۱۰-۲۰	۰/۳۱ ^a
۲۰-۳۰	۰/۳۰ ^a
۳۰-۴۰	۰/۲۷ ^b

زیست توده میکروبی در عمق‌های مختلف، در تیمارهای بدون حضور نقره بوده و با افزایش غلظت نقره، زیست توده میکروبی در عمق‌های مختلف خاک کاهش پیدا کرده است و این کاهش در لایه‌های سطحی خاک بیشتر بوده است. همچنین مطالعه رحمت پور و همکاران (۲۵) نشان داد با افزایش غلظت نانوذرات، فعالیت‌های میکروبی کاهش یافت. این در حالی است که اثر متقابل عمق $\times$ غلظت نقره در خاک فمی از نظر آماری ($p < 0/05$) معنی دار نشد.

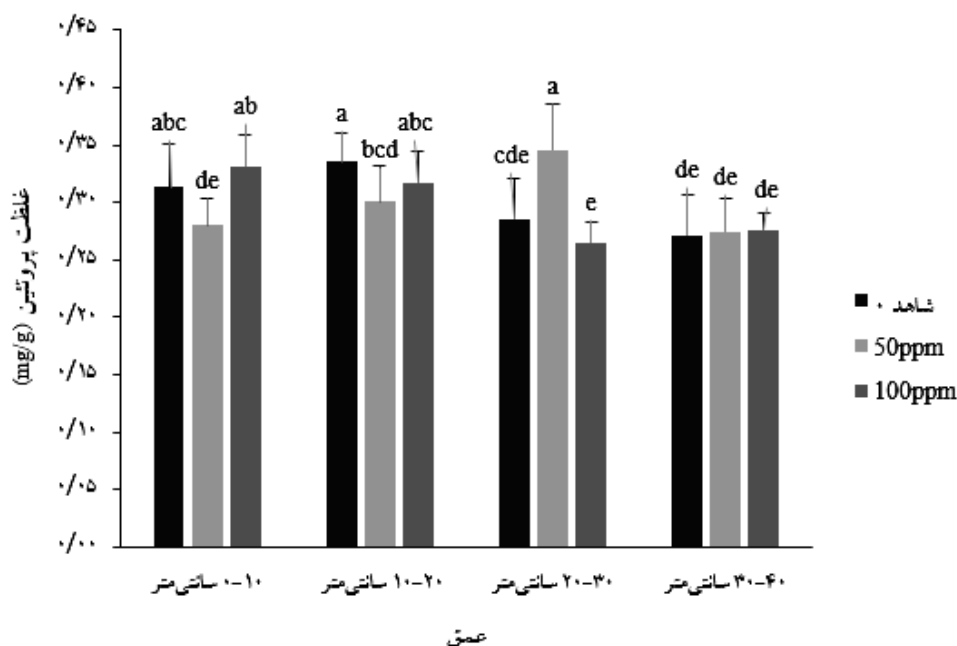
ج- اثر متقابل عمق $\times$ نوع نقره

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق $\times$ نوع نقره در خاک بادرود نشان داد با افزایش عمق (۲۰ تا ۳۰ و ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر) غلظت پروتئین خاک در تیمارهای بدون نقره، به طور معنی داری ($p < 0/05$) کاهش یافت (شکل ۲). این در حالی است که تغییرات عمق، بر غلظت پروتئین خاک در تیمارهای حاوی نیترات نقره معنی دار ($p < 0/05$) نبود (شکل ۲). به طور کلی تیمارهای بدون نقره و همچنین تیمار حاوی نانوذرات نقره با افزایش عمق، کاهش غلظت پروتئین را نشان داد که این کاهش در برخی موارد از لحاظ آماری ($p < 0/05$) معنی دار بود (شکل ۲). اثر متقابل عمق $\times$ نوع نقره در خاک فمی از نظر آماری ($p < 0/05$) معنی دار نشد. انتشاری (۱۰) نشان داد در خاک بادرود اثر نوع نقره (نیترات نقره و نانوذرات نقره) بر فعالیت آنزیم پروتئاز معنی دار ($p < 0/05$) بوده و بیشترین فعالیت آنزیم پروتئاز در خاک حاوی نانوذرات نقره مشاهده شد. مطالعه پراداس و همکاران (۲۴) نشان داد جذب نقره در ریشه و جابه جایی آن در اندام‌های هوایی به ترتیب در تیمارهای $Ag_2S-NP < AgNO_3 < Ag-NPs$ افزایش یافت. این در حالی است که نتایج این پژوهش نشان داد که رشد ریشه در تیمارهای آلوده به نانوذرات نقره بیشترین کاهش را نشان داد.

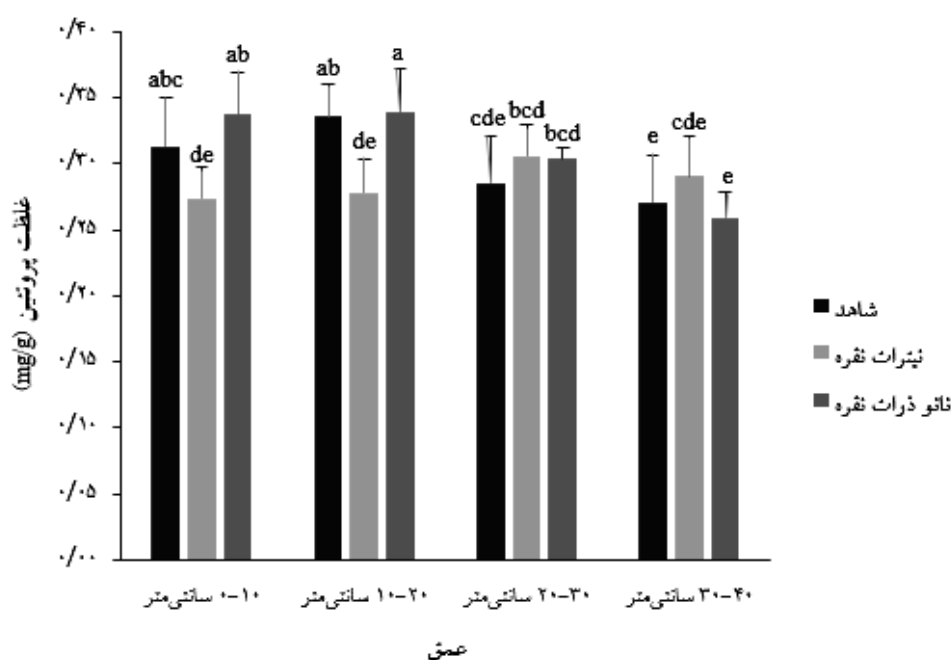
این خاک‌ها نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم پروتئاز در عمق ۱۰-۲۰ سانتی متر و کمترین فعالیت در عمق ۲۰-۳۰ سانتی متر است (۱۰). فعالیت پروتئاز به شدت وابسته به حضور سوبسترای پروتئینی است و افزایش پروتئین در خاک فعالیت پروتئاز را افزایش می‌دهد (۱۷). عامل تأثیرگذار دیگر فعالیت میکروبی به عنوان منبع ورود (ترشحات و بقایای جمعیت میکروبی) و خروج (ترشح پروتئاز) پروتئین خاک است. همچنین نتایج اثر عمق خاک بر زیست توده میکروبی در این خاک‌ها نشان داد که بیشترین زیست توده میکروبی در عمق ۳۰-۴۰ سانتی متر و کمترین فعالیت در عمق ۱۰-۲۰ سانتی متر است (۱۰). این مشاهده می‌تواند به این دلیل باشد که در بافت حاوی ذرات شن بیشتر، آبشویی زیاد موجب انتقال میکروارگانیسم‌ها، عناصر غذایی و مواد آلی به عمق‌های پایین تر خاک شده باشد و یا به دلیل شکل توسعه ریشه باشد.

ب- اثر متقابل عمق $\times$ غلظت نقره

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق $\times$ غلظت نقره بر غلظت پروتئین در خاک بادرود نشان داد، کمترین غلظت پروتئین خاک در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر است (شکل ۱). تیمارهای حاوی غلظت ۵۰ ppm نقره بیشترین غلظت پروتئین خاک را در عمق ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر نشان دادند (شکل ۱). این در حالی است که غلظت پروتئین خاک در تیمارهای حاوی غلظت ۱۰۰ ppm نقره، با افزایش عمق، به طور معنی داری کاهش ($p < 0/05$) یافت (شکل ۱). غلظت پروتئین خاک در تیمارهای بدون نقره، در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر، نسبت به عمق‌های سطحی (۰ تا ۲۰ سانتی متر) کاهش معنی دار ($p < 0/05$) نشان داد (شکل ۱). نتایج انتشاری (۱۰) نشان داد بیشترین



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × غلظت نقره بر غلظت پروتئین (mg/g) در خاک با درود

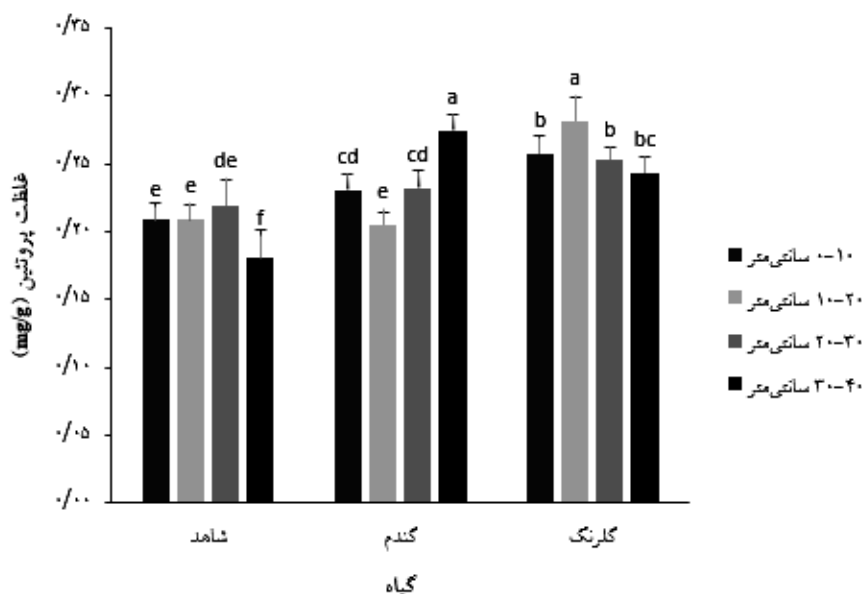


شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × نوع نقره بر غلظت پروتئین (mg/g) در خاک با درود

د- اثر متقابل عمق × گیاه

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × گیاه بر غلظت پروتئین در خاک فمی نشان داد بیشترین غلظت پروتئین در خاک تحت کشت گندم در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر و همچنین در خاک تحت کشت

گلرنگ در عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر مشاهده شد (شکل ۳). در خاک بدون کشت کمترین غلظت پروتئین خاک در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر مشاهده شد (شکل ۳). به نظر می رسد خاک تحت کشت گندم در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر و خاک تحت کشت گلرنگ



شکل ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × گیاه بر غلظت پروتئین (mg/g) در خاک فمی

فرعی آن تا عمق ۶۰ تا ۹۰ سانتی متر توسعه پیدا می کنند. عمیق بودن ریشه گلرنگ این گیاه را قادر می سازد تا بر فرایندهایی که در اعماق خاک رخ می دهد، تأثیرگذار باشد (۸).

غلظت آمینواسیدها در خاک بادرود و فمی

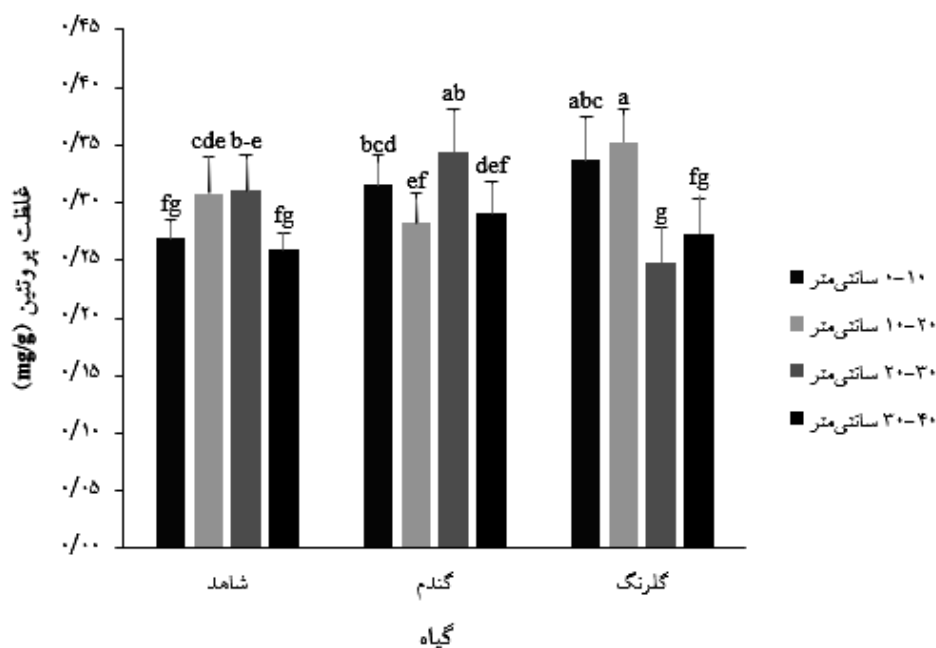
الف- عمق خاک

نتایج مقایسه میانگین اثر عمق خاک بر غلظت آمینواسیدهای خاک در خاک بادرود نشان داد بیشترین غلظت آمینواسیدهای خاک مربوط به عمق ۰ تا ۱۰ سانتی متر است و با افزایش عمق غلظت آمینواسیدها در خاک به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت (جدول ۳).

همچنین در خاک فمی بیشترین غلظت آمینواسیدهای خاک در عمق های ۰ تا ۱۰ و ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر بود و با افزایش عمق غلظت آمینواسیدهای خاک به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافته است (جدول ۳). نتایج الگوی تغییرات غلظت آمینواسیدها در طول ستون خاک بادرود با نتایج الگوی تغییرات غلظت پروتئین و آنزیم پروتئاز در همین پژوهش منطبق بوده و کاهش غلظت آمینواسیدها با افزایش عمق را می توان به دلیل کاهش پروتئین به عنوان سوستر و فعالیت آنزیم پروتئاز با عمق دانست (۱۰ و ۱۷).

در عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر از روند کاهش غلظت پروتئین خاک با افزایش عمق تبعیت نکردند (شکل ۳). در بیشتر عمق ها کشت گیاه موجب افزایش غلظت پروتئین خاک شده است (شکل ۳).

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × گیاه در خاک بادرود نشان داد، بیشترین غلظت پروتئین در خاک تحت کشت گلرنگ در عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر مشاهده شد (شکل ۴). در خاک تحت کشت گلرنگ، با افزایش عمق، غلظت پروتئین به طور معنی داری ($p < 0.05$) کاهش یافت (شکل ۴). در خاک بدون کشت، بیشترین غلظت پروتئین خاک در عمق ۱۰ تا ۳۰ سانتی متر مشاهده شد (شکل ۴). به نظر می رسد تفاوت سیستم ریشه ای گیاه گندم و گلرنگ روند تغییرات غلظت پروتئین خاک با عمق را تحت تأثیر قرار داده است؛ به طوری که در گیاه گلرنگ غلظت پروتئین خاک روند کاهشی نشان داده است، در حالی که این روند در خاک ریزوسفری گیاه گندم مشاهده نشد (شکل ۴). گندم دارای ریشه افشان بوده و بیشترین فعالیت ریشه تا عمق ۳۰ سانتی متری خاک است و در ابتدای رشد، تأمین مواد غذایی مورد نیاز وظیفه ریشه های اولیه گندم است (۱۲). گیاه گلرنگ دارای یک ریشه اصلی قوی و مستقیم است و در خاک های نفوذپذیر تا عمق ۲ تا ۳ متر می تواند گسترش یابد. ریشه های



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × گیاه بر غلظت پروتئین (mg/g) در خاک با درود

جدول ۳. اثر اصلی عمق خاک بر غلظت آمینواسیدها (μmol/g) در خاک با درود و فمی

غلظت آمینواسیدها (μmol/g)		عمق خاک (cm)
خاک فمی	خاک با درود	
۱/۸۲ ^a	۱/۴۷ ^a	۰-۱۰
۱/۶۶ ^a	۰/۸۴ ^c	۱۰-۲۰
۱/۴۲ ^b	۰/۹۹ ^b	۲۰-۳۰
۱/۴۳ ^b	۰/۸۶ ^c	۳۰-۴۰

ب- اثر متقابل عمق × غلظت نقره

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × غلظت نقره بر غلظت آمینواسیدهای خاک در خاک با درود نشان داد هر دو تیمار ۵۰ و ۱۰۰ غلظت نقره، کاهش غلظت آمینواسیدهای خاک را به دنبال داشته است (شکل ۵). همچنین وجود یون نقره روند تغییرات غلظت آمینواسیدها با عمق را تغییر داده؛ به طوری که در خاک‌های بدون تیمار نقره بیشترین غلظت در عمق‌های ۰ تا ۱۰ سانتی‌متر و ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر مشاهده شد (شکل ۵). درحالی که در تیمار ۱۰۰ ppm نقره بیشترین غلظت در دو عمق ۱۰ تا ۲۰ و ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و در

تیمارهای ۵۰ ppm نقره، بیشترین غلظت آمینواسیدهای خاک در لایه سطحی (۰ تا ۱۰ سانتی‌متر) مشاهده شد و با افزایش عمق این روند به طور معنی‌داری ($p < 0.05$) کاهش بود (شکل ۵). اثر متقابل عمق × غلظت نقره در خاک فمی از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین در این پژوهش انتشاری (۱۰) گزارش کرد که در تمام عمق‌ها با افزایش غلظت نقره و افزایش عمق فعالیت آنزیم پروتئاز در عمق‌های ابتدایی غلظت ۵۰ ppm نقره مشاهده شد. در این خاک‌ها بیشترین زیست‌توده میکروبی در عمق‌های مختلف در خاک‌های بدون تیمار نقره بود و با افزایش غلظت

بر غلظت آمینواسیدهای خاک در خاک فمی نشان داد بیشترین غلظت آمینواسیدها در هر چهار عمق، در تیمارهای نیترا نقره دیده شد (شکل ۷). اگرچه با افزایش عمق، غلظت آمینواسیدهای خاک در این تیمارها کاهش یافت که این کاهش در برخی عمق‌ها معنی‌دار ($p < 0.05$) بود (شکل ۷). کمترین غلظت آمینواسیدهای خاک در عمق ۰ تا ۱۰ سانتی‌متر، در تیمار بدون نقره دیده شد (شکل ۷). در سایر عمق‌ها تیمارهای نانوذرات نقره با تیمارهای بدون نقره تفاوت معنی‌داری ($p < 0.05$) نشان نداد. به‌طور کلی نیترا نقره در خاک فمی و در عمق‌های ۰ تا ۱۰، ۱۰ تا ۲۰، ۲۰ تا ۳۰ و ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، موجب افزایش غلظت آمینواسیدهای خاک شد که این افزایش در برخی عمق‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار شد (شکل ۷). در تیمار شاهد (فاقد نقره) با افزایش عمق (لایه‌های ۳۰-۴۰ سانتی‌متری) غلظت آمینواسیدهای خاک نسبت به لایه سطحی به‌طور معنی‌داری ($p < 0.05$) افزایش نشان داد (شکل ۷). افزایش غلظت آمینواسیدها در تیمارهای حاوی نقره می‌تواند به‌دلیل تخریب سلول‌های میکروارگانیسم‌های خاک در این تیمارها و خروج محتوی سلولی از جمله آمینواسیدها به خاک باشد. نتایج انتشاری در این خاک‌ها نشان داد غلظت ۱۰۰ppm هر دو نوع نقره موجب کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) زیست‌توده میکروبی خاک نسبت به شاهد شده است (۱۰).

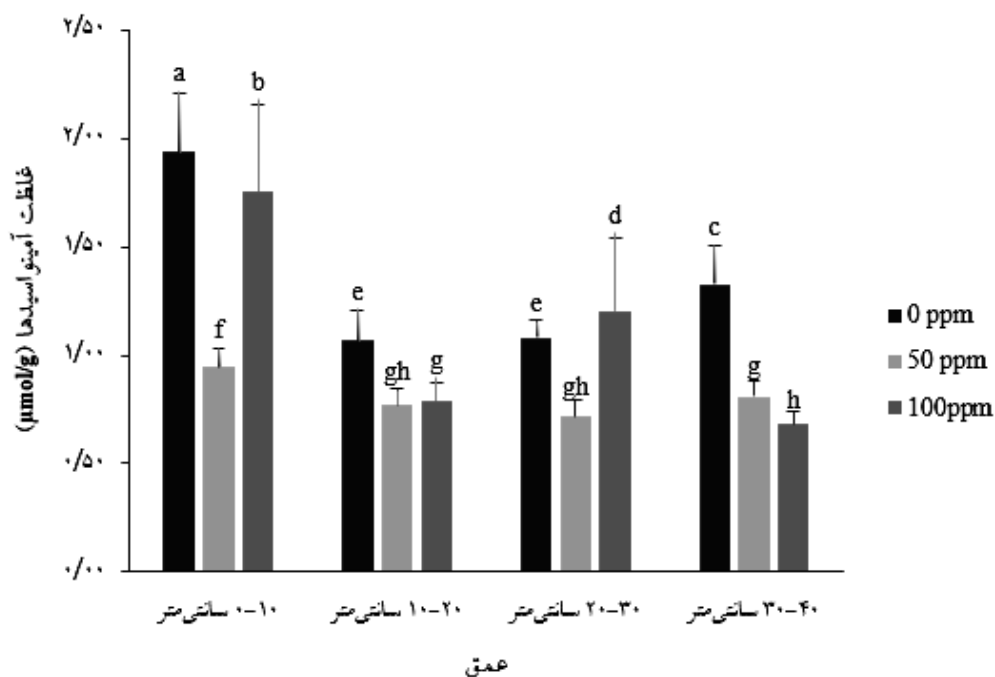
نتیجه‌گیری

در خاک بادرود کمترین غلظت پروتئین خاک در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی‌متر دیده شد. در این خاک الگوی تغییرات غلظت پروتئین خاک با عمق بسته به نوع منبع ورودی نقره و غلظت نقره در خاک متفاوت بود؛ به‌طوری‌که تیمارهای حاوی غلظت ۵۰ppm نقره بیشترین غلظت پروتئین خاک را در عمق ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر نشان دادند. همچنین تیمار حاوی نانوذرات نقره رفتاری مشابه تیمارهای بدون نقره نشان داده و با افزایش عمق، غلظت پروتئین خاک کاهش یافت. اگرچه این روند در تیمارهای نیترا نقره متفاوت بود.

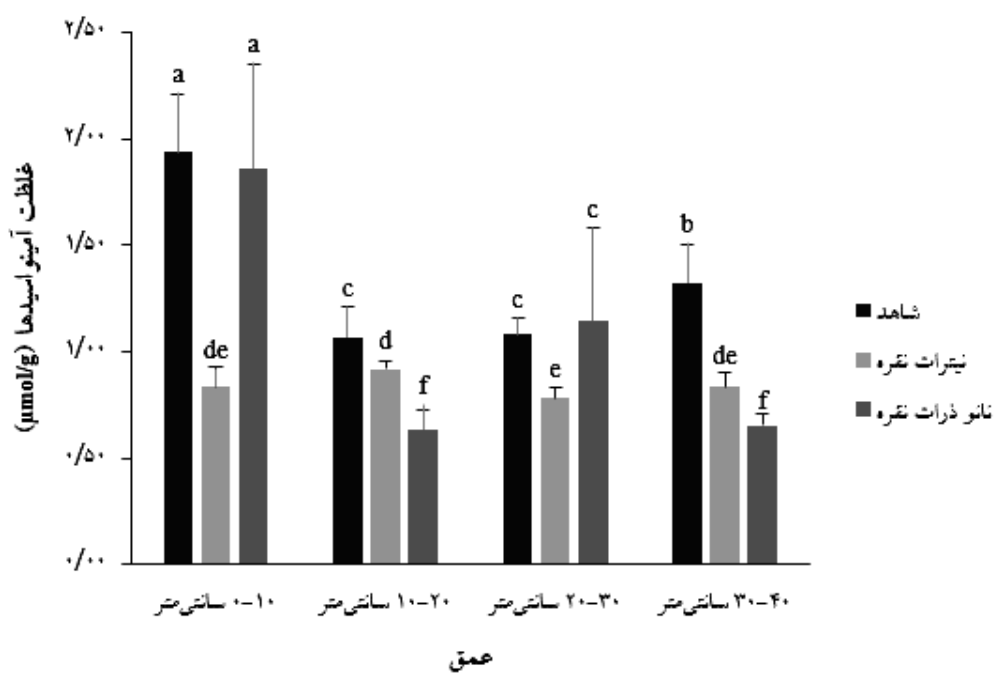
نقره، زیست‌توده میکروبی در عمق‌های مختلف خاک به‌ویژه در لایه‌های سطحی کاهش یافت (۱۰). این نتایج نشان می‌دهد که حضور نقره در خاک می‌تواند بر شدت و الگوی چرخه نیتروژن خاک در طول پروفیل خاک تأثیرگذار باشد. پیش از این نیز رحمت‌پور و همکاران (۲۵) نیز کاهش فعالیت‌های میکروبی خاک را با افزایش غلظت نانوذرات نقره گزارش کردند. در ارتباط با تشابه الگوی تغییرات غلظت آمینواسیدها و آنزیم پروتئاز، خسروزاده و همکاران (۱۷) پیشنهاد کردند که حضور آمینواسیدها در خاک می‌تواند موجب تحریک و القای فعالیت پروتئاز و آنزیم‌های هیدرولیتیک خاک شود.

ج- اثر متقابل عمق × نوع نقره

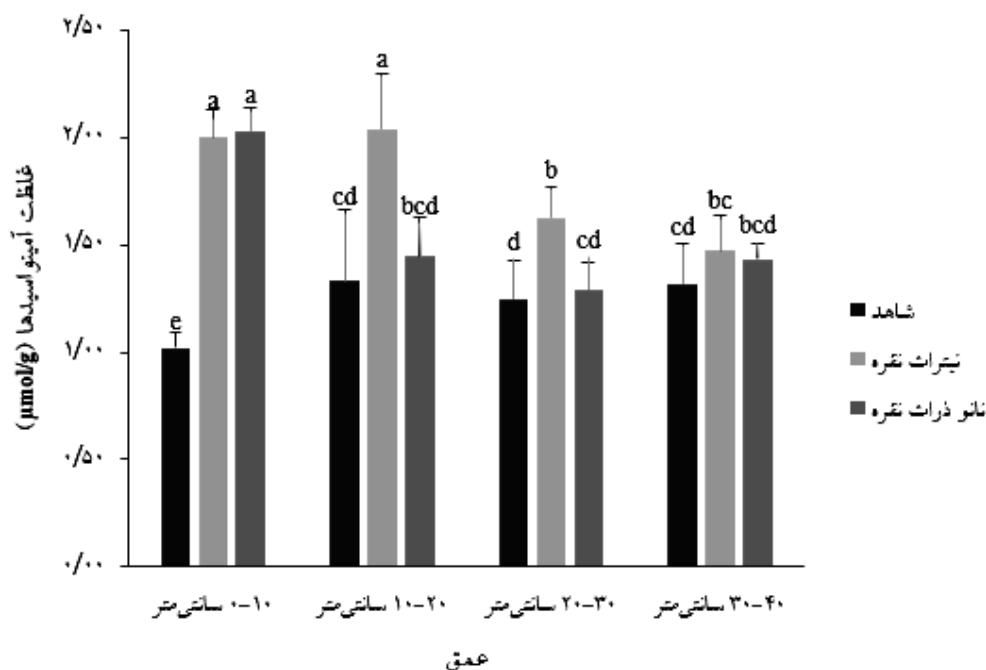
نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × نوع نقره بر غلظت آمینواسیدهای خاک در خاک بادرود نشان داد بیشترین غلظت آمینواسیدهای خاک در عمق ۰ تا ۱۰ سانتی‌متر در تیمار شاهد و تیمار نانوذرات نقره مشاهده شد (شکل ۶). در این عمق افزودن نیترا نقره موجب کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) غلظت آمینواسیدهای خاک شده است (شکل ۶). تیمار نیترا نقره در همه عمق‌ها موجب کاهش معنی‌دار ($p < 0.05$) غلظت آمینواسیدهای خاک شد. اما در تیمارهای نانوذرات نقره غلظت آمینواسیدهای خاک تنها در دو عمق ۱۰ تا ۲۰ و ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متری تفاوت معنی‌داری با خاک شاهد نشان داد (شکل ۶). همچنین الگوی تغییرات غلظت آمینواسیدها با عمق تحت تأثیر تیمار نوع نقره نسبت به خاک شاهد متفاوت بود (شکل ۶). این در حالی است که در همین تیمارها، انتشاری (۱۰) بیشترین فعالیت آنزیم پروتئاز خاک را در تیمارهایی که نانوذرات نقره دریافت کرده بودند و کمترین فعالیت آنزیم پروتئاز خاک را در تیمارهای نیترا نقره گزارش کرد. به نظر می‌رسد وجود نانوذرات نقره در این خاک‌ها اثر محرک بر فعالیت آنزیم پروتئاز داشته و به همین دلیل در برخی عمق‌ها اثر کاهشی بر غلظت آمینواسیدهای خاک داشته است. بااین‌حال نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × نوع نقره



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × غلظت نقره بر غلظت آمینواسیدها (μmol/g) در خاک بادرود



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × نوع نقره بر غلظت آمینواسیدها (μmol/g) در خاک بادرود



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل عمق × نوع نقره بر غلظت آمینواسیدها (μmol/g) در خاک فمی

ورودی نقره، الگوی تغییرات غلظت آمینواسیدها با عمق را تغییر داده است. در خاک بادرود مشابه پاسخ پروتئین خاک، غلظت آمینواسیدها در تیمار نانوذرات نقره روند مشابه تیمار فاقد نقره نشان دادند و بیشترین غلظت در عمق ۰ تا ۱۰ سانتی متر اندازه گیری شد. اگرچه تیمار نترات نقره در همه عمق ها موجب کاهش غلظت آمینواسیدهای خاک شد، در خاک فمی الگوی تغییرات غلظت آمینواسیدها با عمق تحت تأثیر نوع منبع ورودی نقره تغییر کرد؛ به طوری که در این خاک کاربرد نترات نقره موجب تجمع نقره در لایه های سطحی خاک (۰-۳۰ سانتی متر) نسبت به خاک فاقد نقره شد.

این نتایج نشان می دهد که حضور نقره در خاک بسته به نوع منبع ورودی نقره و غلظت آن می تواند بر غلظت و الگوی ذخایر نیتروژن خاک در طول پروفیل خاک تأثیرگذار باشد.

ورود گیاه و نوع سیستم ریشه ای به برهمکنش سیستم خاک و تیمارهای نقره، الگوی تغییرات با عمق و غلظت پروتئین خاک را تغییر داد. به طور کلی در هر دو نوع خاک در بیشتر عمق ها حضور دو گیاه کشت شده، افزایش غلظت پروتئین خاک را به دنبال داشت. در خاک بادرود تحت کشت گندم بیشترین غلظت پروتئین در عمق های سطحی دیده شد. در حالی که در خاک فمی تحت کشت گندم بیشترین غلظت پروتئین در عمق ۳۰ تا ۴۰ سانتی متر و تحت کشت گلرنگ در عمق ۱۰ تا ۲۰ سانتی متر دیده شد.

اثر عمق خاک بر غلظت آمینواسیدها در هر دو خاک کاهشی بوده و بیشترین غلظت آمینواسیدها مربوط به عمق های سطحی خاک است. در خاک بادرود هر دو غلظت نقره کاهش غلظت آمینواسیدهای خاک را به دنبال داشته و همچنین نوع منبع

References

- Ahmed, B., A. Rizvi, K. Ali, J. Lee, A. Zaidi, M.S Khan, et al. 2021. Nanoparticles in the soil-plant system: a review. *Environmental Chemistry Letters* 19:1545-1609.
- Alekseeva, O.V., N.A. Bagrovskaya and A.V. Noskov. 2018. Effect of C60 filling on structure and properties of composite films based on polystyrene. *Arabian Journal of Chemistry* 11(7):1160-1164.

منابع مورد استفاده

3. Bais, H.P., T.L. Weir, L.G. Perry, S. Gilroy and J.M. Vivanco. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology* 57(1):233-266.
4. Bellenger, J., Y. Xu, X. Zhang, F.M. Morel and A. Kraepiel. 2014. Possible contribution of alternative nitrogenases to nitrogen fixation by symbiotic N₂-fixing bacteria in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 69: 413-420.
5. Cameron, K.C., H.J. Di and J.L. Moir. 2013. Nitrogen losses from the soil/plant system: a review. *Annals of Applied Biology* 162(2): 145-73.
6. Carski, T. and D. Sparks. 1987. Differentiation of soil nitrogen fractions using a kinetic approach. *Soil Science Society of America Journal* 51(2): 314-317.
7. Dang, F., Y. Huang, Y. Wang, D. Zhou and B. Xing. 2021. Transfer and toxicity of silver nanoparticles in the food chain. *Environmental Science: Nano* 8(6): 1519-1535.
8. Ekin, Z. 2005. Resurgence of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) utilization: A global view. *Journal of Agronomy* 4(2): 83-87.
9. Elsaesser, A. and C.V. Howard. 2012. Toxicology of nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews* 64(2): 129-137.
10. Enteshari R. Interaction of silver nanoparticles, silver nitrate, and soil texture on protease and L-glutaminase enzyme activities, mineral nitrogen pools, and microbial biomass in wheat- and safflower-cultivated soils [Master's thesis]. Isfahan (Iran): Isfahan University of Technology, Faculty of Agriculture; 2021.
11. Gao, X., A. Avellan, S. Loughton, R. Vaidya, S.M. Rodrigues, E.A. Casman, et al. 2018. CuO nanoparticle dissolution and toxicity to wheat (*Triticum aestivum*) in rhizosphere soil. *Environmental Science and Technology* 52(5): 2888-2897.
12. Grzesiak, M.T., N. Hordyńska, A. Maksymowicz, S. Grzesiak and M. Szechyńska-Hebda. 2019. Variation among spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes in response to the drought stress. II—Root system structure. *Plants* 8(12): 584.
13. Hurisso, T.T., D.J. Moebius-Clune, S.W. Culman, B.N. Moebius-Clune, J.E. Thies and H.M. van Es. 2018. Soil protein as a rapid soil health indicator of potentially available organic nitrogen. *Agricultural and Environmental Letters* 3(1):180006.
14. Jones, D., K. Kielland, F. Sinclair, R. Dahlgren, K. Newsham, J. Farrar, et al. 2009. Soil organic nitrogen mineralization across a global latitudinal gradient. *Global Biogeochemical Cycles* 23(1).
15. Keller, A.A., S. McFerran, A. Lazareva and S. Suh. 2013. Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research* 15:1-17.
16. Khalili, B., N. Nili, F. Nourbakhsh, B. Sharifnabi and H. Khademi. 2011. Does cultivation influence the content and pattern of soil proteins?. *Soil and Tillage Research* 111(2):162-167.
17. Khosrozadeh, S. and F. Nourbakhsh. 2022. Deforestation alters protease regulation by amino acids. *Geoderma* 426:116097.
18. Klaine, S.J., P.J. Alvarez, G.E. Batley, T.F. Fernandes, R.D. Handy, D.Y. Lyon, et al. 2008. Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal* 27(9):1825-1851.
19. Kumar, N., G.R. Palmer, V. Shah and V.K. Walker. 2014. The effect of silver nanoparticles on seasonal change in arctic tundra bacterial and fungal assemblages. *PLoS One* 9(6):e99953.
20. McGee, C.F. 2020. The effects of silver nanoparticles on the microbial nitrogen cycle: a review of the known risks. *Environmental Science and Pollution Research* 27(25):31061-31073.
21. Molina, R., Y. Al-Salama, K. Jurkschat, P.J. Dobson and I.P. Thompson. 2011. Potential environmental influence of amino acids on the behavior of ZnO nanoparticles. *Chemosphere* 83(4): 545-51.
22. Niraj Kumar, N.K., V. Shah and V. Walker. 2011. Perturbation of an arctic soil microbial community by metal nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials* 190(1-3): 816-822.
23. Pittol, M., D. Tomacheski, D.N. Simões, V.F. Ribeiro and R.M.C. Santana. 2017. Macroscopic effects of silver nanoparticles and titanium dioxide on edible plant growth. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management* 8:127-133.
24. Pradas del Real, A.E., V. Vidal, M. Carrière, H. Castillo-Michel, C. Levard, P. Chaurand, et al. 2017. Silver nanoparticles and wheat roots: a complex interplay. *Environmental Science and Technology* 51(10): 5774-5782.
25. Rahmatpour, S., M. Shirvani, M.R. Mosaddeghi, F. Nourbakhsh and M. Bazarganipour. 2017. Dose-response effects of silver nanoparticles and silver nitrate on microbial and enzyme activities in calcareous soils. *Geoderma* 285:313-322.
26. Rosen, H. 1957. A modified ninhydrin colorimetric analysis for amino acids. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 67(1):10-15.
27. Schlich, K., T. Klawonn, K. Terytze and K. Hund-Rinke. 2013. Hazard assessment of a silver nanoparticle in soil applied via sewage sludge. *Environmental Sciences Europe* 25:1-14.

28. Sinha, R. and S.K. Khare. 2014. Differential interactions of halophilic and non-halophilic proteases with nanoparticles. *Sustainable Chemical Processes* 2:1-8.
29. Wang, Q., X. Ma, W. Zhang, H. Pei and Y. Chen. 2012. The impact of cerium oxide nanoparticles on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and its implications for food safety. *Metallomics* 4(10):1105-1112.
30. Wang, Y., F. Jiang, C. Ma, Y. Rui, D.C. Tsang and B. Xing. 2019. Effect of metal oxide nanoparticles on amino acids in wheat grains (*Triticum aestivum*) in a life cycle study. *Journal of Environmental Management* 241:319-327.
31. Waterborg, J.H. 2009. The Lowry method for protein quantitation. PP. 32-34. In: John M. Walker (Ed), *The protein protocols handbook*, Humana Press, Totowa.
32. Yan, A. and Z. Chen. 2019. Impacts of silver nanoparticles on plants: a focus on the phytotoxicity and underlying mechanism. *International Journal of Molecular Sciences* 20(5):1003.
33. Yang, Y., J. Wang, Z. Xiu and P.J. Alvarez. 2013. Impacts of silver nanoparticles on cellular and transcriptional activity of nitrogen-cycling bacteria. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32(7): 1488-1494.
34. Zheng, Y., L. Hou, M. Liu, S.E. Newell, G. Yin, C. Yu, et al. 2017. Effects of silver nanoparticles on nitrification and associated nitrous oxide production in aquatic environments. *Science Advances* 3(8):e1603229.