

آماده انتشار

بررسی توزیع خاکدانه‌ای آمیدوهیدرولازها در کاربری‌های مختلف اکوسیستم‌های جنگلی

چکیده

محل آنزیم‌های برون سلولی درون ساختمان خاک و وابستگی آن‌ها با ترکیبات خاک می‌تواند بر خاصیت کاتالیتیکی آنزیم‌ها تأثیر بگذارد. آمیدوهیدرولازها شامل ال-گلوتامیناز، ال-آسپاراجیناز، اوره آز، آمیداز و ال-آسپارتاز نقش به سزایی در معدنی کردن نیتروژن خاک بر عهده دارند. هدف این مطالعه بررسی توزیع خاکدانه‌ای آنزیم‌های ال-گلوتامیناز، ال-آسپاراجیناز و اوره آز در اکوسیستم‌های جنگلی گیسوم و دلورا است. با استفاده از روش الک تر خاکدانه‌ها جدا شدند. اندازه خاکدانه‌های جدا شده $2 > 1-2, 1-0.5, 0.5-0.25, 0.25-0.1, 0.1-0.075$ میلی متر است. فعالیت آمیدوهیدرولازها با منشأ متفاوت و همچنین کربن آلی درون خاکدانه‌ها اندازه گیری شد. نتایج نشان می‌دهد کاربری کاج جنگل گیسوم بیش‌ترین مقدار کربن را داراست. فعالیت دو آنزیم ال-گلوتامیناز و اوره آز در هر دو کاربری جنگل گیسوم برابر است. اما فعالیت ال-آسپاراجیناز در کاربری افرا بیش تر از کاج دیده شد. درجنگل گیسوم با افزایش اندازه خاکدانه، فعالیت آنزیم‌ها افزایش می‌یابد. در جنگل دلورا فعالیت آنزیم‌ها به مدیریت حساسیت بیش‌تری نشان می‌دهد، چرا که فعالیت این سه آنزیم با تخریب جنگل کاهش می‌یابد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، مدیریت‌های مرسوم مانند شخم باعث افزایش ریز خاکدانه‌ها می‌شود که بر خصوصیات بیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک تأثیر می‌گذارد که در نهایت منجر به تغییر چرخه نیتروژن داخل خاکدانه‌ها می‌شود.

کلمات کلیدی: آنزیم در خاکدانه، مدیریت و کاربری اراضی، ال-گلوتامیناز، ال-آسپاراجیناز، اوره‌آز

مقدمه

باروری و پایداری اکوسیستم‌های طبیعی و کشاورزی به فرایندهای میکروبی وابسته است. از طرفی فرایندهای میکروبی به ساختمان توسعه یافته و خاکدانه‌های مقاوم نیاز دارند. ساختمان خاک یکی از خصوصیات ضروری هر خاک است که با استفاده از این خصوصیت می‌توان بسیاری از عملکردهای اکولوژیکی خاک را تخمین زد (تیتی ۲۰۰۳). خاکدانه به عنوان مهم‌ترین جزء ساختمان خاک و با داشتن منافذ بزرگ و کوچک بسیار می‌تواند محل مناسب و جایگاه امنی برای فعالیت‌های میکروبی به حساب آید. به عبارت دیگر، فعالیت‌های بیولوژیکی و محیط فیزیکی خاک بسیار به هم مرتبط هستند (سیکس و همکاران ۲۰۰۴). بیش از ۹۰ درصد مواد آلی خاک داخل خاکدانه‌ها نگه‌داری می‌شود. پس انتظار می‌رود عمده فعالیت‌های میکروبی نیز در داخل خاکدانه‌ها صورت گیرد (حجتی و نوربخش ۲۰۰۹). اعمال مدیریت‌های مختلف شامل انواع سیستم‌های خاک ورزی، به کار بردن کود

های آلی و معدنی مختلف، مدیریت‌های متفاوت کاشت محصولات و غیره بر روند خاکدانه‌سازی موثر است (سیکس و همکاران ۲۰۰۴). کیانی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند تبدیل جنگل‌های زاگرس به اراضی کشاورزی می‌تواند پایداری خاکدانه را تا یک سوم مقدار اولیه و مقدار ماده آلی خاک را تا ۶۶ درصد کاهش دهد. اکنلر و طباطبایی (۲۰۰۴) نوع سیستم خاک ورزی را بر فعالیت آنزیم‌های آریل آمیداز، ال-آسپاراجیناز، ال-گلوتامیناز و اوره‌آز موثر دانستند به طوری که فعالیت این آنزیم‌ها تحت تیمار بدون شخم با افزایش عمق، کاهش می‌یابد. کاهش یافتن فعالیت میکروبی و آنزیمی با افزایش عمق به همراه کاهش یافتن ماده آلی و کاهش خاکدانه‌سازی گواه این ادعاست که آنزیم‌های خاک برای محفوظ ماندن از حمله پروتئازهای خاک یا برای پایدار شدن به خاکدانه‌ها احتیاج دارند. جمعیت میکروبی به سطوح داخلی و خارجی خاکدانه متصل شده، یا در منافذ ریز درون خاکدانه پناه می‌گیرند (بسویت و همکاران ۲۰۰۱). حجتی و نوربخش (۲۰۰۹) فعالیت آنزیم β -گلوکوزیداز و کربن آلی را در درشت خاکدانه‌ها بیش‌تر از ریز خاکدانه‌ها گزارش کردند. فنسلر و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت دو آنزیم از چرخه کربن، β -گلوکوزیداز و ان-استیل- β -گلوکوز آمینیداز را در درشت خاکدانه‌های مرتع احیا شده بیش‌تر از مرتع طبیعی و زمین کشاورزی گزارش کردند. آنزیم‌های مهم خاک که در چرخه نیتروژن فعالیت دارند، عمدتاً از خانواده هیدرولازها و ندرتاً از خانواده لیازها هستند، این آنزیم‌ها نیتروژن موجود در خاک را از قالب ملکول‌های آلی، معدنی کرده و ابتدا به صورت یون آمونیوم در خاک آزاد می‌کنند. آنزیم ال-آسپاراجیناز (EC 3.5.1.1)، کاتالیزوری واکنش هیدرولیز ال-آسپاراجین به ال-آسپارتیک اسید و آمونیوم را بر عهده داشته و اوره‌آز (EC 3.5.1.5)، نقش مشابهی را برای هیدرولیز اوره به دی اکسید کربن و آمونیوم بازی می‌کند. آنزیم ال-گلوتامیناز (EC 3.5.1.2)، نیز هیدرولیز ال-گلوتامین به ال-گلوتامیک اسید و آمونیاک را انجام می‌دهد (طباطبایی ۱۹۹۴). با توجه به مطالعات انجام شده، محدودیت اطلاعات در مورد توزیع خاکدانه‌ای آنزیم‌های چرخه نیتروژن نویسندگان مقاله حاضر را بر آن داشت تا به بررسی (۱) چگونگی پراکنش فعالیت اوره‌آز، ال-گلوتامیناز و ال-آسپاراجیناز درون خاکدانه‌ها و (۲) تاثیر پذیری توزیع خاکدانه‌ای آنزیم‌ها از تغییر کاربری در اکوسیستم‌های جنگلی بپردازند.

مواد و روش‌ها

معرفی مناطق نمونه‌برداری

نمونه‌برداری خاک از دو اکوسیستم جنگلی مختلف انجام گرفت، در هر اکوسیستم دو وضعیت متفاوت کاربری یا دو پوشش گیاهی غالب مورد بررسی قرار گرفت. منطقه (۱) جنگل گیسوم، در استان گیلان واقع شده است. دو پوشش جنگلی کاج و افرا مورد مطالعه قرار دارد. گیسوم با پوشش گیاهی غالب کاج (*Pinus eldarica*)، ارتفاع ۶/۱- متر از سطح دریا و پوشش گیاهی

غالب افرا (*Acer Pseudopratanus*) با طول جغرافیایی $49^{\circ}1'E$ و عرض جغرافیایی $37^{\circ}40'N$ و ارتفاع ۹/۵ متر از سطح دریا مورد نمونه برداری قرار گرفت. (۲) اکوسیستم جنگلی دلورا در لردگان استان چهارمحال بختیاری می باشد. منطقه لردگان ۱۵۰۰۰ هکتار است که ۵۵ درصد آن از جنگل پوشیده شده است (حاج عباسی و همکاران ۱۹۹۷). در این منطقه نیز دو وضعیت کاربری متفاوت شامل جنگل دست نخورده بلوط (*Quercus brantii Lindl*) و جنگل تخریب شده بلوط به زمین کشاورزی با کشت گندم (*Triticum aestivum L.*)، مورد بررسی قرار گرفت. طول جغرافیایی منطقه $51^{\circ}10'E$ و عرض جغرافیایی آن $31^{\circ}19'N$ و ارتفاع ۲۰۹۷ متر از سطح دریا است. در دو اکوسیستم فوق، از هر کاربری یا پوشش گیاهی از لایه ۱۵-۰ سانتی متری سه نمونه مرکب که هر یک شامل ۱۵ نمونه می باشند، تهیه شد. پس از نمونه برداری، در هر یک از نمونه های مرکب، ابتدا کلوخه های بزرگ به قطعات کوچک تر حدوداً با قطر ۱/۵ سانتی متر تبدیل شدند، سپس خاک ها به مدت یک هفته در دمای اتاق هوا خشک شده و برای انجام آزمایش به آزمایشگاه منتقل شدند. بافت خاک به روش پییت، اندازه گیری شد (گی و همکاران ۱۹۸۶). آهک به روش تیتراسیون برگشتی با سود، هدایت الکتریکی و pH در سوسپانسیون ۱:۲ خاک به آب توسط دستگاه هدایت سنج و pH متر اندازه گیری شدند. کربن آلی به روش سوزاندن تر اندازه گیری شد (نیلسون و سامرز ۱۹۹۶).

جداسازی خاکدانه ها

برای جداسازی خاکدانه ها از روش الک تر استفاده شد (جاسترو و همکاران ۱۹۹۶). الک های به کار برده شده با مش ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱ میلی متر بوده، در نتیجه خاکدانه های جدا شده به ترتیب $2 > 1-2$ ، $1-0.5$ ، $0.5-0.25$ و $0.25-0.1$ می باشند و خاکدانه های کوچک تر از ۰/۱ که از دست می روند، در محاسبات قرار نمی گیرند.

اندازه گیری فعالیت آنزیم ها

فعالیت آنزیم های مورد نظر به روش زیر در خاکدانه های مختلف اندازه گیری می شود:

فعالیت آنزیم آل-آسپاراجیناز و آل-گلوتامیناز توسط روش فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۹۹۱a,b)، فعالیت اوره آز از روش طباطبایی و برمنر (۱۹۷۲) تعیین شد. مقدار آمونیوم آزاد شده در سوسپانسیون به روش تقطیر با بخار آب تعیین و پس از کسر نمودن مقدار آمونیوم از تیمار شاهد بر حسب $mg\ NH_4^+-N\ kg^{-1}\ h^{-1}$ (میلی گرم آمونیوم آزاد شده از هر کیلو گرم خاک در ساعت) گزارش شد.

آنالیز آماری

این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین به روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد درون هر منطقه و تنها بین دو کاربری هر یک از اکوسیستم ها و نیز بین کلاس های مختلف اندازه خاکدانه انجام گرفت. تجزیه واریانس و مقایسات میانگین با استفاده از نرم افزار SAS و STATISTIX، انجام شد.

نتایج و بحث

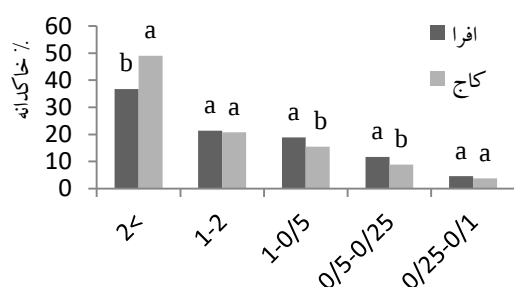
بیشترین مقدار کربن آلی اندازه گیری شده (40 g kg^{-1})، مربوط به جنگل گیسوم است که علت آن شرایط آب و هوایی و پوشش گیاهی متفاوت می باشد. جنگل دلورا به دلیل واقع شدن روی مواد مادری آهکی، بیشترین مقدار آهک را به خود اختصاص داده است. خاک های مورد مطالعه از لحاظ شوری در خاک های غیر شور طبقه بندی می شوند (جدول ۱).

جدول ۱- مشخصات خاک های مورد مطالعه.

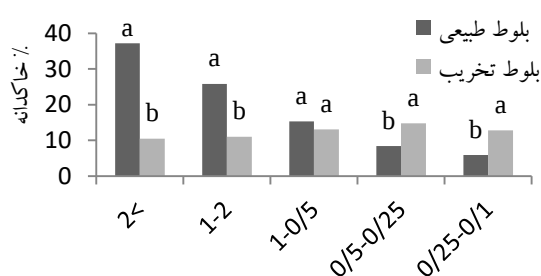
منطقه نمونه برداری	بافت خاک	pH	EC (dS m^{-1})	آهک (g kg^{-1})	کربن آلی (g kg^{-1})
جنگل گیسوم	لوم رسی سیلتی	۶/۹	۰/۲۹	۲۷/۵	۴۰
جنگل دلورا	لوم رسی	۷/۸	۰/۲۲	۴۷۲	۱۸/۵

الف) توزیع اندازه خاکدانه ها در اکوسیستم های مورد بررسی

در جنگل گیسوم، با جداسازی خاکدانه ها به روش الک مرطوب، درصد جرمی مربوط به هر خاکدانه اندازه گیری شد. در هر دو کاربری جنگل افرا و جنگل کاج، با کاهش اندازه خاکدانه، درصد آن ها نیز کاهش می یابد (شکل ۱). درصد درشت خاکدانه ها (>2) به طور معنی داری بیش تر از بقیه گروه های خاکدانه ای می باشد. بین دو کاربری جنگل گیسوم به غیر از خاکدانه های ۱-۲ و >2 میلی متر، بین تمام اندازه های خاکدانه ای تفاوت معنی دار دیده شد. در همه اندازه های خاکدانه ای، به غیر از خاکدانه های >2 میلی متر، درصد خاکدانه در کاربری جنگل افرا بیشتر از جنگل کاج است (شکل ۱). درصد بالاتر درشت خاکدانه ها در کاربری جنگل کاج ناشی از وجود ماده آلی بیش تر در خاک سطحی این جنگل است.



شکل ۱) توزیع اندازه خاکدانه در جنگل گیسوم



شکل ۲) توزیع اندازه خاکدانه در جنگل بلوط دلورا

(میانگین های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند).

در جنگل دلورا با پوشش بلوط، با افزایش اندازه خاکدانه ها، درصد آن ها نیز افزایش یافته است. اما با تخریب جنگل و تبدیل آن به زمین کشاورزی روند بر عکس شده و با افزایش اندازه خاکدانه درصد آن ها کاهش می یابد. بین دو کاربری در این اکوسیستم

جنگلی بین تمام اندازه های خاکدانه به غیر از خاکدانه های ۵/۰-۱ میلی متر، تفاوت معنی دار دیده می شود (شکل ۲). مطالعات قبلی در جنگل های تخریب شده بلوط لردگان افزایش ۲۰ درصدی در وزن مخصوص ظاهری و کاهش ۵۵ درصدی در خاکدانه های پایدار در آب را گزارش کرده است (حاج عباسی و همکاران ۱۹۹۷). در واقع خاک ورزی از مهم ترین مواردی است که باعث کاهش مقدار و پایداری خاکدانه می شود، مخصوصاً زمانی که اکوسیستم های طبیعی به کشاورزی تبدیل می شوند (آلیسون و همکاران ۲۰۰۶). بیان شده است که در پوشش طبیعی جنگل نسبت به جنگل تخریب شده، مقدار درشت خاکدانه ها از ریز خاکدانه ها بیش تر است. زیرا ریشه و شرایط خاکی جنگل، از خاکدانه محافظت می کند (آن و همکاران ۲۰۱۰). در بررسی تأثیر ریشه گندم بر خاکدانه سازی، گزارش شده است که نفوذ ریشه باعث کاهش درصد درشت خاکدانه ها و افزایش ریز خاکدانه ها می شود. ساختار ریشه مانند انشعابات ریشه ای و ضخامت ریشه ها می تواند تعیین کننده تأثیر نفوذ ریشه بر خاکدانه باشد (دنف و همکاران ۲۰۰۲).

ب) فعالیت های آنزیمی

پس از جداسازی خاکدانه ها و هوا خشک کردن آن ها فعالیت سه آنزیم مورد نظر و مقدار کربن آلی در تمام اندازه های خاکدانه ای اندازه گیری شد. با انجام آنالیز واریانس هر یک از مناطق به طور جداگانه، اثرات مدیریت های مختلف و خاکدانه های مختلف و اثر متقابل آن ها بر فعالیت آنزیمی بررسی شد (جدول ۲). تمام داده های فعالیت آنزیمی و کربن آلی پس از اعمال کسر جرمی خاکدانه ها، گزارش شده است.

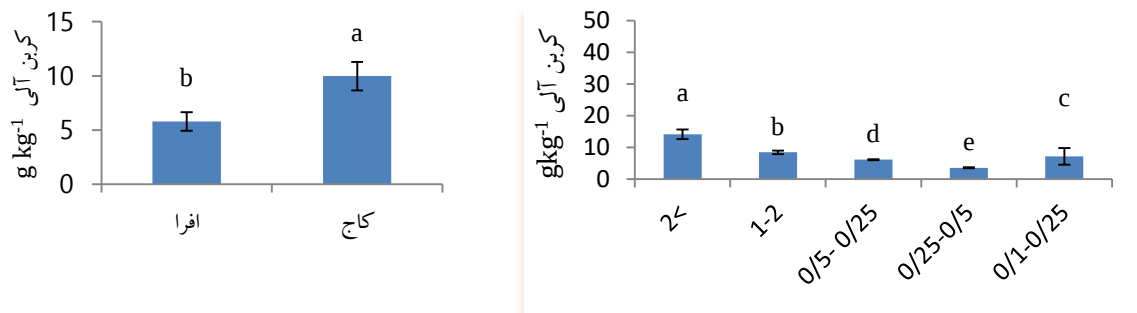
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر مدیریت و اندازه خاکدانه بر فعالیت های آنزیمی

منطقه مورد مطالعه	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
			اوره آز	ال-گلو تامیناز	ال-آسپارژیناز	کربن آلی
جنگل گیسوم	مدیریت	۱	۰/۰۱۷ ^{ns}	۶۴ ^{ns}	۱۷/۵ ^{***}	۱۳۱ ^{**}
	خاکدانه	۴	۱۰۰ ^{***}	۶۵۰۱ ^{***}	۱۰۱/۵ ^{***}	۹۲ ^{***}
	مدیریت×خاکدانه	۴	۵ ^{***}	۱۷۷ ^{***}	۲/۵ ^{***}	۳۶ ^{***}
جنگل دلورا	مدیریت	۱	۳۷۲ ^{***}	۷۳۸۳ ^{***}	۱۲۷ ^{***}	۱۰۰ ^{***}
	خاکدانه	۴	۷۸ ^{***}	۱۱۸۴ ^{***}	۱۶ ^{***}	۱۸ ^{***}
	مدیریت×خاکدانه	۴	۹۲ ^{***}	۹۶۵ ^{***}	۱۸ ^{***}	۱۹/۴ ^{***}

ns, **, *** و به ترتیب بیانگر عدم اختلاف معنی دار و اختلاف معنی دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ است.

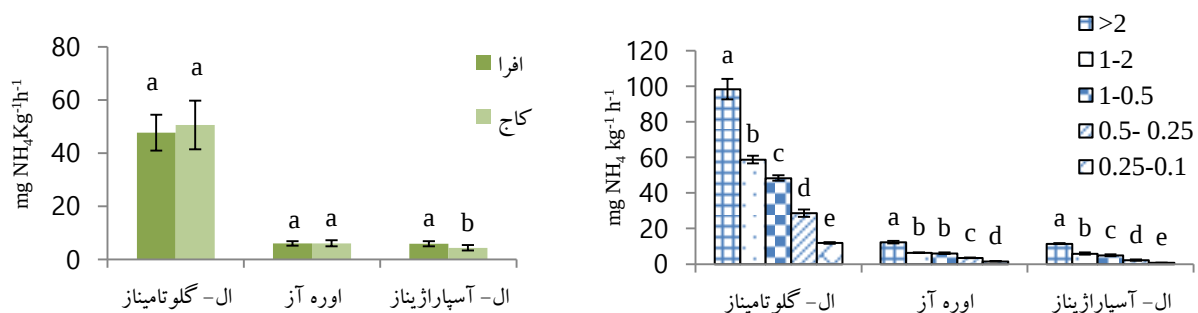
در جنگل گیسوم دو کاربری کاج و افرا از لحاظ مقدار کربن آلی با یکدیگر تفاوت معنی دار نشان دادند. با توجه به شکل ۳ مشاهده می شود مقدار کربن آلی در جنگل کاج بیش تر از جنگل افرا است. جنگل کاج به این دلیل که دارای مواد آلی لیگنینی با

ماهیت خشیی است، میزان C/N در بقایای آن (131 g kg^{-1}) نسبت به بقایای جنگل افرا (66 g kg^{-1}) بالاتر است (نوربخش و دیک ۲۰۰۵). بالا بودن C/N بقایا باعث تحریک فعالیت قارچ‌ها می‌شود (سارکویز و همکاران ۲۰۰۴). باس و همکاران (۲۰۰۹) معتقدند که اگر نسبت جمعیت قارچ به باکتری بیش‌تر باشد (جنگل کاج)، تغییر و تحول کربنی آهسته‌تر صورت می‌گیرد به عبارت دیگر ذخیره کربنی در خاک افزایش می‌یابد.



شکل ۴- توزیع خاکدانه‌های کربن آلی در جنگل گیسوم
شکل ۳- اثر کاربری بر کربن آلی در جنگل گیسوم
(میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

اندازه‌گیری مقدار کربن آلی در خاکدانه‌های جنگل گیسوم، حاکی از این است که خاکدانه‌های >2 بیش از بقیه گروه‌ها، حاوی کربن آلی است (شکل ۴). به اعتقاد جان و همکاران (۲۰۰۵) با کاهش اندازه خاکدانه، تجزیه ماده آلی افزایش می‌یابد و کربن موجود در خاکدانه‌های درشت کم‌تر تجزیه یافته و نسبت به کربن موجود در خاکدانه‌های ریز تازه‌تر می‌باشد. همچنین گزارش کردند با کاهش اندازه خاکدانه، میزان کربن آلی نیز کاهش می‌یابد. در اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در دو کاربری جنگل گیسوم مشاهده شد، فعالیت اوره آز و ال- گلوتامیناز در دو کاربری جنگل کاج و افرا تفاوت معنی‌داری ندارند، اما فعالیت آنزیم ال- آسپاراژیناز در جنگل افرا بیش‌تر از جنگل کاج است (شکل ۵). این موضوع مستقیماً به کمیت و کیفیت ماده آلی بر می‌گردد. تارتار (۲۰۱۰) نیز غلظت نیتروژن معدنی در خاک جنگل گیسوم با کاربری افرا را بیش‌تر از کاربری کاج گزارش کرد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در خاکدانه‌های جنگل گیسوم نشان می‌دهد هر یک از اندازه‌های خاکدانه‌ای اختلاف معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌ها دارند به طوری که فعالیت هر سه آنزیم در خاکدانه‌های درشت بیش‌تر از خاکدانه‌های ریز است (شکل ۶).



شکل ۶) توزیع خاکدانه ای آمیدو هیدرولاز ها در جنگل گیسوم (شکل ۵) اثر کاربری بر فعالیت آنزیم ها در جنگل گیسوم در مطالعات فوسلر و همکاران (۲۰۰۵)، حجتی و نوربخش (۲۰۰۹) فعالیت آنزیم β -گلوکوزیداز در درشت خاکدانه ها، بیشتر از ریز خاکدانه ها گزارش شد. خاک های جنگلی به دلیل داشتن شرایط مناسب محیطی و ریشه ای دارای خاکدانه های قوی هستند. وجود مقادیر بیش تر کربن آلی ذره ای در درشت خاکدانه ها، به دلیل فراهم کردن کربن و انرژی برای جامعه میکروبی، باعث افزایش فعالیت های بیولوژیک خاک و تولید آنزیم بیش تر می شود (خرسندی و نوربخش ۲۰۰۷). با توجه به جدول ۲ اثر متقابل مدیریت و خاکدانه در مورد هر سه آنزیم و کربن آلی بسیار معنی دار است. پس هم مدیریت جنگل و هم اندازه خاکدانه بر فعالیت آنزیم ها اثر زیادی دارند. در جنگل افرا فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز فقط در خاکدانه های $2 >$ و $0.5 - 0.25$ تفاوت معنی دار نشان می دهد (جدول ۳). اما در جنگل کاج فعالیت این آنزیم در سه گروه خاکدانه ای $1 - 0.5$ و $0.5 - 0.25$ و $2 >$ میلی متر تفاوت معنی دار نشان می دهد. بیش ترین فعالیت در گروه خاکدانه ای $1 - 0.5$ میلی متر کاربری کاج مشاهده شد. با توجه به این که جنگل کاج دارای موادی با لیگنین زیاد است می تواند جایگاه مناسبی برای قارچ های ساپروفیتی به حساب آید. این در حالی است که آنزیم ال-گلوتامیناز بیش ترین فعالیت را در کاربری کاج دارد. پس شاید بتوان گفت در این اکوسیستم، ال-گلوتامیناز بیش تر منشأ قارچی دارد. مهم ترین قارچ های تولید کننده این آنزیم *Penicillium* *Tilachlidium humicola*, *Verticillium malthousei* *urticae* هستند (فرانکنبرگر و طباطبایی ۱۹۹۱b).

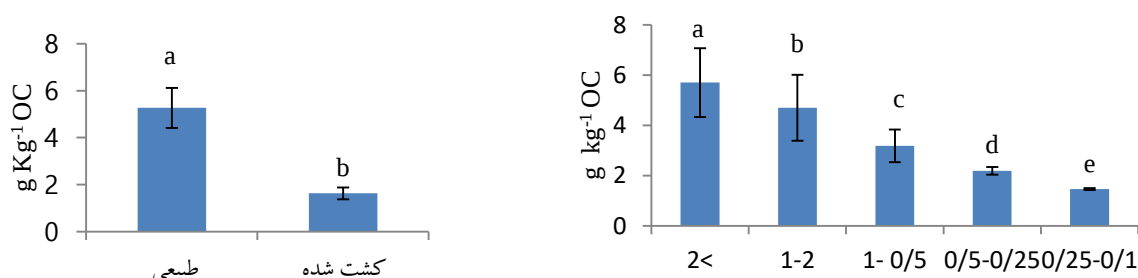
جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل کاربری و اندازه خاکدانه بر آنزیم ال-گلوتامیناز ($\text{mg NH}_4^+ - \text{N kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) در جنگل گیسوم

کاربری	اندازه خاکدانه ها (mm)				
	$2 >$	$1 - 2$	$0.5 - 1$	$0.25 - 0.5$	$0.1 - 0.25$
افرا	239^{cd}	263^{bc}	258^{bcd}	278^{ab}	277^{abc}
کاج	221^d	295^{ab}	310^a	272^{bc}	293^{ab}

میانگین های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

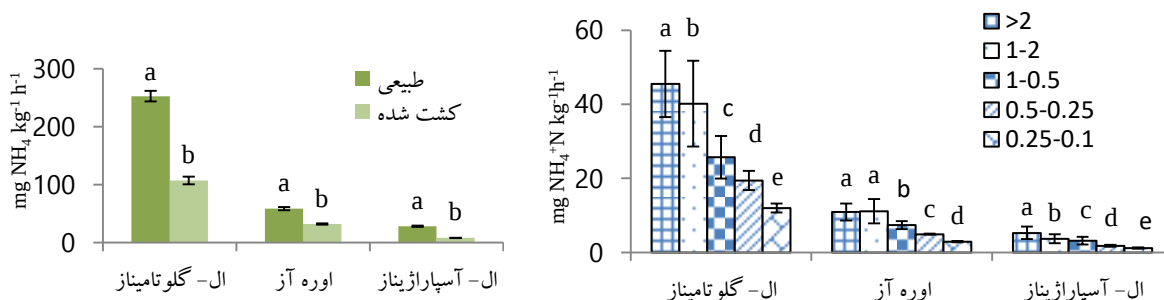
در بررسی مقدار کربن آلی در جنگل دلورا، کاربری بلوط طبیعی بیش ترین میزان ماده آلی را نسبت به کاربری دیگر یعنی جنگل تخریب شده و زیر کشت گندم، نشان داد (شکل ۷). جنگل بلوط با داشتن درشت خاکدانه ها از ماده آلی حفاظت می کند. اما جنگل تراشی و عملیات شخم باعث افزایش سرعت تجزیه و از دست رفتن کربن می شود. طبق نظر سیکس (۲۰۰۰) سیستم بدون خاک ورزی نسبت به خاک ورزی سنتی، باعث کمتر شدن سرعت تشکیل و تخریب خاکدانه های درشت می شود، همچنین خاکدانه های ریز پایدار می شوند و کربن داخل آن ها حفظ می شود. در بررسی توزیع کربن آلی داخل خاکدانه ها مشخص شد،

کربن آلی روند مشخصی را در خاکدانه‌ها طی می‌کند به این صورت که با افزایش اندازه خاکدانه، کربن آلی نیز افزایش می‌یابد (شکل ۸).



شکل ۸- توزیع خاکدانه ای کربن آلی در جنگل دلورا
شکل ۷ اثر کاربری بر کربن آلی در جنگل دلورا
(میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

طبق مدل سلسله مراتبی تشکیل خاکدانه، خاکدانه‌های درشت از گردهمایی خاکدانه‌های ریز تشکیل شده‌اند. ذرات ورودی ماده آلی به درشت خاکدانه‌ها تجزیه شده و به ذرات خیلی ریز تبدیل می‌شوند و درون خاکدانه‌های ریز که داخل درشت خاکدانه‌ها هستند تمرکز پیدا می‌کنند و از ذرات ماده آلی دیگر که وارد درشت خاکدانه می‌شوند، قدمت بیش‌تری دارند. به این صورت است که غلظت ماده آلی با افزایش درشت خاکدانه‌ها، افزایش می‌یابد (تیس‌دال و ادز ۱۹۸۲). افزایش کربن آلی با افزایش اندازه خاکدانه، توسط پوگت و همکاران (۱۹۹۹)، سیکس و همکاران (۲۰۰۰)، لگاتو و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش شده است. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در جنگل بلوط، تفاوت بین دو کاربری را به وضوح نشان می‌دهد. هر سه آنزیم در دو کاربری این جنگل دارای اختلاف معنی‌دار هستند و بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم‌ها مربوط به جنگل بلوط طبیعی است (شکل ۹).



شکل ۱۰- توزیع خاکدانه ای آمیدوهیدرولازها در جنگل دلورا
شکل ۹ اثر کاربری بر فعالیت آنزیم‌ها در جنگل دلورا
(میانگین‌های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند).

نوربخش (۲۰۰۷) کاهش شدید فعالیت آنزیم ال-آسپاراژیناز را در جنگل‌های بلوط تخریب گزارش کرد. پر واضح است که فعالیت آنزیم‌ها به دنبال افزایش کربن آلی اتفاق می‌افتد و کربن آلی به دنبال مدیریت مناسب افزایش می‌یابد. در مدیریت‌های کشت و کار که شخم و تهیه بستر جز لاینفک آن است، عملیات خاک ورزی و زیر و رو کردن خاک، عامل اصلی تخریب

خاکدانه ها و کاهش کربن آلی محسوب می شود (سیکس و همکاران ۲۰۰۴). اندازه گیری آنزیم ها داخل خاکدانه های جنگل بلوط لردگان نشان می دهد، فعالیت هر سه آنزیم در درشت خاکدانه ها، بیش تر از ریز خاکدانه ها است و با کاهش اندازه خاکدانه کاهش می یابد (شکل ۱۰) که دلیل این مطلب، کاهش یافتن ماده آلی با کاهش اندازه خاکدانه ها است (شکل ۸). در جدول ۲ اثر متقابل مدیریت و خاکدانه برای هر سه آنزیم و کربن آلی معنی داری زیادی نشان می دهد. با توجه به جدول ۴ فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز در جنگل بلوط طبیعی بیش ترین مقادیر را در درشت خاکدانه ها (> 2) نشان می دهد. فعالیت به صورت روندی منظم با کاهش اندازه خاکدانه، کاهش می یابد. در جنگل تخریب شده بلوط بین هیچ کدام از گروه های خاکدانه ای تفاوت معنی داری دیده نشد و همه در یک محدوده، فعالیت آنزیم ال-گلوتامیناز را نشان دادند. دو آنزیم اوره آز و ال-آسپاراجیناز نیز روندی مشابه آنزیم ال-گلوتامیناز نشان دادند. احتمالاً کاهش در فعالیت آنزیم ها در مرتع تخریب، مربوط به عملیات کشت و کار است، ساختمان خاک (خاکدانه ها) که نقش مهمی در حفاظت فیزیکی ماده آلی بازی می کند، اگر به هر علتی تخریب شود، آن خاک دچار بحران بیولوژیک خواهد شد (برونیک و لال ۲۰۰۵).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل مدیریت و اندازه خاکدانه بر آنزیم ال-گلوتامیناز ($\text{mg NH}_4^+ - \text{N kg}^{-1} \text{h}^{-1}$) در جنگل دلورا

کاربری	اندازه خاکدانه ها (mm)				
	> 2	۲-۱	۱-۰/۵	۰/۵-۰/۲۵	۰/۲۵-۰/۱
طبیعی	۲۰۹ ^c	۲۵۴ ^b	۲۵۱ ^b	۲۹۹ ^a	۲۵۲ ^b
کشت نشده	۱۳۴ ^d	۱۳۵ ^d	۱۰۰ ^e	۹۳ ^e	۷۴ ^e

میانگین های دارای حروف مشترک در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند.

ج) همبستگی آنزیم ها و کربن آلی

با توجه به جدول ۵ همبستگی های بسیار معنی داری بین آنزیم ها و کربن آلی به دست آمده است. همبستگی قوی این آنزیم ها با کربن آلی نشان دهنده آن است که هر سه آنزیم دارای تمایل قوی برای برقراری پیوند با بخش آلی خاک می باشند. نتایج همبستگی این مطالعه با نتایج به دست آمده توسط فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۹۹۱ a,b)، مشابه بوده و حاکی از این است که مکان استقرار این آنزیم ها، بر سطح کلونید های آلی خاک می باشد. توان شدید سطوح کلونید های آلی برای جذب سطحی و غیر پویا شدن آنزیم ها روی سطوح آلی ابتدا به وسیله برنز (۱۹۷۲) برای آنزیم اوره آز کشف شد، لیکن پس از آن برای سایر آمیدو هیدرولازها از قبیل ال-آسپاراجیناز، ال-گلوتامیناز و آمیداز تأیید گردید. بنابراین از آنجا که کربن آلی خاک شاخص حضور و فراوانی کلونید های خاک است، با افزایش کربن آلی، امکان حضور نسبتاً پایدار ملکول های آنزیم در خاک افزایش می یابد (برنز و همکاران ۱۹۷۲). با توجه به نتایج به دست آمده از همبستگی های قوی بین فعالیت آنزیم ها با یکدیگر و با کربن آلی در

داخل خاکدانه‌ها و نتایج مطالعات قبلی در کل خاک، نتیجه می‌شود رفتار این آنزیم‌ها در خاک توسط عوامل مشابهی کنترل می‌شود.

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین آنزیم‌ها و کربن آلی درمجموع دو کاربری طبیعی (پایین قطر)، درمجموع دو کاربری تخریب (بالای قطر).

Urea	L-Asp	L-Glu	OC	
۰/۴۶**	۰/۷۹***	۰/۷۸***	۱	OC
۰/۷۲***	۰/۹۵***	۱	۰/۹۷***	L-Glu
۰/۷۸***	۱	۰/۹۷***	۰/۹۷***	L-As
۱	۰/۶۱***	۰/۶۵***	۰/۷۱***	Urea

** و *** بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱، OC کربن آلی، Urea آنزیم اوره آز، L-Glu آنزیم ال-گلوتامیناز، L-As آنزیم ال-آسپاراژیناز.

نتیجه گیری

به طور کلی تخریب اکوسیستم‌های جنگلی و مدیریت نادرست و غیر اصولی باعث از دست رفتن ساختمان خاک می‌شود که تمام ویژگی‌های خاک را تحت الشعاع خود قرار می‌دهد. با تغییر مدیریت و وقوع تخریب در درشت خاکدانه‌ها، توزیع فعالیت آنزیم‌ها در خاک دچار تغییر شده و ممکن است سهم کلاس‌های مختلف خاکدانه را در فعالیت آنزیم‌ها برابر کند و یا حتی سهم ریز خاکدانه‌ها را بر درشت خاکدانه‌ها افزونی بخشد، که در نهایت شاهد کاهش ماده آلی و کاهش باروری اکوسیستم‌ها خواهیم بود.

- 1- Allison, S. D., and Jastrow, J. D. 2006. Activities of extracellular enzymes in physically isolated fractions of restored grassland soil. *Soil Biol. Biochem.* 38: 3245-3256.
- 2- An, S., Mentler, A., Mayerand, H., Blum, W. E. H. 2010. Soil aggregation, aggregate stability, organic carbon and nitrogen in different soil aggregate fractions under forest and shrub vegetation on the loess Plateau, China. *Catena*. 81: 226- 233.
- 3- Bossuyt, H., Denef, K., Six, J., Frey, S. D., Merckx, R., Paustian, K. 2001. Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Appl. Soil Ecol.* 16: 195- 208.
- 4- Bronick , C. J., and Lal, R. 2005. Soil structure and management. *Geoderma*. 124: 3- 22.
- 5- Burns, R. G., Pukit, A. H., McLaren, A. D. 1972. Concerning the location and persistence of soil urease. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36: 308- 311.
- 6- Busse, M. D., Sanchez, F. G., Ratcliff, A. W. 2009. Soil carbon sequestration and changes in fungal and bacterial biomass following incorporation of forest residues, *Soil Biol. Biochem.* 41: 220- 227.
- 7- Denef, K., Six, J., Merckx, R., Paustian, K., 2002. Short-term effects of biological and physical forces on aggregate formation in soils with different clay mineralogy. *Plant Soil* 246, 185–200.
- 8- Ekenler, M., and Tabatabai, M. A. 2004. Arylamidase and amidohydrolases in soil as affected by liming and tillage systems. *Soil Till. Res.* 77: 157-168.
- 9- Fansler, S. J., Smith, J. L., Bolton, Jr. H., Bailey, V. L. 2005. Distribution of two C cycle enzymes in soil aggregates of a prairie chronosequence. *Biol. Fertil. Soils.* 42: 17-23.
- 10- Frankenberger, Jr., and Tabatabai, M. A. 1991a. Factors affecting L-asparaginase activity in soils. *Biol. Fertil. Soils.* 11: 1-5.
- 11- Frankenberger, Jr., and Tabatabai, M. A. 1991b. Factors affecting L-glutaminase activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 23: 875-879.
- 12- Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and Mineralogical Methods.* Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI. Pp: 383–411.
- 13- Hajabbasi, M. A., Jalalian, A., Karimzadeh, H. R., 1997. Deforestation effects on soil physical and chemical properties, Iordegan, Iran. *Plant. Soil.* 190: 301- 308.
- 14- Hojati, S., and Nourbakhsh, F. 2009. Distribution of β -Glucosidase activity within aggregates of a soil amended with organic fertilizers. *Am. J. Agri. Biol.Sci.* 4: 179-186.
- 15- Jastrow, J. D., Boutton, T.W. Miller, R.M. 1996. Carbon dynamics of aggregate-associated organic matter estimated by carbon-13 natural abundance, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60: 801-807.
- 16- John, B., Yamashita, T., Ludwig, B., Flessa, H. 2005. Storage of organic carbon in aggregate and density fractions of silty soils under different type of land use. *Geoderma*, 128: 63- 79.
- 17- Khorsandi, N., and Nourbakhsh, F. 2007. Effect of amendment of manure and corn residues on soil N mineralization and enzyme activity. *Agron. Sustain.* 27: 139- 143.

- 18- Kiani, F., Jalalian, A., Pashai, A., Khademi, H. 2007. Effect of deforested and conservation and destroy rangeland on quality soil indices. *Water and soil sci.* 41: 453- 463.
- 19- Lugato, E., Simonetti, G., Morari, F., Nardi, S., Berti, A., Giardini, L. 2010. Distribution of organic and humic carbon in wet- sieved aggregates of different soils, *Geoderma*. 157: 80- 85.
- 20- Nelson, D.W., Sommers, L.E., 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Sparks, D.L. (Ed.), *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI, pp. 437– 474.
- 21- Nourbakhsh, F. 2007. Decoupling of soil biological properties by deforestation. *Agri. Ecosys. Environ.* 121: 435- 438.
- 22- Nourbakhsh, F., and Dick, R. P. 2005. Net nitrogen mineralization or immobilization potential in a residue-amended calcareous soil. *Arid Land Res. Manag.* 19: 299-306.
- 23- Puget, P., Angers, D. A., Chenu, C. 1999. Nature of carbohydrates associated with water- stable aggregates of two cultivated soils. *Soil Biol. Biochem.* 31: 55- 63.
- 24- Sarquis, M., Oliveira, E. M., Santos, A. S., Costa, G. L. 2004. Production of l-asparaginase by Filamentous fungi. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol. 99(5): 489-492.
- 25- Six, J., Elliott, E.T., Paustion, K. 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation. *Soil Biol. Biochem.* 32: 2099- 2103.
- 26- Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K. 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota and soil organic matter dynamics, *Soil Till. Res.* 79: 7- 31.
- 27- Tabatabai, M. A., and Bremner, J. M. 1972. Assay of urease activity in soils, *Soil Biol. Biochem.* 4: 479- 486.
- 28- Tabatabai, A. M. 1994. Soil Enzymes. In: Weaver et al . *Methods of Soil Analysis*. Madison, WI, USA. Pp: 775-826
- 29- Tartar, N. 2010. Distribution of organic and solution nitrogen in forestall ecosystems. MSc Thesis of Agronomy. Department of Agriculture. Isfahan university of technology, Iran.
- 30- Tisdall, J.M., and Oades, J.M. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33: 141–163.
- 31- Titi, El. A. 2003. *Soil Tillage in Agroecosystems*. first Edition., Crc press llc USA.

Aggregate distribution of soil amidohydrolases in different land use of forestal ecosystems

Abstract

The location of extracellular enzymes with the soil architecture and their association with the various soil components affects their catalytic potential. Amidohydrolases including L- glutaminase, L- asparaginase, Urease, Amidase and L-aspartase play important roles in mineralization of nitrogen. This study was conducted to: investigate aggregate distribution of L- glutaminase, L- asparaginase and Urease in different ecosystems including Gisum forest, Delvara forest. A wet sieving procedure was used to separate soil aggregate into classes of >2, 2- 1, 1- 0.5, 0.5- 0.25 and 0.25- 0.1; Soil amidohydrolases which are thought to be of different origins were measured in the separated aggregates as well as soil organic C (SOC). Results indicated that in the Gisum forest, pine standing has resulted in increasing SOC content. Moreover, The activity of L- glutaminase and Urease were similar in the both standings, but the activity of L- asparaginase was greater in the maple standing compared to the pine standing. The enzyme activities enhanced as the aggregate size increased in both pine and maple standings. In the Delvara oak forest, the enzyme activities showed to be highly sensitive to management practices, while enzyme activities and organic carbon decreased significantly as cultivation practiced in the Delvara ecosystem. This study showed that soil management practices, including tillage would enhance the mass fraction of either small macroaggregate or microaggregates and therefore would significantly affect soil biological and biochemical properties, which may lead to changes in nitrogen cycling, including N mineralization in soil aggregates.

Key words

Enzymes in aggregate, Management and land use , L-Glutaminase, L-Asparaginase, Urease