عکس العمل فعالیت آنزیمی خاک تیمار شده با کرم خاکی *Lumbricus terrestris* L. به شوری

فاطمه نعمتی[1]، فایز رئیسی[2]، علیرضا حسین پور[3]

1- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد خاک‌شناسی دانشگاه شهرکرد

2 و 3- دانشیار گروه خاک‌شناسی دانشگاه شهرکرد

آدرس پست الکترونیکی: fatemeh.nemati2010@yahoo.com

چکیده

برهمکنش بین کرم خاکی و ریزجانداران خاکزی برای حفظ حاصل‌خیزی و کیفیت خاک بسیار حائز اهمیت است که ممکن است در محیط‌های شور متفاوت از محیط‌های غیرشور باشد. هدف از اجرای این تحقیق بررسی اثر شوری بر فعالیت آنزیمی در خاک تیمار شده با کرم خاکی *Lumbricus terrestris* L. بود. در این تحقیق اثر 3 سطح شوری (2، 4 و 8 دسی‌زیمنس بر متر) با استفاده از نمک کلرید سدیم در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با 3 تکرار در شرایط یکنواخت و کنترل شده‌ی گلخانه‌ای به مدت 19 هفته مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، ساکاراز، فسفاتاز قلیایی و آریل سولفاتاز در2 مرحله اندازه-گیری شدند. نتایج نشان داد فعالیت آنزیم‌های خاک با افزایش سطوح شوری بین 3 تا 42 درصد کاهش یافتند.

کلمات کلیدی: **اوره‌آز، آریل سولفاتاز، ساکاراز، فسفاتاز قلیایی و کرم خاکی**.

مقدمه

شوری خاک در قسمت‌های وسیعی از دنیا به خصوص در نواحی خشک و نیمه خشک یک عامل محدود کننده رشد گیاه (سپاسخواه و مفتون، 1998) و سایر موجودات زنده خاکزی از جمله کرم خاکی به شمار می‌آید (اوجوری و همکاران، 2009). از یک سو، نقش کرم‌های خاکی در بهبود شرایط خاک و متعاقب آن رشد گیاه به عوامل متعدد از جمله شوری خاک بستگی دارد. از سوی دیگر، برهمکنش بین کرم خاکی و ریزجانداران خاکزی برای حفظ حاصل-خیزی و کیفیت خاک بسیار حائز اهمیت است که ممکن است در محیط‌های شور متفاوت از محیط‌های غیرشور باشد. نتایج برخی مطالعات و بررسی‌ها نشان می‌دهند که در محیط‌های شور عموماً جمعیت و رشد این جانوران کاهش می-یابد و از این طریق رشد و فعالیت میکروب‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند (فیشر و مولنار، 1997). از آن جاکه مواد آلی و فعالیت میکروبی در چند سانتی‌متری سطح خاک متمرکز شده است، تغییر در خصوصیات فیزیکو- شیمیایی سطح زمین و رشد کرم‌های خاکی ناشی از شوری می‌تواند فعالیت میکروبی را شدیداً تحت تأثیر قرار دهد (رایتز و هاینز، 2003). تمام تحولات بیوشیمیایی که در خاک اتفاق می‌افتد به حضور آنزیم‌ها بستگی دارد (نانیپیر و همکاران، 2002). آنزیم‌ها به علت ویژگی فوق العاده و قدرت کاتالیزوری کارآمد به کاتالیزورهای حیاتی معروف هستند. میزان فعالیت آنزیم‌های خاک با سطح حاصل‌خیزی، فعالیت میکروبی خاک و چرخه بیوشیمیایی عناصر مختلف همبستگی دارد و حتی یک شاخص مهم برای ارزیابی آلودگی خاک و محیط اکولوژیکی به شمار می‌آیند (ساویوزی و همکاران، 2001). تحت شرایط آزمایشگاهی شوری فعالیت‌های آنزیمی خاک را به‌طور زیان آور تحت تأثیر قرار می‌دهد (فرانکنبرگر و بینگهام، 1982). گرسیا و همکاران (2000) نشان دادند که با افزایش شوری، فعالیت آنزیمی (آلکالاین

فسفاتاز، بتا گلوکوسیداز) و تنفس میکروبی کاهش می‌یابند. فعالیت اوره‌آز خاک هم چنین رابطه نزدیکی با شوری خاک در خاک‌های شور دارد (کوکسون، 1999). هدف این تحقیق بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیمی در خاک‌های تیمار شده با کرم خاکی *Lumbricus terrestris* L. بود.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق سه سطح شوری شامل 2، 4 و 8 دسی‌زیمنس بر متر با استفاده از نمک کلرید سدیم به همراه خاک شاهد (0/49 دسی‌زیمنس بر متر) در قالب طرح کاملاً تصادفی در 3 تکرار انتخاب و آزمایش در شرایط کنترل شده (گلخانه‌ای) به اجرا درآمد. نمونه‌ی خاک ابتدا از الک 4 میلی‌متری عبور داده شد و سپس تجزیه های اولیه خاک انجام گرفت. بافت خاک مورد مطالعه سیلتی کلی بود. حدود 10 کیلوگرم خاک توزین و برای تیمارهای حاوی مواد آلی 50 گرم (1/5 کیلوگرم در متر مربع خاک یا معادل 17 تن در هکتار) بقایای خشک یونجه، ذرت و کود گاوی اضافه و به طور کامل با خاک مخلوط گردید و سپس به درون گلدان‌ها ریخته و مقداری آب برای تنظیم رطوبت خاک در80%-70% ظرفیت مزرعه به تمام بسترهای پرورش اضافه و سپس 30 عدد کرم خاکی بالغ به تمام گلدان‌ها اضافه شد. گلدان‌ها به مدت چهار هفته فقط با آب مقطر آبیاری شدند تا کرم‌ها به محل پرورش سازگاری یابند و در آغاز هفته پنجم آبیاری با آب شور در 3 سطح شوری مورد نظر (2،4 و 8) انجام گردید. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی طبق روش طباطبائی و برمنر (1969)، فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز به روش طباطبائی و برمنر (1970)، سنجش فعالیت اوره‌آز بر اساس روش طباطبائی و برمنر (1970)، اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ساکاراز به روش اسچینر و ون مرسی (1990) تشریح شده توسط آلف و نانیپییر (1995) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها شامل تجزیه واریانس (ANOVA) و مقایسه‌ی میانگین‌ها از طریق آزمون LSD در سطح احتمال 5% با استفاده از نرم‌افزار آماری SigmaState 3.5 صورت گرفت. میانگین‌ها به همراه مقادیر انحراف معیار هر تیمار محاسبه و گزارش شدند.

نتیجه‌گیری

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در دو مرحله زمانی 30 و 90 روز بعد از اعمال شوری صورت گرفت. نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد که اثر شوری بر فعالیت آنزیم اوره‌آز معنی‌دار ($P\leq0/001$) است (جدول 1). نتایج (جدول 1) نشان می‌دهد که با افزایش شوری در طول زمان فعالیت این آنزیم کاهش یافته است به طوری که فعالیت آنزیم در مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول 66% کاهش نشان داد. 90 روز پس از اعمال شوری فعالیت آنزیم اوره‌آز در سطوح 2، 4 و 8 دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد به ترتیب 7%، 42% و 5% کاهش نشان داد. نتایج تجزیه واریانس همچنین نشان می‌دهد که اثر شوری بر فعالیت آنزیم ساکاراز معنی‌دار ($P\leq0/001$) است (جدول 1). 30 روز پس از اعمال شوری فعالیت آنزیم ساکاراز در سطح 4 دسی‌زیمنس بر متردر مقایسه با شاهد 8% کاهش نشان داد (جدول1). 90 روز پس از اعمال شوری فعالیت آنزیم ساکاراز در سطوح 4 و 8 دسی‌زیمنس بر متر مقایسه با شاهد به ترتیب 26% و 22% کاهش نشان داد (جدول 1). نتایج (جدول 1) نشان می‌دهدکه که فعالیت این آنزیم در مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول 76% کاهش نشان یافته است. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر شوری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نیز معنی-دار ($P\leq0/001$) است (جدول 1). مانند سایر آنزیم‌ها، شوری فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را در طول زمان کاهش داد به‌طوری‌که فعالیت آنزیم در مرحله دوم (90 روز) در مقایسه با مرحله اول (30 روز) 45% کاهش یافت. در مرحله اول

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در سطوح 2، 4 و 8 دسی زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد 60%، 44% و 28% کاهش نشان داد (جدول1). در مرحله دوم فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در سطوح 4 و 8 دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد به ترتیب 17% و 3% کاهش نشان داد. همین طور نتایج ارائه شده در جدول 1 نشان می‌دهد که اثر شوری بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز نیز معنی‌دار ($P\leq 0/001$) است. در اولین مرحله فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز در سطح 2 دسی‌زیمنس بر متر و 4 دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با شاهد به ترتیب 42% و 61% کاهش نشان داد (جدول 1). در دومین مرحله فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز در سطوح مختلف شوری در مقایسه با شاهد کاهش ناچیزی نشان داد. با گذشت زمان فعالیت آنزیم در مرحله دوم در مقایسه با مرحله اول 34% کاهش یافت.

جدول 1- نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (n=3) فعالیت آنزیم آریل‌سولفاتاز ($mg\ PNP\ g^{-1}\ h^{-1}$)،اوره‌آز ($mg\ NH_4^+\text{-}N\ g^{-1}\ 2h^{-1}$)، ساکاراز ($mg\ glucose\ g^{-1}\ 24h^{-1}$) و فسفاتازقلیایی ($mg\ PNP\ g^{-1}\ h^{-1}$) بین سطوح شوری مختلف در 2 مرحله زمانی 30 و 90روز، اعداد داخل پرانتز مقادیر انحراف معیار را نشان می‌دهند

فعالیت آنزیمی	EC (دسی زیمنس بر متر)				
	شاهد 2	4	8	F	$LSD_{0.05}$
	30 روز				
آریل سولفاتاز	176 (22/7)B	103 (24/)C	69 (24/7)D	287***	17/0
اوره‌آز	12 (0/8)CB	16 (1/5)A	14 (1/3)B	11**	2/0
ساکاراز	50 (3/9)A	54 (1/6)A	46 (0/6)B	7*	4/0
فسفاتازقلیایی	384 (29/4)A	154 (23/1)D	215 (15/9)C	57***	42/4
	90 روز				
آریل سولفاتاز	92 (7/4)B	117 (0/4)A	84 (5/3)B	25***	10/5
اوره‌آز	6 (0/4)A	5 (0/2)A	3 (0/2)B	60***	0/46
ساکاراز	100 (5/9)A	101 (2/7)A	74 (6/5)B	28***	8/6
فسفاتازقلیایی	151 (22/7)A	151 (22/6)A	125 (24/0)B	45***	6/2

در هرردیف برای هر مرحله اندازه‌گیری حروف مختلف نشان دهندهٔ تفاوت معنی‌دار ($P\leq 0/05$) بین سطوح شوری مختلف بر اساس آزمون LSD می‌باشد . ***** : $P\leq$۰/۰۰۱ ; ** : ۰/۰۱ $\geq P$; * : $P\leq$۰/۰۵**

تریپاتی و همکاران (2007) گزارش کردند دامنه فعالیت آنزیم اوره‌آز 86-38 میلی‌گرم اوره در کیلوگرم خاک آون خشک در خاک شور و 134-89 میلی‌گرم اوره در کیلوگرم خاک آون خشک در خاک غیر شور بود. EC خاک‌های مورد آزمایش در دامنه 2/2 تا 16/3 دسی‌زیمنس بر متر بود و تغییرات 63 درصدی را در فعالیت این آنزیم موجب گردیده است. فعالیت دامنه وسیعی از آنزیم‌ها از جمله اوره‌آز در روده کرم خاکی گزارش شده است. بنابراین، هر گونه کاهش در جمعیت و فعالیت کرم خاکی ناشی از شوری محیط، کاهش فعالیت آنزیمی خاک را نیز به دنبال دارد. شوری در خاک‌ها اغلب با مقدار پایین کربن آلی در خاک همراه است که احتمالاً دلیل کاهش فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌باشد. نتایج عمر و همکاران (1994) نشان داد که فعالیت ساکاراز به طور قابل ملاحظه‌ای در خاک شور شده با کلرید سدیم بعد از 11 هفته انکوباسیون کاهش یافت. توقف فعالیت ساکاراز و متعاقب آن کاهش تولید قند ساده ممکن است بر اغلب فعالیت‌های میکروبی خاک مانند تثبیت نیتروژن که نقش بسیار مهم در حاصل‌خیزی خاک ایفاء می‌کند، اثر بگذارد. نتایج آزمایش فرانکنبرگر و بینگهام (1982) نشان داد که فعالیت فسفاتاز قلیایی در EC_e معادل 22/4 دسی زیمنس بر متر نمک کلریدسدیم 25% کاهش یافت. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با افزایش EC به‌صورت نمائی کاهش می‌یابد (رایتز و هاینز، 2003). نتایج این تحقیق با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد. برای مثال،

نتایج آزمایش فرانکنبرگر و بینگهام (1982) نشان داد که فعالیت آریل سولفاتاز در ECe معادل 22/4 دسی‌زیمنس بر متر نمک کلریدسدیم 11/2% کاهش یافت. رایتز و هانز (2003) نشان دادند که با افزایش EC خاک فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز به صورت نمایی کاهش می‌یابد.

تفسیر اطلاعات آنزیمی خاک بسیار پیچیده است، زیرا فعالیت آنزیمی بستگی به عوامل زیاد و موقعیت مکانی متفاوت آنزیم‌های شرکت کننده در فعالیت آنزیمی اندازه‌گیری شده (برون سلولی و درون سلولی) در سیستم مورد مطالعه دارد (نانیپیر و همکاران، 2002). به نظر می‌رسد اثر شوری بر آنزیمی‌های برون سلولی متفاوت از اثر آن بر آنزیم‌های درون سلولی باشد. به طور خلاصه مکانیسم‌هایی که ممکن است شوری مقدار فعالیت آنزیمی در خاک را کاهش دهد شامل: الف- خشک شدن اسمزی میکروب‌های آزاد کننده آنزیم‌های برون سلولی که به عنوان سوبسترا برای آنزیم‌های پروتئولیتیک استفاده می‌شوند، ب- اثر "Saltting-Out" که ساختار یونی مرکز فعالیت آنزیمی را تغییر می‌دهد و ج- سمیت یون ویژه که باعث عدم تعادل تغذیه‌ای برای رشد میکروبی و متعاقب آن ساخت و سنتز آنزیم می‌شود.

منابع

Alef K and Nannipieri P, 1995. Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry Academic Press, London.

Cookson P, 1999. Special variation in soil urease activity around irrigated date palms. Arid Soil Research and Rehabilitation, 13: 155-169.

Ficher E and Molnar L, 1997. Growth and reproduction of *Eisenia fetida* (*Oligochaeta, Lumbricidae*) in semi-natural soil containing various metal chlorides. Soil Biology and Biochemistry, 29: 667-670.

Frankenberger WT and Bingham FT, 1982. Influence of Salinity on Soil Enzyme Activities. Soil Science Society of America, 46:1173-1177.

Garcia G, Hernandez T, Pascual JA, Moreno JL and Ros M, 2000. Microbial activity in soils of SE Spain exposed to degradation and desertification processes. Strategies for their rehabilitation. In: Garcia, C. and Hernandez, M.T (Eds), Research and Perspective of Soil Enzymology in Spain.

Nannipieri P, Kandeler E and Ruggiero P, 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In Burns, R.G. and Dick, W.A. (Eds). Enzymes in the environment. Marcel Dekker, New York, pp, 1-33.

Omar SA, Abdel-Sater MA, Khallil AM and Abd-Alla MH, 1994. Growth and enzyme activities of fungi and bacteria in soil salinized with sodium chloride. Folia Microbiological, 39: 23-28.

Owojori OJ, Reinecke AJ, Voua-Otomo P and Reinecke SA, 2009. Comparative study of the effects of salinity on life-cycle parameters of four soil-dwelling species (*Folsomia candida, Enchytraeusdoerjesi, Eisenia fetida and Aporrectodea caliginosa*). Pedobiologia, 52: 351—360.

Rietz DN and Haynes RJ, 2003. Effects of irrigation induced salinity and sodicity on soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry, 35: 845-854.

Sepaskhah AR and Maftoun M, 1998. Relative salt tolerance of Pistashio cultivars. Journal of Horticultural Science, 63: 157-167.

Saviozzi A, Levi-Minzi R, Cardelli R and Riffaldi R, 2001. A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. Plant and Soil, 233: 251-259.

Tripathi S, Chakraborty A, Chakrabarti K and Bandyopadhyay BK, 2007. Enzyme activities and microbial biomass in coastal soils of India. Soil Biology and Biochemistry, 39: 2840–2848.