دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران
تبریز، 12 الی 14 شهریور 1390
(بیولوژی و بیوتکنولوژی خاک)

بررسی تاثیر مدیریت اراضی بر فعالیت و سینتیک آنزیم بتاگلوکوزیداز در خاک

صفورا ناهیدان [1] و فرشید نوربخش [2]

1- دانشجوی دکترای خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

2- دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

safooranahidan@yahoo.com

چکیده

این مطالعه با هدف بررسی اثر مدیریت اراضی بر فعالیت و سینتیک آنزیم بتاگلوکوزیداز در منطقه خشک و نیمه‌خشک ایران مرکزی انجام پذیرفت. نمونه‌برداری از دو منطقه لردگان (1- خاک جنگلی و 2- تحت‌کشت) و ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه (1- کشت یونجه و 2- کشت فستوکا) صورت گرفت و فعالیت و سینتیک آنزیم بتاگلوکوزیداز اندازه گیری شد.. نتایج نشان داد که مدیریت اعمال شده بر خاک، بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز و ثابت‌های سینتیکی آن موثر هستند. این نتایج گویای آن است که مدیریت خاک، با تغییر کمیت و کیفیت کربن آلی و شرایط فیزیکوشیمیایی دیگر خاک، ماهیت و موقعیت آنزیم‌ها را تحت تاثیر قرار می دهند.

کلمات کلیدی: **بتاگلوکوزیداز، سینتیک آنزیم، مدیریت خاک**

مقدمه

آنزیم‌های خاک به عنوان کاتالیست‌هایی هستند که نقش مهمی در بازچرخ عناصر، تجزیه ماده آلی و تبدیل آن به مواد معدنی و تغییر شکل‌های انرژی به عهده دارند (اندای و همکاران 2000). همچنین از آنزیم ها به دلیل سهولت در اندازه گیری، روابط آن ها با بیولوژی خاک و پاسخگویی سریع به تغییرات مدیریتی به عنوان شاخص پایدار کیفیت خاک استفاده شده است (دیک 1994). اگرچه اندازه گیری فعالیت آنزیمی می تواند مقدار کل حضور یک آنزیم را در خاک نشان دهد ولی اطلاعاتی در زمینه طبیعت و موقعیت آنزیم در خاک فراهم نمی نماید. در این باره خصوصیات سینتیکی یک آنزیم منعکس کننده ماهیت و پایداری آنزیم و کمپلکس سوبسترا- آنزیم می باشد (نوربخش و مونریل 2006).

اندازه گیری فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز نشان داده است که حساس به تغییرات مدیریتی بوده و به عنوان شاخص کیفیت خاک پیشنهاد شده است (نایت و دیک 2004). همچنین کاهش ثابت های سینتیکی (V_{max} و K_m) این آنزیم، با به به زیر کشت بردن یک علفزار دائمی، مشاهده شده است (نایت و دیک 2004). با این وجود، اطلاعاتی در زمینه سینتیک این آنزیم در خاک های آهکی منطقه خشک و نیمه خشک وجود ندارد. فرضیه این تحقیق آن است که مدیریت های اعمال شده بر خاک، از طریق تاثیر بر شرایط فیزیکوشیمیایی خاک، نه تنها فعالیت آنزیم ها بلکه سینتیک آن ها را تحت تاثیر قرار می دهند. بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر مدیریت اراضی بر فعالیت و سینتیک آنزیم بتاگلوکوزیداز در منطقه خشک و نیمه خشک ایران مرکزی انجام پذیرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه در دو منطقه لردگان و ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه صورت گرفت. انتخاب محل نمونه برداری در هر منطقه، بر اساس تشابه مواد مادری و تفاوت مدیریت بود. بدین منظور در منطقه لردگان، دو مدیریت جنگل بلوط و تحت کشت مجاور آن و در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه، دو مدیریت کشت یونجه و فستوکا انتخاب گردیدند. سپس نمونه‌های مرکب از عمق 0- 15 سانتی متری تهیه و برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد آزمایشگاهی تعیین شدند. فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با استفاده از سنجش پارانیتروفنل به روش رنگ سنجی اندازه گیری گردید. به منظور بررسی سینتیک آنزیم بتاگلوکوزیداز، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز در غلظت های سوبسترای 2/5، 5، 10، 15 و 25 میلی مولار تعیین شد (نایت و دیک 2004). سپس منحنی میکائلیس- منتن با رسم نمودار سرعت (V) در مقابل غلظت سوبسترا (S)، برای خاک‌های مورد مطالعه تعیین و در نهایت با استفاده از معادله خطی سازی لاین ویور- برک ($1/V$ در مقابل $1/[S]$) مقادیر V_{max} و K_m آنزیم تعیین گردیدند.

[۱] معادله میکائلیس- منتن $$V = V_{max}[S]/ (K_m + [S])$$

[۲] معادله لاین ویور-برک $$1/v = 1/v_{max}+k_m/(v_{max}\times 1/[s])$$

نتایج و بحث

خاک‌های مورد مطالعه در هر دو منطقه، آهکی، غیر شور و دارای بافت رسی می‌باشند (جدول 1). کربن آلی خاک جنگلی منطقه لردگان، 2/73 برابر خاک تحت کشت است. در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه نیز، کربن آلی خاک تحت کشت یونجه، 1/41 برابر خاک تحت کشت فستوکا می باشد (جدول 1).

جدول1- برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های منطقه لردگان و ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه

خصوصیات خاک	لردگان		ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه	
	جنگل	تحت کشت	کشت یونجه	کشت فستوکا
بافت	رسی	رسی	رسی	رسی
pH	7/5	7/7	8/0	8/4
EC_e (ds/m)	0/82	1/04	1/86	0/99
کربن آلی (g/kg)	44/2	16/2	16/5	11/7

تاثیر مدیریت بر فعالیت و ثابت های سینتیکی آنزیم بتاگلوکوزیداز در خاک، در جدول 2 آورده شده است. نتایج نشان داد که فعالیت و V_{max} آنزیم بتاگلوکوزیداز ، در خاک جنگلی منطقه لردگان بیشتر از خاک تحت کشت مجاور آن و در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه نیز در مدیریت کشت یونجه بیشتر از مدیریت کشت فستوکا می باشد. همچنین روند تغییر این مقادیر اندازه گیری شده با روند تغییر کربن آلی در این خاک ها تطابق دارد (جدول 1 و2). نتایج نایت و دیک (2004) نشان داد که فعالیت و V_{max} آنزیم بتاگلوکوزیداز با به زیر کشت بردن یک علفزار دائمی کاهش می یابد. فارل و همکاران (1994) نیز بیان کردند که کشت و کار، باعث کاهش مواد آلی در خاک شده و V_{max} آنزیم آریل سولفاتاز را کاهش می‌دهد. که V_{max} ، نشان دهنده محتوای آنزیمی خاک است، لذا می‌توان دریافت که با کاهش کربن آلی خاک، ظرفیت تثبیت آنزیم روی سطوح خاک کاهش می‌یابد. همچنین منابع کربن و انرژی برای جمعیت‌های میکروبی نیز کاهش یافته و لذا روند کاهش سرعت حداکثر آنزیم با تغییر مدیریت با روند کربن آلی خاک مشابه است.

نوربخش و مونریل (2006) نیز نتایج مشابهی در مورد آنزیم اوره‌آز بدست آوردند. آن‌ها اظهار داشتند که با کشت و کار زمین‌های بایر مناطق مرکزی ایران، به همراه افزایش کربن آلی خاک، آنزیم اوره‌آز افزایش یافت. این محققین همبستگی معنی داری بین مقدار کربن آلی و V_{max} آنزیم اوره‌آز مشاهده کردند.

جدول 2- فعالیت و مقادیر V_{max} و k_m آنزیم بتاگلوکوزیداز در دو منطقه لردگان و ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه

منطقه		β-GA (mg PNP kg^{-1} h^{-1})	V_{max} (mg PNP kg^{-1} h^{-1})	K_m (mM)
لردگان	جنگل	514/5 a®	1000/0a	4/80a
	تحت کشت	444/8 b	769/2 b	3/76 b
ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه	کشت یونجه	254/3 a	288/8 a	3/18 b
	کشت فستوکا	91/2 b	85/8 b	8/66 a

*حروف مشابه در هر ستون و در هر منطقه به طور جداگانه، نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار می‌باشد (LSD, P <0/05).
β-GA ، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز و V_{max} و K_m ثابت های سینتیکی آنزیم می باشند.

نتایج مربوط به ثابت K_m نشان داد که با به زیر کشت بردن جنگل در منطقه لردگان، K_m آنزیم بتاگلوکوزیداز کاهش یافت. همچنین در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه، K_m آنزیم بتاگلوکوزیداز در خاک تحت کشت یونجه کمتر از تحت کشت فستوکا مشاهده گردید (جدول 2). از آن جا که K_m فاکتوری است که با تمایل آنزیم- سوبسترا نسبت معکوس دارد، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کشت و کار خاک جنگلی لردگان و همچنین کشت فستوکا در ایستگاه شهید فزوه، باعث افزایش تمایل آنزیم به سوبسترا گردیده است. تمایل کم و زیاد یک آنزیم به سوبسترا می‌تواند به دلیل تفاوت‌هایی در ساختار مولکولی آنزیم‌ها به دلیل منشا متفاوت آن‌ها باشد. بسیاری از ایزوآنزیم‌های تولید شده به وسیله انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها در خاک، یک واکنش مشابه را با سینتیک‌های متفاوت کاتالیز می‌کنند (مارکس و همکاران 2005). این امکان وجود دارد که در اجزای مختلف خاک، ایزوآنزیم‌های متفاوتی توسط گونه‌های مختلف میکروبی وجود داشته باشند. به طوری‌که گزارش شده است قارچ‌ها در اجزای درشت‌تر خاک وجود دارند، در حالی که باکتری‌ها در اجزای ریزترند (مارکس و همکاران 2005). صرف نظر از موجودات مختلف تولید کننده و ساختمان مولکولی متفاوت آنزیم‌ها، این فرضیه نیز وجود دارد که آنزیم‌ها ذاتاً از نظر سینتیکی مشابهند و فقط زمانی که توسط ماتریکس جامد خاک تثبیت می‌شوند، از نظر سینتیکی تغییر می‌کنند (مارکس و همکاران 2005). با توجه به این که مراکز فعال آنزیم‌ها دارای مکان‌های پیوندی شامل اسیدآمینه‌های مسوول واکنش با سوبسترا و مکان‌های کاتالیتیکی شامل اسیدآمینه‌هایی با مسولیت مستقیم عمل کاتالیز هستند، بسته به این که کدامیک از این مکان‌ها تحت تاثیر حامل جذب‌کننده قرار گیرد، یک یا هر دو ثابت K_m و V_{max} آنزیم ممکن است دچار تغییر شوند (هوانگ و شیندو 2000). در این باره فارل و همکاران (1994) گزارش کردند که تثبیت آنزیم‌ها بر روی سطوح جامد، باعث کاهش تمایل آنزیم به سوبسترا (افزایش K_m) می‌شود. پالسون و کرتز (1970) نیز نتایج مشابهی را برای آنزیم اوره‌آز بدست آوردند. با این وجود مکبول و اتوو (1996) گزارش کردند که هر دو ثابت K_m و V_{max} آنزیم اسید فسفاتاز در اثر تثبیت شدن بر روی کانی ایلیت کاهش یافت. جیانفردا و بولاگ (1994) نیز نتایج مشابهی را با آنزیم اسید فسفاتاز و کلوئید-های خاک مشاهده کردند. این امکان وجود دارد که تفاوت در تمایل آنزیم‌های تثبیت شده به سوبسترا، به خصوصیات حامل جذب کننده آنزیم و همچنین پخشیدگی متفاوت سوبسترا بستگی داشته باشد (مارکس و همکاران 2005).

از آن جایی که خاک جنگلی لردگان دارای مقدار زیادی کربن آلی می باشد (جدول 1)، این امکان وجود دارد که آنزیم بتاگلوکوزیداز با این مواد هومیکی پیوند برقرار کرده و موجب کاهش تمایل آنزیم به سوبسترا شود. این در حالی است که تمایل آنزیم به سوبسترا در مدیریت کشت یونجه در ایستگاه تحقیقاتی شهید فزوه با وجود مقدار کربن آلی بیشتر افزایش یافته است. این مسئله می تواند به تفاوت هایی در کیفیت کربن آلی و شرایط فیزیکوشیمیایی متفاوت این خاک در مقایسه با منطقه لردگان، نسبت داده شود.

به طور کلی نتایج نشان داد که مدیریت اعمال شده بر خاک، نه تنها بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز بلکه بر ثابت های سینتیکی آن نیز موثر هستند. این نتایج گویای آن است که مدیریت خاک، با تغییر کمیت و کیفیت کربن آلی و شرایط فیزیکوشیمیایی دیگر خاک، ماهیت و موقعیت آنزیم ها را تحت تاثیر قرار می دهند.

منابع

Dick RP, 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. Pp. 107-124. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicek DF and Stewart BA (eds). Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Sci. Soc. Am, Madison WI, USA.

Farrell, RE, Gupta VVSR and Germida JJ, 1994. Effects of cultivation on the activity and kinetics of Arylsulfatase in Saskatchewan soils. Soil Biol Biochem 26: 1033-1040.

Gianfreda L and Bollag JM, 1994. Effect of soils on the behavior of immobilized enzymes. Soil Sci. Soc. Am. J 58: 1672–1681.

Huang Q and Shindo H, 2000. Inhibition of free and immobilized acid phosphatase by zinc. Soil Sci 165: 793-802.

Knight TR and Dick RP, 2004. Differentiating microbial and stabilized β-glucosidase activity relative to soil quality. Soil Biol. Biochem 36: 2089-2096.

Makboul HE and Ottow JCG, 1979. Alkaline phosphatase activity and Michaelis conestant in the presence of different clay minerals. Soil Sci 128: 129-135.

Marx MC, Kandeler E, Wood M, Wermbter N and Jarvis SC, 2005. Exploring the enzymatic landscape: distribution and kinetics of hydrolytic enzymes in soil particle-size fractions. Soil Biol. Biochem 37: 35-48.

Ndiaye EL, JM Sandeno, D McGrath and Dick RP, 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. Am. J. Altern. Agric 15: 26–36.

Nourbakhsh F and Monreal CM, 2006. Urease activity as affected by cultivation and soil depth: A kinetic approach. Agrochimica 1-2: 72-76.

Paulson KN and Kurtz LT, 1970. Michaelis constant of soil urease. Soil Sci. Soc. Am. Proc 34: 70-72.