نشریه بوم شناسی کشاورزی
جلد ۴، شماره ۱، بهار ۱۳۹۱، ص. ۸۲-۷۴

Journal of Agroecology
Vol. 4, No. 1, Spring 2012, p. 74-82

تأثیر مدیریت‌های پسماند گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک

مریم السادات حسینی[1*]، غلامحسین حق نیا[2]، امیر لکزیان[3] و حجت امامی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۳/۰۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۵/۲۹

چکیده

آنزیم بتاگلوکوسیداز در تغییر سلولز در خاک نقش مهمی دارد و با استفاده از می‌توان برای پایش کیفیت زیستی خاک استفاده کرد. هدف از این پژوهش ارزیابی صحرایی تأثیر مدیریت حفظ و سوزاندن پسماند گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.)، کود نیتروژن و خاک‌ورزی بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در یک دوره ۹۰ روزه بوده است. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار انجام گردید. تیمارهای آزمایش شامل دو سطح کاه و کلش (سه و شش تن در هکتار)، دو سطح سوزاندن (نسوزاندن و سوزاندن)، دو سطح کود اوره (صفر و ۱۲۵ کیلوگرم در هکتار) و دو سطح خاک‌ورزی (بدون و با شخم) بودند. نتایج آزمایش نشان داد افزودن مقدار شش تن در هکتار پسماند جو فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را نسبت به تیمار سه تن در هکتار در لایه سطحی صفر تا پنج سانتی‌متری خاک به طور معنی‌داری افزایش داد، در حالی که سوزاندن کاه و کلش و عملیات خاک‌ورزی به کاهش فعالیت آن منجر گردید. افزودن کود اوره نیز موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شد. نتایج این مطالعه نشان داد که شیوه بدون خاک‌ورزی و همراه با حفظ پسماند گیاهی در سطح شش تن در هکتار و بدون سوزاندن پسماند مؤثرترین نوع مدیریت در افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در کوتاه مدت بود.

واژه‌های کلیدی: بتاگلوکوسیداز، خاک‌ورزی، سوزاندن، کود نیتروژن، کیفیت خاک

مقدمه

از آنجا که خاک بخش مهمی از محیط زیست را تشکیل می‌دهد، ارزیابی کیفیت آن به منظور تشخیص وضعیت کیفی محیط زیست امری ضروری است. این مسئله به تعاریف گوناگونی از کیفیت خاک منجر شده است. کارلن و همکاران (Karlen et al., 1997) کیفیت خاک را این گونه تعریف کرده‌اند: «توانایی و ظرفیت خاک نسبت به ایفای نقش خود در بوم‌نظام‌های طبیعی یا مدیریت شده است، که این ایفای نقش به منظور حفظ باروری خاک برای گیاه و جانداران، حفظ یا افزایش کیفیت آب و خاک و حمایت از سلامت بشر و زیستگاه وی صورت می‌گیرد». این تعریف تا اندازه زیادی مورد پذیرش واقع شده است. در این میان گزینش شاخص‌هایی که قادر به کمّی کردن کیفیت خاک باشند دارای اهمیّت زیادی است. ویژگی‌های زیست شیمیایی خاک بیانگر تنوّع، توزیع زیستی و چگونگی فعالیت ریزجانداران خاک است. این پارامترها نسبت به تغییرهای کوچک صورت گرفته در خاک حساسیت زیادی دارند. از اینرو، زمانی که ارزیابی پایداری عملکردهای طبیعی خاک و چگونگی تغییرات آن مورد نظر باشد، از پارامترها و شاخص‌های زیست شیمیایی استفاده می‌گردد (Gil-Sotres et al., 2005). در این میان آنزیم‌های خاک با توجه به ارتباطی که با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و زیستی خاک دارند، می‌توانند به عنوان شاخص در پایش اثرات مدیریت بر حاصلخیزی خاک در بلندمدت مورد استفاده قرار گیرند (Bandick & Dick, 1999; Roldán et al., 2005).

آنزیم بتاگلوکوسیداز یا β- D- گلوکوسید گلوکو هیدرولاز[5] (EC ۳.۲.۱.۲۱) آنزیمی رایج و نسبت به دیگر آنزیم‌های درگیر در چرخه کربن در خاک‌ها غالب‌تر است (Xiao-Chang & Qin, 2006). این آنزیم نقش مهّمی در چرخه کربن در محیط زیست داشته و از این نظر در خاک‌ها اهمیّت زیادی دارد. به گونه‌ای که این آنزیم

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، استاد، دانشیار و استادیار گروه علوم خاک دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (E-mail: maryam.hoseini2007@gmail.com

5- β-D-Glucoside Glucohydrolases

سوّمین آنزیم در چرخه کربن است که در کاتالیز واکنش هیدرولیزی شکستن و تخریب زیستی[1] سلولز (جزء اصلی پلی‌ساکاریدهای گیاهی) و دیگر پلیمرهای کربوهیدرات از جمله بتاگلوکوسیدهای مختلف پسماند گیاهی در حال تجزیه در بوم نظام‌ها سهیم می‌باشد (Boerner & Brinkman, 2003; Makoi & Ndakidemi, 2008). سلولز متشکل از زنجیره‌های پلیمری با پیوندهای β، 4 -1 بوده و در برگیرنده واحدهای گلوکز می‌باشد. تغییرات انجام شده به وسیله آنزیم‌ها در ابتدا با فعالیت آنزیم اندوگلوکاناز β، ۱- ۴) ۳.۱.۲.۴ EC) شروع شد که این آنزیم زنجیره‌های سلولز را به واحدهای کوچکتر می‌شکند. سپس آنزیم سلوبیو هیدرولاز) ۳.۱.۲.۹۱ EC) از انتهای مولکول سلولز دی‌مر، دو واحد گلوکز را می‌شکند. آنزیم بتاگلوکوسیداز با تجزیه سلوبیوز به دو واحد گلوکز فرآیند هیدرولیز را کامل کرده و موجب تأمین منبع مهم انرژی برای ریزجانداران می‌شود (Makoi & Ndakidemi, 2008). در واقع فعالیت بتاگلوکوسیداز می‌تواند عامل محدودکننده سرعت تغییر زیستی سلولز خاک باشد (Turner et al., 2002). این آنزیم غالباً از میکروب‌های هتروتروف و به عبارتی از باکتری‌ها، قارچ‌ها (Yan et al., 2010)، حیوانات و ریشه‌ی گیاهان به خاک ترشح و وارد می‌شود. حتی در خاک‌های تیمار شده با تولوئن نیز این آنزیم مشاهده شده است. این نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک ناشی از فعالیت آنزیم‌های برون یاخته‌ای و یا از آنزیم‌های ناپویا می‌باشد که جذب سطحی کلوئیدهای رسی یا هومیک شده‌اند (Badiane et al., 2001; Makoi & Ndakidemi, 2008).

آنزیم بتاگلوکوسیداز ارتباط مثبتی با کربن آلی خاک دارد (Bandick & Dick, 1999; Eivazi & Tabatabai, 1990; Alvear et al., 2005). پژوهش‌های زیادی نشان داده‌اند که این آنزیم به مدیریت پسماندهای آلی حساس است (Acosta-Martinez et al., 2003; Hernandez et al., 1997). ایکنلر و طباطبایی (Ekenler & Tabatabai, 2003) گزارش کردند که فعالیت این آنزیم نه تنها زیر تأثیر کمیّت و مقدار ماده آلی است، بلکه با کیفیت ماده آلی خاک نیز تغییر می‌کند. این آنزیم شاخص کیفیت خاک، بازتابی از فعالیت عامل‌های زیستی در گذشته، ظرفیت خاک برای تثبیت ماده آلی و همچنین آشکار کننده تأثیر مدیریت بر خاک می‌باشد (Ndiaye et al., 2000). این موضوع گزینش آنزیم یاد شده را در پایش کیفیت خاک بسیار آسان کرده است (Bandick & Dick, 1999). بررسی‌های صورت گرفته بر آنزیم‌های خاک نشان داده است که مدیریت زراعی با اثرگذاری مستقیم و غیرمستقیم بر کیفیت و کمیت پسماند گیاهی موجود در خاک می‌تواند بر فرآیندهای میکروبی از جمله فعالیت‌های آنزیمی اثرگذار باشد (Bandick & Dick, 1999; Roldán et al., 2005). به عنوان مثال، آتش‌سوزی می‌تواند سبب تغییر مقدار، ترکیب و چرخش مواد آلی خاک به ویژه در بخش‌های فعّال و ناپویا، ترکیب‌های محلول در آب و لیپیدها شود (Ajwa et al., 1999; Hernandez et al., 1997). بیشترین تغییرات مشاهده شده در خاک طی سوزاندن، هدررفت ماده آلی است. مشاهده شد که در دماهای بالا (۲۰۰ درجه سانتی‌گراد) ۳۷ درصد از ماده آلی در ۱۰ سانتی‌متری بالایی خاک هدررفت داشته است و بیشتر ترکیب‌های کربن دار بر اثر حرارت تغییر شیمیایی پیدا کرده‌اند. هرچند که این تغییرها در ترکیب‌های مختلف متفاوت بود، به طوریکه سلولز و همی سلولز ۷۰ تا ۸۰ درصد، لیگنین و ترکیب‌های محلول در آب ۵۰ درصد و لیپیدها نیز ۲۰- ۱۰ درصد تغییر کرده‌اند، بخش هوموس نیز با سوزاندن کاهش یافته است (Certini, 2005). عملیات خاک‌ورزی نیز می‌تواند به تغییرهای معنی‌داری در ویژگی‌های زیستی و شیمیایی خاک‌ها منجر شده و ترکیب، توزیع و فعالیت جامعه میکروبی خاک را تغییر دهد (Deng & Tabatabai, 1997). خاک‌ورزی با تأثیر بر وضعیت رطوبت، دما، تهویه و فراهمی سوبسترا در خاک بر فعالیت‌های میکروبی، چرخه عناصر غذایی و مقدار ماده آلی در خاک اثرگذار است (Wright et al., 2005). عملیات خاک‌ورزی دربلندمدت بدون افزودن کودهای آلی منجر به کاهش کربن آلی و نیتروژن کل خاک می‌شود (Dick, 1992). کاندلر و همکاران (Kandeler et al., 1999) عنوان کردند که انواع شیوه‌های خاک‌ورزی می‌توانند پراکنش فضایی و مکانی آنزیم‌های خاک را درون خاک‌رخ به طور متفاوت تغییر داده و به مقدار متفاوت فعالیت‌های آنزیمی را تغییر می‌دهند. کود نیتروژن نیز با افزایش فراهمی نیتروژن خاک به طور مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت میکروبی مؤثر است (Ostertag & Verville, 2002). آجوا و همکاران (Ajwa et al., 1999) گزارش کردند که کود نیتروژن بر پایه آمونیوم دربلندمدت موجب افزایش معنی‌دار فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند آنزیم بتاگلوکوسیداز و فسفاتاز اسیدی شد، در حالی که فعالیت آنزیم اوره‌آز را کاهش داد. بندیک و دیک (Bandick & Dick, 1999) با بررسی اثر مدیریت زراعی بر فعالیت هشت آنزیم در خاک، پی به حساسیت‌های متفاوت آنزیم‌ها نسبت به آشفتگی و تنش خاک بردند. این پژوهشگران آنزیم بتاگلوکوسیداز را بهترین شاخص برای تغییرات کیفیت خاک معرفی کردند. از این رو شناخت بیشتر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز و عوامل مؤثّر بر فعالیت آن می‌تواند به مطالعات سلامت و کیفیت خاک‌ها کمک زیادی کند.

بخش عمده کشور ما دارای اقلیم‌های خشک و نیمه خشک است و عدم وجود پوشش گیاهی کافی سبب بازگشت اندک پسماند گیاهی و در نتیجه کمبود مواد آلی در خاک و بالطبع کاهش فعالیت‌های میکروبی آن گردیده است. با توجه به نقش و اهمیت مدیریت پسماند گیاهی در بهبود خاک‌های این مناطق، این تحقیق با هدف شناخت

1- Biodegradation

بهتری از تغییر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز با مدیریت‌های معمول زراعی انجام شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر مدیریت‌های مختلف پسماند گیاهی بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در ۱۰ کیلومتری جنوب شرقی مشهد در سال ۱۳۸۸ انجام شد. مختصات جغرافیایی این ایستگاه در برگیرنده عرض جغرافیایی ′۱۵ °۳۵ شمالی و طول جغرافیایی ′۲۸ °۵۹ شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا می‌باشد. تیمارهای آزمایش در برگیرنده دو سطح کاه و کلش جو (سه تن در هکتار (CR_1) و شش تن در هکتار (CR_2))، دو سطح سوزاندن (نسوزاندن (B_0) و سوزاندن (B_1))، دو سطح کود اوره (صفر کیلوگرم در هکتار (N_0) و ۱۲۵کیلوگرم در هکتار (N_1)) و دو سطح خاک‌ورزی (بدون شخم (P_0) و با شخم (P_1)) تا عمق ۲۰ سانتی‌متری خاک بودند. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو تکرار طراحی و اجرا شد. به منظور تهیّه تیمارهای آزمایش ابتدا پسماند کاه و کلش توزین گشته و به هرکدام از کرت‌ها افزوده شد. سپس کاه و کلش سطح کرت‌ها آتش زده شد. پس از سوزاندن کاه و کلش، کود اوره به کرت‌های مربوطه افزوده شد. در آخر تیمار خاک‌ورزی تا عمق ۲۰ سانتی‌متری از خاک اعمال شد. در طول دوره ۹۰ روزه آزمایش کرت‌ها به طور هفتگی به روش دستی با آب‌پاش به مقادیر مساوی آبیاری شدند. در مرداد ماه نمونه‌برداری از تیمارها به صورت مرکّب از لایه سطحی و عمق صفر تا پنج سانتی‌متری خاک صورت گرفت (Acosta-Martinez et al., 2003). به منظور نمونه‌برداری، از پنج نقطه مختلف در هر کرت به طور تصادفی نمونه‌های خاک گرد آوری و به خوبی با یکدیگر آمیخته شدند و یک نمونه ترکیبی به دست آمد. نمونه‌ها به سرعت به آزمایشگاه منتقل و به دو دسته تقسیم شدند. نمونه‌های آزمایش آنزیمی از الک چهار میلی‌متری (Marx et al., 2005) عبور داده و در رطوبت مزرعه نگه-داری شدند. نمونه‌های خاک سپس در کیسه‌های پلاستیکی در یخچال و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد تا زمان اندازه‌گیری نگه‌داری شدند. نمونه‌های آزمایش‌های شیمیایی خاک هوا خشک گشته و پسماند گیاهی و سنگ‌های موجود در آنها حذف شدند. سپس نمونه‌ها از الک دو میلی متری عبور داده شدند. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک پیش از اجرای طرح اندازه‌گیری شد که در جدول ۱ نشان آمده است. بافت خاک به روش هیدرومتری اندازه‌گیری و درصد رس و شن آن مشخص شد (Gee & Bauder, 1986). اسیدیته نمونه خاک در گل اشباع و با دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد (McLean, 1982). هدایت الکتریکی عصاره اشباع به وسیله دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی تعیین شد. فسفر فراهم به روش اولسن و همکاران (Olsen et al., 1954) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار جذب نور محلول از دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده گردید (Klute, 1986). کربن آلی به روش اکسایش با دی‌کرومات اندازه‌گیری شد (Walkley & Black, 1934). نیتروژن کل به روش کجلدال و هضم با اسید سولفوریک (Bremner, 1970) و کربنات کلسیم نیز با استفاده از روش خنثی سازی با اسید و تیتراسیون برگشتی با سود در حضور معرف فنل فتالئین اندازه‌گیری شد (FAO, 1990).

ارزیابی فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز نیز بر اساس روش طباطبایی (Tabatabai, 1994) صورت گرفت. در این روش از پارا نیتروفنیل-بتا- دی- گلوکوپیرانوسید[1] به عنوان سوبسترا استفاده شد. نمونه‌های خاک به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه در بافر عمومی اصلاح شده) pH = ۶) و محلول سوبسترا خوابانده شدند. ارزیابی فعالیت آنزیم بر اساس رنگ سنجی پارانیتروفنل آزاد شده به وسیله فعالیت بتاگلوکوسیداز به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۰ نانومتر صورت گرفت. فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز بر حسب g *p*NPG μg^{-1}dry soil h^{-1} محاسبه و گزارش گردید. درصد رطوبت خاک‌های مورد مطالعه تعیین و تمام اندازه‌گیری‌ها بر اساس وزن خاک خشک شده در آون (دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت) گزارش گردید.

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی خاک مورد استفاده
Table 1- Some physical and chemical properties of the soil used

پارامتر Parameters	واحد اندازه‌گیری Unit	مقدار Amount
رس Clay	٪	32.4
شن Sand	٪	36.7
اسیدیته pH	-	7.23
هدایت الکتریکی EC	دسی‌زیمنس‌برمتر $dS.m^{-1}$	1.52
کربن آلی OC	٪	0.476
آهک $CaCO_3$	٪	13.75
نیتروژن کل Total N	میلی‌گرم‌برکیلوگرم $mg.kg^{-1}$	353.3
فسفر P	میلی‌گرم‌برکیلوگرم $mg.kg^{-1}$	8.64

1- pNPG: Para Nitrophenyl Glocopyranosid

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار MSTAT.C مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین داده‌های آزمایشی با یکدیگر با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل استفاده شد.

نتایج و بحث

برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ ارائه گردیده است. نتایج تجزیه خاک نشان می‌دهد که بافت خاک لوم رسی و نسبتاً سنگین است. pH خاک در محدوده اسیدیته خنثی تا آهکی است و قابلیت هدایت الکتریکی آن نشان می‌دهد که خاک مورد نظر، جزء خاک‌های غیرشور محسوب می‌شود. مقدار اندک نیتروژن و کربن آلی خاک نشان دهنده فقر آن از نظر ماده آلی است.

شکل ۱ تأثیر تیمارهای مورد مطالعه را بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک نشان می‌دهد. نتایج به دست آمده از آزمایش نشان داد که همه تیمارها بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک تأثیر معنی‌دار گذاشتند (جدول ۲). در میان تیمارهای آزمایش تیمار مقدار پسماند کاه و کلش بیشترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک داشت و فعالیت آن را از ۴۷/۱۳ در تیمار CR_1 به $\mu g\ pNPG\ g^{-1}\ h^{-1}$ ۵۵/۹ در تیمار CR_2 رساند و فعالیت آنزیم در تیمار CR_2 نسبت به تیمار CR_1 ۱۸/۶ درصد افزایش داد (شکل ۱–A). پس از آن تیمار سوزاندن و خاک‌ورزی موجب کاهش ۱۴/۸ و ۱۰/۳ و افزودن کود نیتروژن موجب افزایش ۴/۵ درصدی در فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شد. افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز با افزودن مقدار شش تن در هکتار پسماند کاه و کلش حاکی از آن است که آزاد شدن ترکیب‌های ساده کربنی از پسماند گیاهی، مواد آلی خاک و ریشه‌های باقی‌مانده در خاک در مقایسه با مقدار سه تن در هکتار بیشتر افزایش یافته است (Ros et al., 2006). افزودن پسماند زراعی موجب فراهم آمدن انواع پیش‌ماده‌های این آنزیم (ترکیب‌های سلولز و همی سلولز) و تحریک و انگیزش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شده است (Debosz et al., 1999). با فعالیت این آنزیم مقدار هوموس خاک که محافظ بخش آنزیمی[1] است، نیز افزایش می‌یابد (Martens et al., 1992). افزایش هوموس موجب حفاظت بیشتر از آنزیم برون یاخته‌ای بتاگلوکوسیداز در برابر پروتئازهای خاک و عوامل نامساعد محیطی (تغییرهای دما و اسیدیته) شده و فعالیت این آنزیم و پایداری آن در خاک افزایش می‌یابد (Xiao-Chang & Qin, 2006). بالوتا و همکاران (Balota et al., 2004) و دیباس و همکاران (Debosz et al., 1999) نیز عنوان کردند که افزودن مالچ و پسماند گیاهی به سطح خاک موجب افزایش پیش ماده فراهم مانند کربوهیدرات‌ها شده و فعالیت گلیکوسیدهای خاک از جمله بتاگلوکوسیداز افزایش می‌یابد، زیرا این آنزیم‌ها نقش اصلی را در تغییر کربوهیدرات‌ها در خاک‌ها بازی می‌کنند.

داکس و همکاران (Dux et al., 2006) نیز با بررسی اثرات تجزیه پسماند گیاهی و آزاد شدن عنصرهای نیتروژن و فسفر از سه نوع گیاه مختلف نشان دادند که فعالیت بتاگلوکوسیداز زیر تأثیر مقدار و کیفیت پسماند گیاهی و هدررفت جرمی آن با گذشت زمان قرار گرفت و در مقایسه با خاک‌های بدون افزودن پسماند گیاهی افزایش سریعی در فعالیت آن با گذشت زمان مشاهده شد.

سوزاندن پسماند کاه و کلش در تیمار B_1 موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز نسبت به تیمار B_0 شد و فعالیت آن را از ۵۵/۶۴ در تیمار B_0 به ۴۷/۳۹ $\mu g\ pNPG\ g^{-1}\ h^{-1}$ در تیمار B_1 رساند (شکل ۱–B). از آن جا که ریزجانداران خاک منشأ اصلی تولید آنزیم بتاگلوکوسیداز هستند (Xiao-Chang & Qin, 2006)، به نظر می‌رسد که کاهش زیست توده میکروبی سطح خاک پس از آتش زدن موجب کاهش معنی‌دار تولید و فعالیت این آنزیم شده است. از آنجا که آنزیم بتاگلوکوسیداز یک آنزیم القایی[2] بوده و وابستگی زیادی به حضور منابع پیش ماده در خاک دارد (Xiao-Chang & Qin, 2006)، لذا با حذف مواد و ترکیب‌های آلی با آتش زدن، طبیعتاً فعالیت این آنزیم نیز کاهش می‌یابد. آجوا و همکاران (Ajwa et al., 1999) نیز کاهش شدید فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را پس از آتش سوزی گزارش کردند و علت آن را تخریب پوشش گیاهی سطحی و حذف پسماند گیاهی عنوان کردند.

یان و همکاران (Yan et al., 2010) مشاهده کردند که با افزایش ۲۰ درجه سانتی‌گراد دمای خاک در عمق صفر – ۱۵سانتی‌متر، فعالیت آنزیم آزاد بتاگلوکوسیداز در خاک ۳۱/۲ درصد و آنزیم تثبیت شده ۸/۲ تا ۱۵/۳ درصد کاهش یافت.

انجام خاک‌ورزی بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز تأثیر معنی‌داری داشت و موجب کاهش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در تیمار P_1 نسبت به تیمار P_0 شد (شکل ۱–D). در خاک‌های شخم خورده عموماً میزان کربن آلی کل و کربن محلول در آب کاهش می‌یابد. کربن محلول در آب دی ساکاریدی است که به وسیله ریزجانداران خاک به ویژه باکتری‌ها ساخته می‌شود و عاملی اساسی در خاکدانه‌سازی است. این دی ساکارید سوبسترا برای فعالیت بتاگلوکوسیداز هستند و با کاهش آنها پس از خاک‌ورزی، فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز نیز کاهش یافته است (Hernandez et al., 1997). زائو چانگ و کین (Xiao-Chang & Qin, 2006) نیز عنوان کردند که فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز با افزایش عمق کاهش شدیدی پیدا کرده و با انجام خاک‌ورزی و آمیختن لایه‌های خاک با یکدیگر، از مقدار فعالیت این

1- Protectingenzymatic Fraction

2- Inductive Enzyme

آنزیم در لایه سطحی کاسته می‌شود. افزون بر این در شیوه بدون خاک‌ورزی کربن آلی خاک، که شاخصی از مقدار ماده آلی است، در لایه سطحی به طور معمول افزایش پیدا کرده و انتظار می‌رود که فعالیت آنزیم برون یاخته‌ای بتاگلوکوسیداز، که سهم زیادی در فعالیت آنزیمی کل دارد، نیز افزایش یابد (Knight & Dick, 2004). دنگ و طباطبایی (Deng & Tabatabai, 1997) نیز در بررسی اثرات مدیریت خاک‌ورزی و پسماند گیاهی بر فعالیت‌های آنزیمی دریافتند که فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوسیداز، آلفا گالاکتوسیداز، بتاگالاکتوسیداز و آمیداز در تیمار بدون خاک‌ورزی و به همراه پسماند زراعی بیشترین مقدار بود. مادجون و همکاران (Madejón et al., 2007) نیز کاهش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را در شیوه بدون خاک‌ورزی گزارش کردند و بیان نمودند که انجام خاک‌ورزی و دفن پسماند آلی موجب بیشتر شدن فرآیندهای میکروبی در لایه‌های زیرین خاک و کاهش فعالیت‌های میکروبی در لایه سطحی خاک می‌شود. ماهیا و همکاران (Mahía et al., 2007) نیز کاهش فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوسیداز و اوره‌آز را در سیستم خاک‌ورزی نسبت به شیوه بدون خاک‌ورزی مشاهده کرده و علت را اختلافات بوجود آمده در وضعیت خاک از نظر دما، مقدار ماده آلی، فراهمی سوبسترا و ویژگی‌های فیزیکو- شیمیایی مرتبط به سبب انجام خاک‌ورزی عنوان کردند.

تیمارکود نیتروژن نیز کمترین تأثیر معنی‌دار را بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک داشت و فعالیت این آنزیم را از $\mu g\ pNPG\ g^{-1}$ ۵۰/۳۷ h^{-1} در تیمار N_0 به ۵۲/۶۶ در تیمار N_1 افزایش داد (شکل C- ۱). با افزودن کود نیتروژن رشد گیاهان علفی و هرز در کرت‌های کود داده شده در مقایسه با کرت‌های بدون کود افزایش یافت. با افزایش رشد گیاهان و ریشه‌ها، رشد و فعالیت ریزجانداران در لایه سطحی و خاک اطراف ریشه‌ها افزایش پیدا کرد و به موجب آن، آنزیم بتاگلوکوسیداز بیشتری از ریزجانداران و ریشه‌های گیاه به محیط خاک آزاد شده است. از این‌رو، با کوددهی نیتروژن افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک حاصل شد.

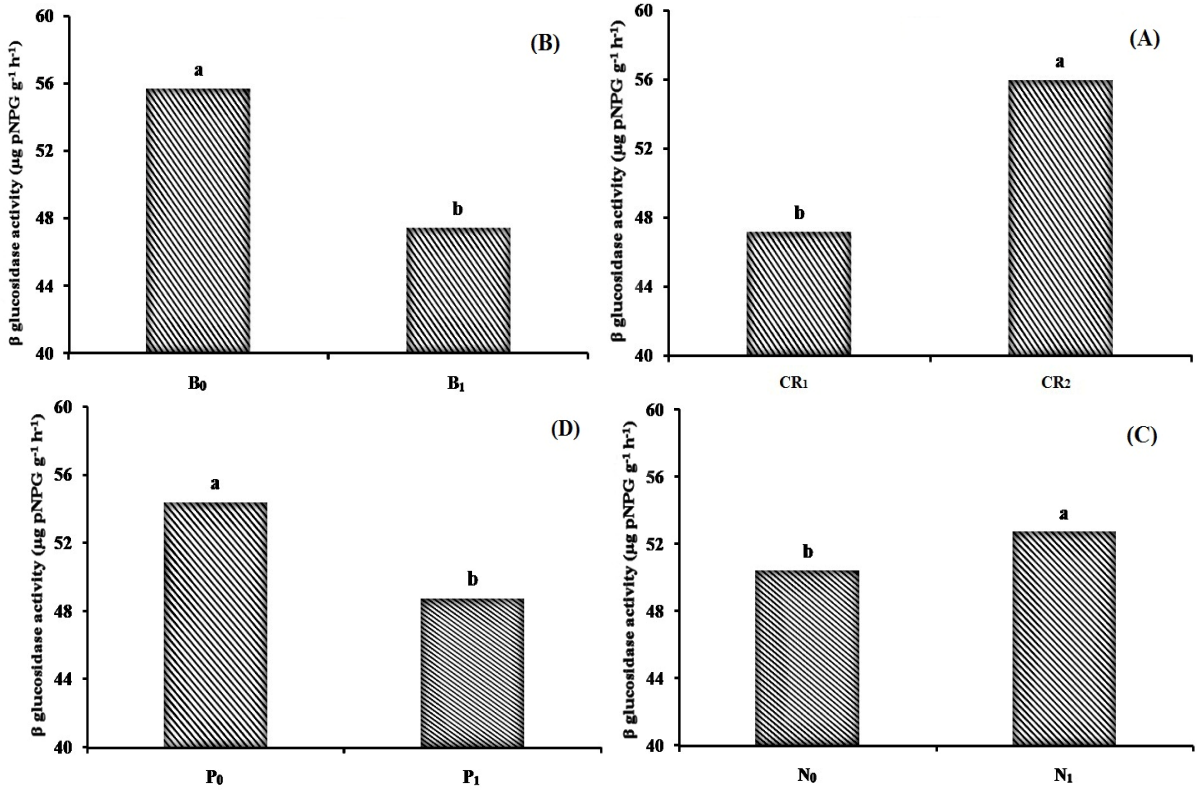
جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات سطوح پسماند زراعی، سوزاندن پسماند، کود نیتروژن و خاک‌ورزی بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز

Table 2- Variance analysis of effects of crop residue, burning, N fertilizer and tillage levels on the β-glucosidase activity

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square	مقدار F F value
پسماند زراعی (R) Crop residue (R)	1	614.22**	106.3950
سوزاندن (B) Burning	1	545.38**	94.4703
کود نیتروژن (N) N fertilizer (N)	1	42.18*	7.3071
خاک‌ورزی (T) Tillage (T)	1	254.56**	44.0947
R×B	1	79.67**	13.7998
R×N	1	0.06 ns	0.0116
R×T	1	4.53 ns	0.7843
B×N	1	0.68 ns	0.1182
B×T	1	466.38**	80.7862
N×T	1	2.24 ns	0.3881
خطا Error	16	5.77	-

ns، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

ns,* and ** are non-significant, significant at 5 and 1% probably levels, respectively.



شکل ۱- تأثیر تیمارهای مقدار پسماند گیاهی (CR)، سوزاندن پسماند گیاهی (B)، کود نیتروژن (N) و خاک‌ورزی (P) بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز

Fig. 1- Effect of crop residue (CR), burning of crop residue (B), N fertilizer (N) and tillage (P) treatments on soil β-glucosidase activity

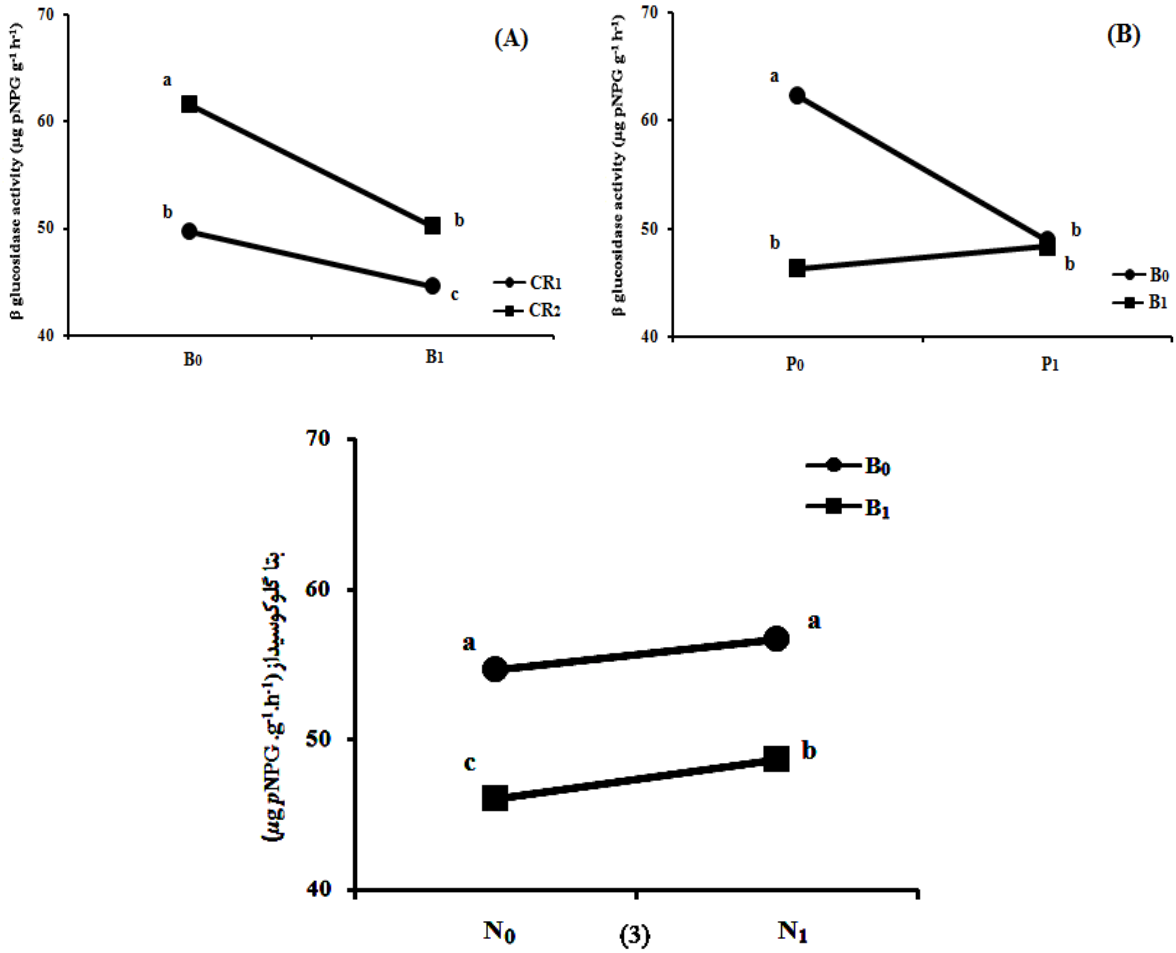
* میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر شکل تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند (n=2).

* Values marked with the same letter are not significantly different at α= 5%probably level according to Duncan's multiple range test (DMRT) (n=2).

آجوا و همکاران (Ajwa et al., 1999) مشاهده کردند که افزودن کود نیتروژن در بلندمدت موجب افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک سطحی (۵-۰ سانتی‌متر) شد. لیو و همکاران (Liu et al., 2007) نیز عنوان کردند که کود نیتروژن می‌تواند موجب تحریک و افزایش رشد گیاهان شود و به موجب آن فعالیت‌های میکروبی از جمله فعالیت‌های آنزیمی را در خاک افزایش دهد. با افزایش رشد گیاه در کرت‌های کود داده شده می‌توان انتظار افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را در خاک داشت، زیرا یکی از منابع تولید این آنزیم در خاک ریشه‌های گیاهان می‌باشد.

شکل ۲ برهمکنش مقدار پسماند گیاهی و سوزاندن آن و نیز سوزاندن پسماند گیاهی و خاک‌ورزی را بر مقدار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک نشان می‌دهد. برهمکنش تیمارهای دیگر معنی‌دار نبودند (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنزیم در تیمار B_0P_0 با مقدار ۶۲/۲۸۲ و کمترین فعالیت در تیمار B_1CR_1 با مقدار ۴۴/۵۸۴ $\mu g\ pNPG\ g^{-1}\ h^{-1}$ مشاهده شد. آنزیم بتاگلوکوسیداز معمولاً به وسیله ریزجانداران خاک و ریشه‌های گیاهان و در واکنش به حضور پیش ماده مناسب تولید می‌شود (Turner et al., 2002)، معمولاً تفاوت‌های مشاهده شده در مقدار فعالیت بتاگلوکوسیداز را به کمک وضعیت کربن زیست توده میکروبی و کربن آلی کل می‌توان شرح داد. همان گونه که در شکل ۲-A مشاهده می‌شود سوزاندن پسماند شش تن در هکتار مقدار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را در مقایسه با سوزاندن پسماند سه تن در هکتار کاهش بیشتری داد. به نظر می‌رسد که گرمای زیاد ناشی از سوختن پسماند کاه و کلش در تیمار CR_2 در مقایسه با تیمار CR_1 در لایه سطحی خاک بیش از تحمّل ریزجانداران به ویژه ریزجانداران تولیدکننده آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک بوده است. افزون بر این سوختن پسماند شش تن در هکتار و گرمای بیشتر موجب هدررفتن و تغییر شکل شیمیایی مواد آلی خاک شده و گرما تا عمق بیشتری از خاک نفوذ کرده و بر ریزجانداران خاک تأثیر می‌گذارد. هرناندز و همکاران (Hernandez et al., 1997) نیز نتایج مشابهی را پس از سوزاندن پسماند گیاهی در سطح خاک گزارش کردند. شکل ۲-B برهمکنش سوزاندن و خاک‌ورزی بر مقدار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را در خاک نشان می‌دهد. در تیمار بدون

سوزاندن پسماند انجام خاک‌ورزی موجب کاهش چشمگیر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در مقایسه با شیوه بدون خاک‌ورزی شد، لیکن با سوزاندن پسماند گیاهی مقدار فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز با انجام خاک‌ورزی و بدون خاک‌ورزی تغییر معنی‌داری پیدا نکرد. سوزاندن کاه و کلش منجر به سوختن، هدررفت ماده آلی و ترکیب‌های آلی شده که برخی از این مواد، پیش ماده آنزیم بتاگلوکوسیداز هستند. با کاهش مقدار پیش ماده از فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در سطح خاک کاسته می‌شود. همچنین آتش موجب کاهش ریزجانداران در لایه سطحی خاک می‌شود. از این رو، تولید آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک کاهش می‌یابد. انجام خاک‌ورزی موجب شده که مواد آلی موجود در لایه‌های زیرین به سطح خاک آورده شوند و خاک سطحی تیمار شده با آتش (که بیشتر مواد آلی آن سوزانده شده‌اند) به لایه‌های زیرین منتقل گردد. از این‌رو، در تیمار سوزاندن با انجام خاک‌ورزی فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز کاهش نیافت و حتی به دلیل شدت تأثیر آتش بر فعالیت آنزیم در سطح، در مقایسه با تیمار بدون خاک‌ورزی افزایش اندکی پیدا کرد.



شکل ۲- برهمکنش تیمارهای پسماند کاه و کلش (CR)، سوزاندن پسماند زراعی (B) و خاک‌ورزی (P) بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر شکل تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند (n=2).

Fig. 2- Interaction among crop residue (CR), burning of crop residue (B) and tillage (P) on soil β-glucosidase activity on soil β-glucosidase activity

Means marked with the same letter are not significantly different at α=5% probably level according to Duncan's multiple range test (DMRT) (n=2).

همان‌گونه که در شکل ۲ مشاهده می‌شود سوزاندن خاک موجب کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شد. هم‌چنین فعالیت بیشتر آنزیم بتاگلوکوسیداز در تیمار کود نیتروژن (سوزانده شده یا نشده) نسبت به تیمارهای کود نداده می‌تواند ناشی از این حقیقت باشد که این آنزیم به وسیله گروه وسیعی از ریزجانداران و گیاهان تولید می‌شود (آجوا و همکاران، ۱۹۹۹). با افزودن کود نیتروژن در

تیمار سوزاندن مقدار افزایش در فعالیت بتاگلوکوسیداز بیشتر از وضعیت نسوزاندن بود. به نظر می‌رسد که کود نیتروژن موجب تغذیه ریزجانداران باقی مانده پس از سوزاندن خاک شده و فعالیت میکروبی افزایش یافته و تولید این آنزیم به منظور تهیه انرژی و قندهای ساده افزایش یافته است.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده، این مطالعه نشان داد که مدیریت‌های مختلف پسماند گیاهی تغییرات معنی‌داری بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز خاک داشت. این آنزیم نسبت به تغییرهای سریع و کوتاه مدت در خاک واکنش نشان داده و حساس بود. در مقایسه میان مدیریت‌های مختلف، شیوه بدون خاک‌ورزی همراه با حفظ پسماند گیاهی به میزان شش تن در هکتار و بدون سوزاندن مؤثرترین روش‌ها در بهبود فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در کوتاه مدت بودند. در این مطالعه مشاهده شد که فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز در خاک‌هایی که مقدار بیشتری پسماند گیاهی دریافت کردند، در مقایسه با افزودن کود شیمیایی بیشتر بود.اثر مثبت کود شیمیایی نیتروژن محدود بوده و نتایج نشان داد که مقدار نیتروژن عاملی نبود که موجب افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شده و فعالیت آن را کنترل کند، بلکه تیمارهایی که به طور مستقیم بر وضعیت کربن آلی خاک اثر گذاشتند، تغییرهای چشمگیری بر فعالیت این آنزیم در خاک گذاشتند. با توجه به این که این آنزیم نقش مهمی در چرخه کربن در خاک بازی می‌کند، می‌توان این گونه عنوان کرد که اثر مثبت و بهبود دهنده کودهای شیمیایی بر حاصلخیزی خاک و فعالیت آنزیمی محدود است. این پژوهش بار دیگر ضرورت بازگرداندن پسماند گیاه جو را به اراضی زیر کشت این محصول به منظور بهبود و افزایش ماده آلی به خاک و پایداری بوم‌نظام‌های کشاورزی مورد تأکید قرار می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده مشخص شد که استفاده از فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز شاخص مناسبی در پایش تغییرات کیفیت خاک و نشان دادن اثر مدیریت پسماند گیاهی مناسب است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که در ارزیابی پتانسیل خاک‌ها و تأثیر فعالیت‌های انسانی و تنش‌های محیطی، استفاده از این آنزیم به عنوان شاخص زیستی تغییرهای کیفیت خاک مورد توجه بیشتری قرار گیرد.

منابع

1- Acosta-Martnez, V., Zobeck, T.M., Gill, T.E., and Kennedy, A.C. 2003. Enzyme activities and microbial community structure in semiarid agricultural soils. Biology and Fertility of Soils 38: 216–227.
2- Ajwa, A.H., Dell, C.J., and Rice, C.W. 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tall grass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. Soil Biology and Biochemistry 31: 769-777.
3- Alvear, M., Rosas, A., Rouanet, J.L., and Borie, F. 2005. Effects of three soil tillage systems on some biological activities in an Ultisol from southern Chile. Soil and Tillage Research 82: 195–202.
4- Badiane, N.N.Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D., and Rouland, C. 2001. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. Applied Soil Ecology 18: 229– 238.
5- Balota, E.L., Kanashiro, M., Filho, A.C., Andrade, D.S., and Dick, R.P. 2004. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. Brazilian Journal of Microbiology 35: 300-306.
6- Bandick, K., and Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. Soil Biology and Biochemistry 31: 1471-1479.
7- Boerner, R.E.J., and Brinkman, J.A. 2003. Fire frequency and soil enzyme activity in southern Ohio oak–hickory forests. Applied Soil Ecology 23: 137–146.
8- Bremner, J. M. 1970. Nitrogen Total, Regular Kjeldahl Method. Methods of Soil Analysis Part II: Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agronomy 9(1). ASA. SSSA. Madison publisher, Wisconsin. USA: 610-616.
9- Certini, G. 2005. Effects of fire on properties of forest soils: a review. Oecologia 143: 1–10.
10- Debosz, K., Rasmussen, P.H., and Pedersen, A.R. 1999. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input. Applied Soil Ecology 13: 209–218.
11- Deng, S.P., and Tabatabai, M.A. 1997. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. III. Phosphatases and arylsulfatase. Biology and Fertility of Soils 24: 141–146.
12- Dick, R.P. 1992. A review: long term of agriculture systems in soil biochemical and microbial parameters. Agriculture, Ecosystems and Environment 40: 25-36.
13- Dux, J., Norgrove, L., Hauser, S., Wick, B., and Kühne, R. 2006. Plant leaf Residue decomposition, nutrient release and soil enzyme activity. Conference on International Agricultural Research for Development. October 11-13.
14- Eivazi, F., and Tabatabai, M. 1990. Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. Soil Biology and Biochemistry 22: 891–897.
15- Ekenler, M., and Tabatabai, M.A. 2003. Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. Biology and Fertility of Soils 39: 51-61.
16- FAO. 1990. Management of gypsiferous soils. Soil Bulletin. No. 62, Food and agriculture organization. Rome.

Italy.
17- Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle-size Analysis. Methods of Soil Analysis, Part 1: Physical and Mineralogical Methods. 2nd ed. Agronomy 9. ASA. SSSA. Madison Publisher, Wisconsin, USA.
18- Gil-Sotres, F., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., and Seoane, S. 2005. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties. Soil Biology and Biochemistry 37: 877–887.
19- Hernandez, T., Garcia, C., and Reinhardt, I. 1997. Short-term effect of wildfire on the chemical, biochemical and microbiological properties of Mediterranean pine forest soils. Biology and Fertility of Soils 25: 109–116.
20- Kandeler, E., Palli, S., Stemmer, M., and Gerzabek, M.H. 1999. Tillage changes microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem. Soil Biology and Biochemistry 31: 1253-1264.
21- Karlen, D.L., Mausbach, M.J., Doran, J.W., Cline, R.G., Harris, R.F., and Schuman, G.E. 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. Soil Science Society of America Journal 61: 4–10.
22- Klute, A. 1986. Methods of Soil Analysis, part I: Physical and Mineralogical Methods, 2nd ed. ASA, Soil Science Society of America Madison. Wisconsin. USA.
23- Knight, T.R., and Dick, R.P. 2004. Differentiating microbial and stabilized b-glucosidase activity relative to soil quality. Soil Biology and Biochemistry 36: 2089–2096.
24- Liu, W., Xu, W., Han, Y., Wang, C., and Wan, S. 2007. Responses of microbial biomass and respiration of soil to topography, burning, and nitrogen fertilization in a temperate steppe. Biology and Fertility of Soils 44: 259 –268.
25- Madejón, E., Moreno, F., Murillo, J.M., and Pelegrín, F. 2007. Soil biochemical response to long-term conservation tillage under semi-arid Mediterranean conditions. Soil and Tillage Research 94: 346–352.
26- Mahía, J., Martín, A., Carballas, T., and Díaz-Raviña, M. 2007. Atrazine degradation and enzyme activities in an agricultural soil under two tillage systems. Science of the Total Environment 378: 187–194.
27- Makoi, J.H.J.R., and Ndakidemi, P.A. 2008. Selected soil enzymes: Examples of their potential roles in the ecosystem. African Journal of Biotechnology 7: 181-191.
28- Martens, D., Johanson, J., and Frankenberger, J. 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. Soil Science 153: 53–61.
29- Marx, M.C., Kandeler, E., Wood, M., Wermbter, N., and Jarvis., S.C. 2005. Exploring the enzymatic landscape: distribution and kinetics of hydrolytic enzymes in soil particle-size fractions. Soil Biology and Biochemistry 37: 35–48.
30- McLean, E.D. 1982. Soil pH and lime requirement. Methods of Soil Analysis Part II: Chemical and Microbiological Properties. 2nd ed. Agronomy 9(1). ASA. SSSA. Madison Publisher, Wisconsin, USA. 199-209.
31- Ndiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D., and Dick, R.P. 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. American Journal of Alternative Agriculture 15: 26-36.
32- Olsen, S.R., Cole, C.V., Watenabe, F.S., and Dean, L.A. 1954. Estimation of available phosphorous in soil by extraction with sodium bicarbonate, U.S. Department of Agriculture Cris 939. USA.
33- Ostertag, R., and Verville, J.H. 2002. Fertilization with nitrogen and phosphorus increases abundance of non-native species in Hawaiian mountain forests. Plant Ecology 162: 77– 90.
34- Roldán, A., J.R., Salinas-Garcia, M.M., Alguacil, E., Díaz, F., and Caravaca, F. 2005. Changes in soil enzyme activity, fertility, aggregation and C sequestration mediated by conservation tillage practices and water regime in a maize field. Soil Ecology 30: 11–20.
35- Ros, M., Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, M.T., and Insam, H. 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. Soil Biology and Biochemistry 38: 3443–3452.
36- Tabatabai, M.A. 1994. Soil Enzymes. In: Weaver, R.W., Angel, J.S., and Bottomley, P.S. (Eds.). Methods of Soil Analysis. Part Π. Microbiological and Biochemical Properties. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. pp. 775-833.
37- Turner, B.L., Hopkins, D.W., Haygarth, P.M., and Ostle, N. 2002. β-glucosidase activity in pasture soils. Applied Soil Ecology 20: 157–162.
38- Walkley, A., and Black, I.A. 1934. An examination of the Degtareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29-38.
39- Wright, A.L., Hons, F.M., and Matocha, J.E. 2005. Tillage impacts on microbial biomass and soil carbon and nitrogen dynamics of corn and cotton rotations. Applied Soil Ecology 29: 85–92.
40- Xiao-Chang, W., and Qin, L. 2006. Beta-glucosidase activity in paddy soils of the Taihu lake region, China. Pedosphere 16: 118-124.
41- Yan, J., Pan, G., Li, L., Quan, H., Ding, C., and Luo, A. 2010. Adsorption, immobilization and activity of ß–glucosidase on different soil colloids. Journal of Colloid and Interface Science 11: 178–185.
42- Zhong, W.H., and Cao, Z.C. 2006. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. Applied Soil Ecology 36: 84–91.