تأثیر برخی از ویژگی‌های خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در شماری از خاک‌های استان اصفهان

فرشید نوربخش[۱]، شاپور حاج رسولیها[۱] و گیتی امتیازی[۲]

چکیده

شدت فعالیت آنزیم اوره‌آز نقش مهمی در کاربرد مؤثر کود اوره و ارزیابی آسیب‌های بالقوه زیست محیطی دارد. در این پژوهش فعالیت آنزیم اوره‌آز در ۲۰ خاک گوناگون از مناطق خشک و نیمه خشک استان اصفهان اندازه‌گیری شد، تا هم‌بستگی آن با برخی از ویژگی‌های مهم فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک تعیین گردد. نمونه‌برداری از خاک به دو روش استریل و غیراستریل انجام شد، و ویژگی‌های مورد نظر در آنها معین گردید. دامنه فعالیت آنزیم اوره‌آز برای خاک‌های مورد بررسی ۵/۳-۷۹/۲ میکروگرم آمونیوم آزاد شده به ازای یک گرم خاک، در دو ساعت انکوباسیون تعیین شد.

نتایج حاصل از بررسی هم‌بستگی‌های خطی نشان داد که از میان ویژگی‌های خاک، درصد کربن آلی با فعالیت آنزیم اوره‌آز بیشترین هم‌بستگی را دارد ($r=0/899^{***}$). میان فعالیت آنزیم اوره‌آز و درصد هیچ یک از ذرات شن، سیلت و رس هم‌بستگی معنی‌داری دیده نشد. فعالیت آنزیم اوره‌آز و درصد نیتروژن کل خاک هم‌بستگی بسیار معنی‌داری با یکدیگر داشتند ($r=0/797^{***}$). هم‌چنین، فعالیت اوره‌آز با هدایت الکتریکی عصاره اشباع نیز به طور معکوس هم‌بستگی معنی‌دار نشان داد ($r=-0/499^{*}$)، لیکن با نسبت جذب سدیم (SAR)، pH، درصد آهک و ظرفیت تبادل کاتیونی هم‌بستگی معنی‌داری به دست نیامد. میان جمعیت کل باکتری‌ها (باکتری‌های رشد یافته در محیط آگار مغذی) و قارچ‌ها (قارچ‌های رشد یافته در محیط پوتیتو دکستروزآگار) با فعالیت آنزیم رابطه معنی‌داری وجود نداشت، ولی شمار باکتری‌های رشد یافته در محیط اوره آگار، با فعالیت آنزیم اوره‌آز هم‌بستگی معنی‌دار نشان دادند ($r=0/47^{*}$). نتیجه بررسی هم‌بستگی‌های چند متغیره گام به گام نشان داد که پس از ورود درصد کربن آلی به مدل، پارامترهای دیگر نمی‌توانند به ضریب هم‌بستگی مدل بیافزایند. بنابراین، مدل به صورت یک متغیره خواهد بود. به طور کلی، نتایج نشان می‌دهد که مهم‌ترین عامل کنترل کننده فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک‌های مورد آزمایش درصد کربن آلی خاک است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنزیم اوره‌آز، ویژگی‌های خاک، هم‌بستگی

۱. دانشجوی دکتری و استاد خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲. دانشیار میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

مقدمه

اوره‌آز (اوره آمیدوهیدرولاز EC۳.۵.۱.۵) آنزیمی است که هیدرولیز اوره به دی اکسید کربن و آمونیاک را انجام می‌دهد. این‌آنزیم به طور گسترده در طبیعت، در گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود. آنزیم اوره‌آز نقش مهمی در کاربرد مؤثر کود اوره دارد (۳، ۱۶ و ۱۷). اوره یکی از مهم‌ترین کودهای شیمیایی بوده و استفاده از آن در خاور میانه رو به افزایش است، زیرا از یک سو کارخانه‌های تولید آن در محل وجود دارد، و از سوی دیگر در مقایسه با دیگر کودهای نیتروژن‌دار، مانند نیترات و سولفات آمونیوم، ارزان‌تر است (۴).

آگاهی از سطح فعالیت این آنزیم نقش مهمی در مصرف صحیح کود اوره، اطلاع از توان تصعید، آب‌شویی نیتروژن و مسائل زیست محیطی دارد (۴ و ۱۵). خاک‌های گوناگون دارای سطوح متفاوتی از فعالیت آنزیم اوره‌آز بوده، و همین مسئله باعث شده است که عوامل کنترل کننده فعالیت آنزیم، موضوع پژوهش‌های فراوانی قرار گیرد (۳، ۴، ۷، ۱۵، ۱۶، ۱۷ و ۲۰).

سنجش‌های آنزیمی امروزه معیاری از کیفیت خاک هستند. علاقه روز افزون به کشاورزی پایدار و حفظ کیفیت منابع اراضی باعث شده تا معیارهای گوناگونی در سنجش کیفیت خاک به کار گرفته شود. دیک و طباطبایی (۵) اظهار داشتند که ویژگی‌های بیولوژیک خاک‌ها را می‌توان به عنوان معیارهای سنجش تأثیر تنش‌های اکولوژیک مورد استفاده قرار داد. هم‌چنین، گارسیا و هرناندز (۱۱) دریافتند که سنجش‌های آنزیمی می‌تواند معیار و شاخص مفیدی در بررسی تأثیر تخریب اراضی و یا فعالیت‌های حفاظت خاک باشد.

زانتو و همکاران (۲۰) بیست و یک نمونه از خاک‌های ایالت آیوا را بررسی نموده، و نشان دادند که هواخشک نمودن خاک‌های مورد آزمایش هیچ تأثیری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز ندارد. هم‌چنین، این پژوهش نشان داد که میان فعالیت آنزیم اوره‌آز و کربن آلی، نیتروژن کل و ظرفیت تبادل کاتیونی رابطه بسیار معنی‌داری وجود داشته، و با درصد رس و شن نیز رابطه معنی‌دار دیده می‌شود. در این بررسی میان فعالیت اوره‌آز و pH، درصد سیلت و آهک هیچ رابطه‌ای مشاهده نگردید.

فرانکنبرگر و دیک (۷) نشان دادند که در ۱۰ خاک ایالت کالیفرنیا، فعالیت اوره‌آز با کربن آلی، نیتروژن کل و ظرفیت تبادل کاتیونی خاک ارتباط بسیار معنی‌دار داشته و با درصد شن نیز رابطه معکوس معنی‌دار دارد، ولی با درصد رس رابطه معنی‌داری به دست نیامد. در این پژوهش شمار باکتری‌ها با روش شمارش روی پلیت در محیط‌های گوناگون کشت نیز تعیین گردیده، ولی میان فعالیت اوره‌آز با شمار باکتری‌های خاک، در هیچ یک از محیط‌های کشت رابطه معنی‌داری برقرار نشد.

اتول و همکاران (۱۵) فعالیت آنزیم اوره‌آز را در دو وضعیت کاربری تحت کشت و مرتع، در ۱۰ سری از خاک‌های ایرلند بررسی نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که فعالیت اوره‌آز به مقدار ماده آلی خاک، بافت، ظرفیت تبادل کاتیونی، pH، و افزون بر آن در خاک‌های مرتعی به C:N بستگی دارد. هم‌چنین، این پژوهشگران دریافتند که در بیشتر سری‌های مورد بررسی، در وضعیت کاربری مرتع، فعالیت اوره‌آز بیش از وضعیت زراعی است.

رائو و گای (۱۶) دوازده خاک از ناحیه کارنال هندوستان را بررسی نموده و نشان دادند که بیشترین تغییرات فعالیت آنزیم اوره‌آز ناشی از کربن آلی است. هم‌چنین، در این آزمایش، ارتباط میان فعالیت اوره‌آز و درصد آهک یک رابطه معکوس معنی‌دار گزارش گردید.

رینولدز و همکاران (۱۷) با بررسی فعالیت اوره‌آز و ویژگی‌های دیگر ۲۲ خاک سطحی (عمق ۰-۱۵ سانتی‌متری) از ایالت‌های کانزاس، میزوری و اوکلاهما، نشان دادند که کربن آلی، نیتروژن کل، ظرفیت تبادل کاتیونی، درصد رس و درصد شن (به طور معکوس)، و درصد رس، با فعالیت آنزیم اوره‌آز ارتباط معنی‌دار دارند. در این پژوهش میان فعالیت آنزیم اوره‌آز و شمار باکتری‌ها و قارچ‌های خاک ارتباط معنی‌داری دیده نشد.

بالیگار و همکاران (۳) با بررسی ۱۴ خاک از منطقه آپالاچیان آمریکا، که شامل خاک‌های نسبتاً هوا دیده است، نشان دادند که میان فعالیت آنزیم اوره‌آز، و کربن آلی و نیتروژن

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

کل رابطه خطی معنی‌دار وجود دارد. هم‌چنین، در این آزمایش میان فعالیت اوره‌آز، و فسفر و گوگرد خاک نیز ارتباط معنی‌دار برقرار گردید، که علت آن را هوادیدگی و کمبود دو عنصر اخیر دانستند. ارتباط تنگاتنگ فعالیت آنزیم با کربن آلی و نیتروژن کل، محدود به اوره‌آز نبوده، و شامل سایر آمیدو هیدرولازها، همچون ال-آسپاراژیناز و ال-گلوتامیناز نیز می‌شود (۸ و ۹). هم‌چنین، نشان داده شده است که فعالیت دو آنزیم فوق با فعالیت اوره‌آز هم‌بستگی معنی‌دار دارد. این پژوهشگران میان فعالیت آنزیم‌های نام برده و درصد شن و رس هیچ رابطه معنی‌داری نیافتند.

کوکسون و لپیس (۴) فعالیت آنزیم اوره‌آز را در ۲۶ نمونه خاک عمان بررسی نموده و دریافتند که بیشترین هم‌بستگی با مواد آلی و درجه شوری خاک (به طور معکوس) وجود دارد. فرانکنبرگر و طباطبایی (۱۰) برای شمارش باکتری‌های تجزیه کننده ترکیبات آمیدی، محیط کشتی به کار بردند که حاوی یک آمید (به عنوان تنها منبع کربن و نیتروژن)، نمک‌های ضروری و آگار بود.

به رغم اهمیت موضوع و فراوانی منابع خارجی، نویسندگان مقاله حاضر، هیچ گزارشی از مطالعه فعالیت این آنزیم در مناطق خشک و نیمه خشک منطقه مرکزی ایران نیافتند. بررسی عوامل خاکی مؤثر بر فعالیت یک آنزیم، از نخستین و ضروری‌ترین اطلاعات مربوط به یک آنزیم است. مطالعه عوامل مؤثر بر فعالیت یک آنزیم، با شناسایی روابط و معادلات آماری میان فعالیت آنزیم و دیگر ویژگی‌های خاک (که معمولاً اندازه‌گیری آنها ساده‌تر از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم است)، یک روش تحقیق معمول است، و از آن راه می‌توان فعالیت آنزیم را تخمین زد.

از سوی دیگر، آگاهی از سطح فعالیت این آنزیم در خاک، به استفاده مؤثر از کود اوره کمک می‌نماید، به گونه‌ای که پیش بینی بازده کاربرد کود اوره، و نیز ارزیابی ریسک‌های زیست محیطی استفاده از کود اوره در هر منطقه آسان‌تر خواهد بود. افزون بر این، آگاهی از عوامل مؤثر در فعالیت یک آنزیم، اطلاعاتی در مورد طبیعت و چگونگی حضور آن آنزیم در خاک به دست می‌دهد. به همین دلیل، این پژوهش به بررسی عوامل مؤثر بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در برخی از خاک‌های شاخص و مهم کشاورزی استان اصفهان می‌پردازد.

مواد و روش‌ها

در مهرماه سال ۱۳۷۸، بیست نمونه خاک از عمق صفر تا ۱۵ سانتی‌متری نقاط مختلف استان اصفهان تهیه شد. همه خاک‌ها زراعی بوده، و قبلاً به مدت طولانی کود اوره دریافت کرده بودند. انتخاب مکان‌های نمونه‌برداری به کمک نقشه‌های خاک، و با هدف دست‌یابی به بیشترین تنوع موجود در خاک‌های استان اصفهان صورت گرفت. هنگام نمونه‌برداری، از هر مکان یک نمونه‌برداری مرکب استریل به منظور اندازه‌گیری جمعیت‌های میکروبی انجام شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه، با رطوبت مزرعه در دمای یخچال (۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری، و سپس جمعیت میکروبی آنها شمارش گردید. هم‌چنین، از هر یک از مکان‌های نمونه‌برداری یک نمونه مرکب غیراستریل نیز تهیه شد، که پس از انتقال به آزمایشگاه هواخشک گردید و برای انجام آزمایش‌های دیگر در ظروف در بسته نگهداری شد.

بافت خاک به روش هیدرومتر (۱۲)، ظرفیت تبادل کاتیونی خاک (CEC) به روش استات سدیم با pH=۸/۲ (۱۳)، درصد کربن آلی خاک به روش واکلی-بلاک (۱۴)، درصد آهک به روش تیتراسیون برگشتی، pH خاک در گل اشباع به کمک دستگاه pH متر مدل ۶۲۰ متراهم، و هدایت الکتریکی (EC) در عصاره اشباع با استفاده از هدایت سنج مدل متراهم در دمای آزمایشگاه معین و برای دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تصحیح شد.

جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌های خاک به کمک روش رقت‌های متوالی و کشت سطحی در پلیت[1]، به ترتیب روی محیط آگار مغذی[2] و PDA[3] تعیین گردید (۱). هم‌چنین، از

1. Spread plate 2. Nutrient agar 3. Potato dextrose agar

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

محیط کشت اوره-آگار حاوی اوره (به عنوان تنها منبع کربن و نیتروژن) به مقدار ۰/۶ گرم، دو گرم KH_2PH_4، ۰/۲ گرم $MgSO_4.7H_2O$، ۰/۱ گرم $CaCl_2$، ۰/۱ گرم NaCl، ۰/۰۰۴ گرم $FeCl_3$، و ۱۸ گرم آگار خالص برای شمارش باکتری‌های هیدرولیزکننده اوره استفاده گردید.

تعیین فعالیت آنزیم اوره‌آز

برای تعیین فعالیت آنزیم اوره‌آز از روش طباطبایی و برمنر (۲ و ۱۸) بهره گرفته شد. در این روش، نخست پنج گرم خاک با ۰/۲ میلی‌لیتر تولوئن تیمار شده، و پس از افزودن ۹ میلی‌لیتر بافرتریس (تریس هیدروکسی متیل آمینومتان pH=۹)، به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون شده، آنگاه ۳۵ میلی‌لیتر محلول KCl-Ag_2SO_4 (۲/۵ مولار نسبت به KCl و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نسبت به Ag_2SO_4) به آن افزوده می‌گردد. مقدار آمونیوم آزاد شده در سوسپانسیون موجود، به روش تقطیر با بخار آب تعیین، و پس از کم کردن مقدار آمونیوم در تیمار شاهد، برحسب میکروگرم آمونیوم آزاد شده به ازای هر گرم خاک در دو ساعت انکوباسیون $\left(\mu g\, NH_4^+\, g^{-1}\, 2h^{-1}\right)$ گزارش می‌گردد. لازم به یادآوری است که این واحد معمول‌ترین واحد گزارش فعالیت آمیدوهیدرولازها است (۷، ۸، ۹ و ۱۰).

تجزیه‌های آماری به کمک نرم‌افزار استات گراف انجام گردید.

نتایج و بحث

در جدول ۱ چکیده‌ای از ویژگی‌های خاک‌های مورد بررسی، دیده می‌شود. خاک‌ها چنان برگزیده شده‌اند که هر یک از ویژگی‌های خاک دارای گستره وسیعی باشد. به عنوان مثال، درصد شن در خاک‌های مورد آزمایش از ۶ تا ۷۰ درصد، رس از ۱۹ تا ۵۸ درصد و سیلت از ۱۱ تا ۵۴ درصد متغیر بوده، که خاک‌های مختلفی با بافت‌های گوناگون، از لوم شنی تا رسی را شامل می‌شود. بافت‌هایی که در این مجموعه گنجانده شده معرف سطح گسترده‌ای از خاک‌های کشاورزی استان می‌باشند. هم‌چنین، درصد کربن آلی در این خاک‌ها از ۰/۱۲ تا ۱/۹۹ درصد است، به ندرت ممکن است خاک کشاورزی مهمی در استان اصفهان یافت که درصد کربن آلی آن خارج از این محدوده باشد.

ارقام مربوط به درصد آهک (معادل کربنات کلسیم[1]) نشان می‌دهد که کلیه خاک‌ها آهکی می‌باشند. هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک‌ها در محدوده ۰/۴۶ تا ۱۳/۰۰ دسی‌زیمنس بر متر بوده، که دامنه بسیار وسیعی از وضعیت شوری خاک‌های کشاورزی استان را نمایش می‌دهند. ولی هیچ کدام از خاک‌های مورد بررسی سدیمی نبوده، و SAR هیچ یک از آنها بیشتر از ۵/۲ نمی‌باشد. ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) این خاک‌ها در محدوده ۲۷/۱ تا ۴۷/۳ سانتی‌مول (+) بر کیلوگرم خاک است. CEC این خاک‌ها، هم با درصد رس و هم با درصد کربن آلی هم‌بستگی خطی ساده داشته، و نیز هم‌بستگی چندمتغیره گام به گام[2] نشان می‌دهد که رابطه CEC خاک‌های مورد آزمایش با درصد رس و درصد کربن آلی آنها به صورت زیر است:

$$CEC=17/75+0/45\%C+3/63\%OC \quad r=0/92^{***} \quad [1]$$

که در این معادله C% و OC% به ترتیب درصد رس و کربن آلی خاک می‌باشند.

مقایسه شمار کل باکتری‌ها (باکتری‌های رشد یافته روی محیط آگار مغذی) و قارچ‌های (قارچ‌های رشد یافته روی محیط PDA) خاک نشان می‌دهد که جمعیت غالب این خاک‌ها، باکتری‌ها هستند، که با گزارش‌های خاک‌های مناطق معتدله هم‌خوانی دارد (۱۹). شمار باکتری‌های رشد یافته روی محیط اوره آگار نیز نشان دهنده بخشی از کل باکتری‌های خاک است که می‌توانند از اوره به عنوان منبع کربن و نیتروژن بهره گیرند. شمار این باکتری‌ها 9×10^3 تا $1/1\times10^5$ cfu/g است، که بخش چشم‌گیری از کل جمعیت باکتری‌های خاک را شامل می‌شود. افزون بر این، یک رابطه هم‌بستگی معنی‌دار میان باکتری‌های

1. Calcium carbonate equivalent
2. Stepwise

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک‌های مورد بررسی

شن	سیلت	رس	گچ	کربن آلی	CCE[1]	CEC	NT[2]	pH	EC	SAR	NAG[3]	PDA[4]	UAG[5]	فعالیت اوره‌آز
%						cmol(+)/kg	ppm		dS/m		(cfu/g)[6]			$\mu gNH_4^+ g^{-1}hr^{-1}$
۶	۱۱	۱۹	۰/۱۲	۱۰/۷	۲۷/۱	۱۱۰	۷/۴	۰/۴۶	۰/۹۸	۳×۱۰^{۶}	۱۰۳	۹×۱۰^{۳}	۵/۳
۷۰	۵۴	۵۸	۱/۹۹	۵۳/۰	۴۷/۳	۱۹۲	۸/۱	۱۳/۰	۵/۲	$۱/۶\times۱۰^{۸}$	۱۲۵۰۰	$۴/۶\times۱۰^{۵}$	۷۹/۲
۳۰/۴	۳۵/۷	۳۳/۸	۰/۹۷	۳۵/۸	۳۶/۲	۱۴۹	۷/۷	۳/۸۵	۲/۵	$۴/۱\times۱۰^{۷}$	۳۶۵۵	$۱/۱\times۱۰^{۵}$	۴۸/۳
۶۲/۱۶	۲۹/۷	۳۲/۶	۵۳/۹	۳۲/۶	۱۶/۱	۱۷	۲/۱	۹۶/۴	۵۰/۶	۹۲/۳	۷۱/۷	۱۰۰/۱	۵۱/۱

۱. معادل کربنات کلسیم
۲. نیتروژن کل
۳. شمار باکتری‌ها در محیط آگار مغذی
۴. شمار قارچ‌ها در محیط PDA
۵. شمار باکتری‌ها در محیط اوره آگار
۶. واحد تشکیل‌دهنده کلونی در هر گرم
۷. ضریب تغییرات

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]
[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

رشد یافته روی محیط کشت آگار مغذی و باکتری‌های رشد یافته روی محیط اوره-آگار دیده می‌شود. این رابطه به صورت زیر است:

$$UAG=۲/۳\times۱۰^{۴}+۱/۹۴\times۱۰^{-۳}NAG \quad r=۰/۷۱۲^{***} \quad [۲]$$

در این فرمول UAG شمار باکتری‌های رشد یافته روی محیط اوره آگار و NAG باکتری‌های رشد یافته در محیط آگار مغذی است.

فعالیت اوره‌آز خاک‌های مورد بررسی در محدوده ۵/۳ تا ۷۹/۲ میکروگرم آمونیوم آزاد شده به ازای هر گرم خاک در دو ساعت انکوباسیون است. لازم به یادآوری است که در یک آزمایش مقدماتی، فعالیت آنزیم اوره‌آز، هم در خاک هواخشک و هم در رطوبت مزرعه اندازه‌گیری گردید، و نظر به این که پس از انجام آزمون t-استیودنت تفاوت معنی‌داری میان آنها دیده نشد، از داده‌های به دست آمده در وضعیت هواخشک استفاده گردید. بسیاری از پژوهشگران برای بررسی آنزیم‌های گوناگون، از خاک هواخشک استفاده نموده‌اند. زانتوا و همکاران (۲۰) نشان دادند هواخشک کردن خاک تأثیر چندانی بر فعالیت آنزیم اوره‌آز نمی‌گذارد. فرانکنبرگر و طباطبایی (۸ و ۹) برای مطالعه آنزیم‌های ال-آسپارژیناز، ال-گلوتامیناز، اوره‌آز و آمیداز خاک هواخشک را به کار برده‌اند. رینولدز و همکاران (۱۷) با اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز در عمق ۰-۱۵ سانتی‌متری خاک‌های زراعی، در دو وضعیت رطوبتی مذکور، نشان دادند تفاوت چندانی در آنها به چشم نمی‌خورد. بهره‌گیری از خاک هواخشک، به دلیل آسانی نگهداری نمونه‌ها و احتیاج نداشتن به دمای یخچال راحت‌تر است، بنابراین بسیاری از پژوهشگران از این وضعیت برای آزمایش آنزیم‌هایی که دارای رفتار برون سلولی هستند، استفاده می‌کنند.

چکیده نتایج هم‌بستگی ساده خطی میان فعالیت اوره‌آز و ویژگی‌های خاک در جدول ۲ آمده است. چنان‌که دیده می‌شود میان فعالیت آنزیم اوره‌آز با درصد هیچ یک از ذرات شن، سیلت و رس رابطه خطی معنی‌داری وجود ندارد. در منابع مختلف، گزارش‌های متفاوتی از درجه هم‌بستگی فعالیت اوره‌آز با درصد اندازه ذرات به چشم می‌خورد. بالیگار و همکاران (۳) در منطقه آپالاچیان ایالات متحده، میان فعالیت اوره‌آز و درصد هیچ کدام از انواع ذرات ارتباط معنی‌داری نیافتند. اتول و همکاران (۱۵) نیز همانند این یافته‌ها را از خاک‌های ایرلند گزارش نمودند. رائو و گای (۱۶) با بررسی خاک‌های منطقه کارنال هندوستان نشان دادند که میان فعالیت اوره‌آز و درصد رس ارتباط معنی‌داری وجود ندارد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج فوق هم‌خوانی زیادی دارد. هم‌چنین، فرانکنبرگر و دیک (۷) نشان دادند که میان فعالیت اوره‌آز با رس ارتباط معنی‌داری دیده نمی‌شود، ولی این آنزیم با درصد شن ارتباط معکوس معنی‌دار دارد.

از سوی دیگر، زانتوا و همکاران (۲۰) میان فعالیت اوره‌آز و درصد رس رابطه مستقیم معنی‌دار، و با درصد شن رابطه معکوس معنی‌دار یافتند. دلیل تفاوت نتایج حاصل از بررسی هم‌بستگی آنزیم اوره‌آز با درصد اندازه ذرات در خاک‌های گوناگون به طور کامل روشن نیست، ولی گمان می‌رود در مواردی که میان درصد رس و فعالیت اوره‌آز ارتباط مستقیم وجود دارد، مولکول آنزیم به صورت برون سلولی روی سطوح کلوییدهای رسی جذب سطحی (تثبیت) شده است، و فعالیت بیوشیمیایی خود را حفظ کرده، از تأثیر پروتئازهای خاک در امان مانده است. به همین دلیل، با افزایش درصد رس، سطوح تثبیت کننده مولکول آنزیم افزایش یافته، و فعالیت آنزیم فزونی می‌یابد. علت هم‌بستگی معکوس فعالیت اوره‌آز با درصد شن نیز ناتوانی این ذره در جذب سطحی مولکول آنزیم است. ذرات شن فاقد ویژگی‌های الکترواستاتیک می‌باشند، که امکان برقراری ارتباط با مولکول آنزیم را از آنها می‌گیرد. با افزایش درصد شن، از مقدار سطوح دارای توانایی الکترواستاتیک برای تثبیت آنزیم کاسته می‌شود.

در خاک‌هایی که میان فعالیت اوره‌آز و درصد هیچ یک از ذرات خاک هم‌بستگی وجود ندارد، جذب سطحی مولکول‌های آنزیم بیشتر به وسیله سطوح کلوییدهای آلی صورت گرفته است، و این سطوح به خاطر فعالیت کلوییدی و

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

جدول ۲. رابطه هم‌بستگی ساده خطی میان فعالیت آنزیم اوره‌آز (به عنوان متغیر تابع) و هر یک از ویژگی‌های خاک (به عنوان متغیر مستقل)

ویژگی خاک	ضریب هم‌بستگی	خطای استاندارد برآورد
شن (%)	-۰/۱۸۸^{ns}	۲۴/۸۸
سیلت (%)	۰/۱۰۹^{ns}	۲۵/۱۹
رس (%)	۰/۲۱۷^{ns}	۲۴/۷۳
کربن آلی (%)	۰/۸۹۹***	۱۱/۰۹
کربنات کلسیم معادل (%)	-۰/۲۰۴^{ns}	۲۴/۸۰
ظرفیت تبادل کاتیونی [cmol(+)/kg]	۰/۳۱۲^{ns}	۲۴/۰۷
نیتروژن کل	۰/۷۹۷***	۱۵/۲۹
pH	۰/۲۶۳^{ns}	۲۴/۴۵
EC (dS/m)	-۰/۴۹۲*	۲۲/۰۶
SAR	-۰/۴۴۳^{ns}	۲۲/۷۱
NAG (cfu/g)	۰/۲۷^{ns}	۲۴/۳۳
PDA (cfu/g)	۰/۴۲^{ns}	۲۲/۹۲
UAG (cfu/g)	۰/۴۷*	۲۲/۳۴

* : معنی‌دار در سطح ۰/۰۵

*** : معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱

ns : غیرمعنی‌دار

UAG, PDA, NAG در جدول ۱ توضیح داده شده است.

الکترواستاتیکی قوی، بیشتر مولکول‌های آنزیم را به خود جذب نموده‌اند. در چنین مواردی میان فعالیت آنزیم و درصد کربن آلی خاک هم‌بستگی قوی دیده می‌شود. این وضعیت در نتایج پژوهش حاضر به چشم می‌خورد. شکل ۱ نشان‌دهنده هم‌بستگی خطی معنی‌دار (r=۰/۸۹۹***) فعالیت اوره‌آز و درصد کربن آلی خاک است. اغلب گزارش‌ها به چنین هم‌بستگی قوی اشاره دارند (۳، ۴، ۱۱، ۱۵، ۱۶، ۱۷ و ۲۰). دلیل اتفاق نظر پژوهشگران بر وجود هم‌بستگی قوی میان فعالیت اوره‌آز و درصد کربن آلی، آن است که مواد آلی خاک می‌توانند مولکول‌های آنزیم اوره‌آز را روی سطوح خود جذب سطحی (تثبیت) نمایند.

از سوی دیگر، فعالیت اوره‌آز با مقدار نیتروژن کل خاک نیز ارتباط قوی دارد.

UA=-۶۸/۷۶+۰/۰۷۵TN r=۰/۷۹۷*** [۳]

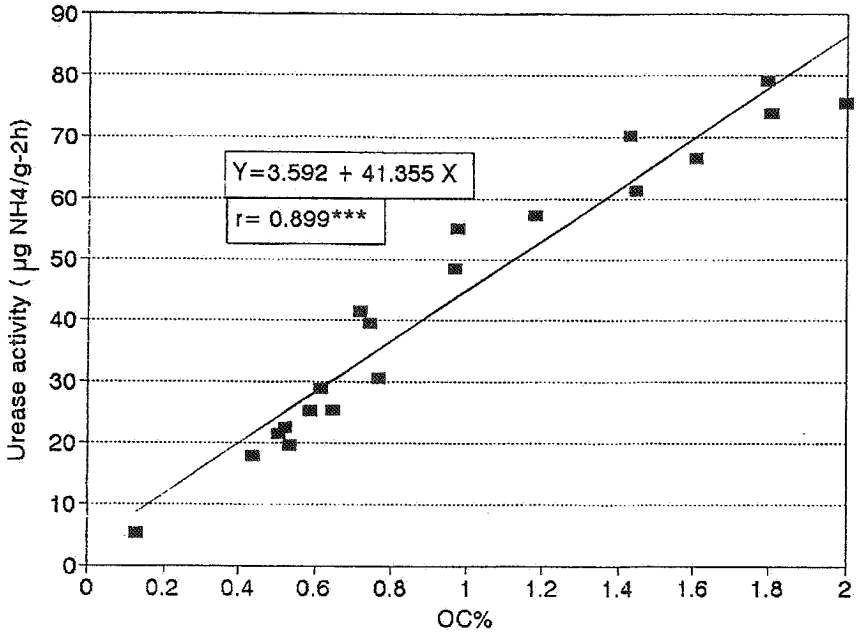
در این رابطه، UA فعالیت اوره‌آز برحسب میکروگرم آمونیوم آزاد شده از یک گرم خاک در مدت دو ساعت انکوباسیون، و TN نیتروژن کل خاک برحسب ppm است. این هم‌بستگی قوی میان فعالیت اوره‌آز و نیتروژن کل، به سبب وجود ارتباط قوی کربن آلی خاک و نیتروژن کل است، که باعث شده نیتروژن کل نیز با فعالیت اوره‌آز هم‌بستگی قوی داشته باشد. این رابطه به صورت زیر است:

TN=۱۰۵۵/۹+۴۵۱/۴OC r=۰/۹۲۶*** [۴]

که در این فرمول، TN نیتروژن کل خاک برحسب ppm، و OC درصد کربن آلی خاک است. وجود ارتباط خطی معنی‌دار میان فعالیت اوره‌آز و نیتروژن کل، مانند رابطه آن با کربن آلی، در بیشتر پژوهش‌ها به چشم می‌خورد (۳، ۴، ۱۱، ۱۵، ۱۶، ۱۷ و ۲۰).

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]



شکل ۱. رابطه فعالیت آنزیم اوره‌آز و کربن آلی در خاک‌های مورد بررسی

هدایت الکتریکی عصاره اشباع در دامنهٔ شوری خاک‌های مورد بررسی در این پژوهش (۰/۴۶-۱۳ دسی‌زیمنس بر متر)، با فعالیت اوره‌آز ارتباط خطی معکوس دارد، که نشان‌دهنده تأثیر کاهنده شوری بر فعالیت اوره‌آز خاک است. این رابطه به صورت زیر است:

$$UA=55/8-3/18ECe \qquad r=0/492^{*} \qquad [5]$$

در این رابطه، ECe هدایت الکتریکی عصاره اشباع برحسب دسی‌زیمنس بر متر است.

وجود یک هم‌بستگی معکوس به وسیله کوکسون و لپیس (۴) و فرانکنبرگر و بینگهام (۶) نیز گزارش شده است. در بررسی‌هایی که در خاک‌های نیمه مرطوب تا مرطوب انجام شده، این ارتباط منفی دیده نمی‌شود، زیرا دامنهٔ شوری بیشتر خاک‌های نیمه مرطوب تا مرطوب تأثیر بازدارنده‌ای بر فعالیت اوره‌آز ندارد (۱۵ و ۱۷). در پژوهش حاضر، اگرچه این ارتباط معنی‌دار شده، ولی تنها در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

این امکان هست که اثر بازدارندگی شوری بر فعالیت اوره‌آز در سطوح بالاتر شوری رؤیت شود، به گونه‌ای که فرانکنبرگر و بینگهام (۶) شوری خاک را به طور مصنوعی تا بیش از ۲۰ دسی زیمنس بر متر افزایش داده و کاهش معنی‌دار اوره‌آز را گزارش نمودند. این پژوهشگران دریافتند آنزیم‌هایی مانند اوره‌آز که دارای رفتار برون سلولی هستند، در مقایسه با آنزیم‌هایی چون دهیدروژناز که یک آنزیم درون سلولی است، نسبت به افزایش شوری کاهش کمتری از خود نشان می‌دهند. زیرا آنزیم‌های برون سلولی روی سطوح کلوییدی (به ویژه کلوییدهای آلی) حفاظت شده و ساختار سه‌بعدی مولکول آنها محافظت می‌شود، حال آن که فعالیت آنزیم‌هایی چون دهیدروژناز، با متأثر شدن خود سلول و پلاسمولیز شدن آن به شدت کاهش می‌یابد (۶).

میان فعالیت اوره‌آز و نسبت جذب سدیم (SAR) خاک رابطه معنی‌داری دیده نشد. البته با توجه به این که هیچ کدام از خاک‌های مورد بررسی درگروه خاک‌های سدیمی (SAR>۱۳) قرار نمی‌گیرد، ممکن است هم‌بستگی معکوس در سطوح بالاتر SAR وجود داشته باشد، ولی در دامنهٔ SAR مورد آزمایش (SAR<۵/۲) هم‌بستگی معنی‌داری به چشم نمی‌خورد.

هم‌بستگی آنزیم اوره‌آز با جمعیت‌های میکروبی خاک نیز

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

بررسی گردید. نتایج نشان می‌دهد که میان فعالیت اوره‌آز، شمار کل باکتری‌ها و قارچ‌های خاک رابطه معنی‌داری نیست. ولی فعالیت اوره‌آز با شمار باکتری‌های رشد یافته در محیط اوره آگار (که اوره تنها منبع کربن و نیتروژن آن بوده است) همبستگی معنی‌دار یافته است ($r=0/47^{*}$).

نبود همبستگی معنی‌دار با کل جمعیت‌های میکروبی به وسیله رینولدز و همکاران (۱۷) و فرانکنبرگر و دیک (۷) نیز گزارش شده است. این پژوهشگران از محیط‌های کشتی چون آگار مغذی، آگار با عصاره مخمر[1] و اگ‌آلبومین آگار[2] و برخی دیگر از محیط‌های کشت استفاده نمودند، ولی میان فعالیت اوره‌آز و شمار کلونی، در هیچ یک از این محیط‌ها همبستگی معنی‌دار نیافتند. پژوهشگران یاد شده علت نبود همبستگی میان فعالیت اوره‌آز و جمعیت میکروارگانیسم‌ها را از آن می‌دانند که: الف) این آنزیم برون سلولی بوده و تنها تحت تأثیر جمعیت‌های میکروبی واقع نمی‌شود، به‌گونه‌ای که حتی پس از کاهش شدید جمعیت در اثر یک تنش محیطی آنزیم به فعالیت خود ادامه می‌دهد. ب) این آنزیم افزون بر میکروب، به وسیله گیاهان و جانوران نیز تولید و ترشح می‌گردد، بنابراین ممکن است همبستگی بسیاری با جمعیت‌های میکروبی نداشته باشد. ج) ممکن است فعالیت آنزیم متأثر از جمعیت یک گروه ویژه از میکروارگانیسم‌ها باشد، و با کل جمعیت میکروبی خاک همبستگی چندانی نداشته باشد.

در پژوهش حاضر کل جمعیت باکتری‌ها و قارچ‌ها همبستگی معنی‌داری با فعالیت آنزیم نشان نمی‌دهد. از این رو، محیط اوره آگار به عنوان یک محیط اختصاصی، که تنها باکتری‌های تجزیه کننده اوره را در خود می‌پرورانند، انتخاب گردید. نتایج نشان داد که همبستگی فعالیت اوره‌آز با جمعیت رشد یافته روی اوره آگار معنی‌دار است. اگرچه این همبستگی معنی‌دار است، ولی تنها در سطح ۰/۰۵ بوده و در مقایسه با همبستگی فعالیت آنزیم با کربن آلی، که در سطح ۰/۰۰۱ اتفاق افتاده، ارزش کمتری دارد. همچنین، خطای استاندارد برآورد در جدول ۲ نشان می‌دهد که برآورد فعالیت آنزیم اوره آز روی کربن آلی کمترین خطای برآورد را به همراه دارد.

همبستگی‌های چندمتغیره گام به گام

نتایج بررسی همبستگی چندمتغیره نشان می‌دهد که با ورود پارامتر کربن آلی به مدل، دیگر پارامترها وارد مدل نمی‌شوند. به سخن دیگر، تنها کربن آلی خاک می‌تواند ۸۰/۸ درصد تغییرات فعالیت اوره‌آز را توجیه نماید ($r^{2}=0/808$)، و ورود پارامترهای دیگر کمکی به افزایش ضریب تعیین مدل نمی‌کند. بنابراین، مدل‌های چندمتغیره، در مقایسه با برآورد فعالیت اوره‌آز از روی کربن آلی، برآورد بهتری به دست نمی‌آورند.

یافته‌های این پژوهش دلالت بر آن دارند که سرعت تجزیه کود اوره به درصد کربن آلی خاک بستگی دارد. به گفته دیگر، در خاک‌هایی که درصد ماده آلی خاک اندک است، احتمال این که اوره پیش از هیدرولیز شدن، همراه آب آب‌شویی از عمق توسعه ریشه خارج شود، وجود دارد. وقوع این پدیده، به ویژه در خاک‌های شنی با کربن آلی اندک، می‌تواند منجر به کاهش کارایی کود اوره گردد. از سوی دیگر، در خاک‌های غنی از مواد آلی، که سرعت هیدرولیز اوره زیاد است، ممکن است تجمع آمونیوم حاصل از هیدرولیز اوره باعث افزایش تصعید آمونیوم از خاک شده، و هدررفت نیتروژن حاصل از کود اوره را به همراه داشته باشد. در چنین مواردی، معمولاً استفاده از مواد بازدارنده هیدرولیز اوره می‌تواند کارایی استفاده از کود اوره را افزایش دهد. این که در خاک‌های گوناگون چه سطحی از فعالیت آنزیم اوره‌آز منجر به استفاده بهینه از کود اوره می‌گردد، نیازمند بررسی جامع جداگانه‌ای است.

به طور کلی، چنین برداشت می‌شود که مهم‌ترین عامل تعیین‌کننده فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک‌های منطقه نیمه خشک تا خشک استان اصفهان، درصد کربن آلی بوده، و برای برآورد فعالیت اوره‌آز در خاک‌های این مناطق آگاهی از درصد کربن آلی خاک ضروری است. هم‌چنین ورود هیچ کدام از پارامترهای

1. Yeast extract agar 2. Egg albumin agar

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

دیگر مورد بررسی نمی‌تواند اعتبار آماری مدل را بیشتر نماید.

سپاسگزاری

هزینه انجام این پژوهش به وسیله دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین گردیده است، که بدین وسیله تشکر می‌گردد. هم‌چنین، از آقای مهندس فریدون نوربخش، که در انتخاب خاک‌های مورد بررسی، از روی نقشه‌های خاک پژوهندگان را یاری رساندند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Alef, K. 1995. Enrichment, isolation and counting of soil microorganisms. PP. 123-186. *In*: K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), Methods of Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, New York.
2. Alef, K. and D. Nannipieri. 1995. Urease activity. PP. 316-318. *In*: K. Alef and P. Nannipieri (Eds.), Methods of Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press, New York.
3. Baligar, V. C., T. E. Staley and R. J. Wright. 1991. Enzyme activities in appalachian soils. 2. Urease. Commun. Soil. Sci. Plant. Anal. 22(3&4): 315-322.
4. Cookson, P. and G. L. Lepiece. 1996. Urease enzyme activities in soils of the Batinah region of the Sultanate of Oman. J. Arid Environ. 32: 225-238.
5. Dick, W. A. and M. A. Tabatabai. 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. PP. 95-127. *In*: F. B. Metting (Ed.), Soil Microbial Ecology. Appl. in Agric. and Environ. Manage., Marcel Dekker, Inc., New York.
6. Frankenberger. Jr., W. T. and F. T. Bigham. 1982. Influence of salinity on soil enzyme activities. Soil Sci. Soc. Am. J. 46: 1173-1177.
7. Frankenberger, Jr., W. T. and W. A. Dick. 1993. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 47: 945-951.
8. Frankenberger, Jr., W. T. and M. A. Tabatabai. 1991. Factors affecting L-asparaginase activity in soils. Biol. Fertil. Soils 11: 1-5.
9. Frankenberger, Jr., W. T. and M. A. Tabatabai. 1991. Factors affecting L-glutaminase activity in soils. Soil Biol. Biochem. 23: 875-879.
10. Frankenberger, Jr., W. T. and M. A. Tabatabai. 1981. Amidase activity in soils. III. Stability and distribution. Soil Sci. Soc. Am. J. 45: 333-338.
11. Garcia, C. and T. Hernandez. 1997. Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion. Soil Biol. Biochem. 29: 171-177.
12. Gee, G. W. and J. W. Bauder. 1986. Particle size analysis. PP. 383-411. *In*: A. Klute (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 1. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA.
13. Hesse, P. R. 1971. A Text Book of Soil Chemical Analysis. John Murray, London.
14. Nelson, D. W. and L. P. Sommers. 1986. Total carbon, organic carbon and organic matter. PP. 539-579. *In*: A. C. Page (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA.
15. O'Toole, P., M. A. Morgan and S. J. McGarry. 1985. A Comparative study of urease activities in pasture and tillage soils. Commun. Soil Sci. Plant. Anal. 16(7): 759-773.
16. Rao, D. L. N. and S. K. Ghai. 1985. Urease and dehydrogenase activity of alkali and reclaimed soils. Aus. J. Soil Res. 23: 661-665.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]

17. Reynolds, C. M., D. C. Wolf and J. A. Armbruster. 1985. Factors related to urea hydrolysis in soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 49: 104-108.

18. Tabatabai, M. A. 1982. Soil enzymes. PP. 539-579. *In*: A. C. Page (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. Am. Soc. Agron., Madison, WI, USA.

19. Wood, M. 1995. Environmental Soil Biology. Chapman & Hall, London.

20. Zantua, M. I., L. C. Dumenil and J. M. Bremner. 1977. Relationships between soil urease activity and other soil properties. Soil Sci. Soc. Am. J. 41: 350-352.

[Downloaded from iutjournals.iut.ac.ir on 2024-05-24]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1380.5.3.7.1]