تأثیر گوگرد، فسفر و گیاه بر کربن زیست توده میکروبی و فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک

شکوفه رضائی [۱]، کاظم خاوازی [۲]، سعید سعادت [۲] ، مهدیه شمشیری پور [۳]، کبری ثقفی [۳]
۱- هیأت علمی گروه خاکشناسی، واحد کرج دانشگاه آزاد اسلامی کرج ایران، ۲- عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب،
۳- کارشناس ارشد موسسه خاک و آب کشور

چکیده
آنزیمهای خاك و زیست توده میکروبی به عنوان شاخصهای مهم کیفیت خاك مورد پایش قرار می گیرند. در سالهای اخیر مصرف گوگرد با فرض کاهش pH و افزایش فراهمی عناصر در خاك، افزایش یافته است. هدف این مطالعه بررسی تأثیر گوگرد، فسفر و گیاه بر زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیمهای فسفاتاز بوده است. آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوکه ای کامل تصادفی با چهار سطح گوگرد و ۳ سطح فسفر با و بدون کشت گیاه در شرایط مزرعه اجرا شد. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که وجود گیاه، کربن زیست توده میکروبی، آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدي را به طور معنی دار افزایش داد. افزایش گوگرد باعث کاهش معنی دار کربن زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیمها نسبت به تیمار شاهد شد. افزایش فسفر، کربن زیست توده میکروبی را به طور معنی دار کاهش داد ولی کاهش فعالیت فسفاتازها با افزایش فسفر معنی دار نبود.
واژه های کلیدي: زیست توده میکربی، آنزیم فسفاتاز، گوگرد، فسفر

مقدمه
آنزیمهای خاک و زیست توده میکروبی نقش اساسی در چرخه عناصر غذائی ایفا کرده و در مقایسه با بسیاری از ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی به تغییرات محیطی و مدیریتی حساستر می باشند. از این رو همواره به عنوان شاخص های مهم کیفیت خاک مورد ارزیابی و پایش قرار می گیرند. زیست توده میکروبی جزء زنده ماده آلی خاک (رایت و همکاران، ۲۰۰۵) و در برگیرنده باکتریها، اکتینومایستها، قارچها، پروتوزوآ، جلبکها و ریزجانورگان خاک می باشد و در نهایت حدود ۲ درصد کل کربن آلی خاك و ۵ درصد نیتروژن آلی را شامل می شود (هو و کاو، ۲۰۰۷). آنزیم ها اساسا" از میکروارگانیسم های خاک تولید می شوند و با وجود مقادیر کم نقش قابل ملاحظه ای در کنترل چرخه عناصر غذائی (نیتروژن، کربن، فسفر و گوگرد) دارند (اون و همکاران، ۲۰۰۲). فسفاتازها گروه وسیعی از آنزیم ها می باشند که از بین آن‌ها فسفاتاز قلیایی (در خاکهای آهکی) به علت اهمیتی که در معدنی شدن فسفر آلی خاک و تغذیه گیاهان دارند بیش از سایر گروههای فسفاتاز مورد توجه قرار گرفته اند. در خصوص تأثیر گوگرد در کاهش pH خاکهای ایران و نقش آن در جذب عناصر غذائی، تحقیقات گسترده ای انجام شده است(نجف زاده و همکاران، ۱۳۸۴) ولی تأثیرات آن بر شاخص های زیستی خاک به ندرت مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر گوگرد و فسفر و نقش گیاه بر زیست توده میکروبی و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی خاک بوده است.

مواد و روش‌ها
این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه انجام شد. فاکتور اول گوگرد همراه با باکتریهای اکسید کننده در ۴ سطح شامل: شاهد بدون مصرف گوگرد(S_0)، مصرف گوگرد به میزان پانصد کیلوگرم در هکتار توام با مصرف باکتری های اکسید کننده گوگرد به میزان ده کیلوگرم در هکتار (S_1)، مصرف گوگرد به میزان هزار کیلوگرم در هکتار توام با مصرف باکتری های اکسید کننده گوگرد به میزان بیست کیلوگرم در هکتار (S_2)، مصرف گوگرد به میزان دو هزار کیلوگرم در هکتار توام با مصرف باکتری های اکسید کننده گوگرد به میزان چهل کیلوگرم در هکتار(S_3)، فاکتور دوم مصرف کود سوپر فسفات تریپل در ۳ سطح شامل: شاهد بدون مصرف کود سوپر فسفات تریپل(P_0) ، مصرف کود سوپر فسفات تریپل به میزان ۶۵ درصد مقدار توصیه شده بر اساس آزمون خاک (P_1)و مصرف کود سوپر فسفات تریپل بر اساس آزمون خاک (P_2)بود. لازم به ذکر است که فقط ۸ متر از ده متر، کاشت شده بود و دو متر انتهایی بدون کاشت بود. بنابراین در دل هر تیمار و با همان عنوان تیمار بدون گیاه نیز وجود داشت. بذرمصرفي نیز رقم سینگل کراس ۷۰۴ بود. پس از برداشت ذرت، از هر کرت یک نمونه مرکب تهیه گردید. کربن زیست توده میکروبی با روش وانس و همکاران (۱۹۸۷) و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدي (عیوضی و طباطبایی، ۱۹۹۷) اندازه گیری شد. در پایان تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج و بحث
جدول (۱) برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه را نشان می دهد.

جدول۱- برخی ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی خاک

	pH	کربن آلی(%)		بافت	فسفرقابل جذب	پتاسیم قابل جذب	آهن قابل جذب	روی قابل جذب

قابلیت هدایت الکتریکی ((dS/m		کربنات کلسیم معادل(%)		mg/kg			
۳۱/۱	۱/۸	۶/۰	۳۲	سیلتی کلی لوم	۵/۱۰	۲۴۲	۵	۶۶/۰

جدول ۲ نتایج تجزیه واریانس تأثیر گوگرد، فسفر و گیاه را بر کربن زیست توده میکروبی و فسفاتاز قلیایی و اسیدی نشان می دهد. نتایج نشان داد که تاثیر هر سه عامل گیاه، فسفر و گوگرد بر کربن زیست توده میکروبی در سطح یک درصد معنی دار بود. وجود گیاه باعث افزایش معنی دار کربن زیست توده میکروبی شد. گیاه فعالیت میکروارگانیسم های خاک را از طریق تولید ترشحات ریشه تحت تأثیر قرار می دهد (سان و همکاران، ۲۰۱۱ ؛ بنیزریت و همکاران، ۲۰۰۷).

جدول۲- تجزیه واریانس اثر گوگرد،فسفر و گیاه بر کربن زیست توده میکروبی و فسفاتاز اسیدی و قلیایی

		میانگین مربعات		
منبع تغییرات	درجه آزادی	زیست توده	فسفاتاز قلیایی	فسفاتازاسیدی
بلوک	۲	n.s۷۸/۲۳۴۲۵	n.s۴۸۲۷/۱۷۲۴	n.s۹۴۹۴۹/۵۶۰
گوگرد	۳	۹۱۸۱/۲۸۰۲۷۷**	۹۴۰۲/۸۷۰۴۵**	۰۴۶۷۳/۹۰۲۹*
فسفر	۲	۰۵۵۴/۱۶۲۶۲۴**	n.s۸۷۴۶/۳۲۷۵	n.s۸۲۸۹۲/۲۱۲۰
گوگرد *فسفر	۶ ۸۶۳۷/۴۷۸۸ ۷	۴۴۵۴/۲۴۱۸۷**	۵۶۳۵۴/۵۸۵۰*	
خطا	۲۲	۵۰۳۷/۱۴۳۴۴	۸۴۷۶/۳۹۲۹	۰۶۷۹/۲۱۹۶
گیاه	۱	۶۰۱۱/۷۵۳۱۷۵**	۰۲۳۱/۱۹۹۳۷۴**	۲۴۵۰/۱۷۱۳۹۶**
گوگرد *گیاه	۳	n.s۹۰۸۴/۲۴۰۵ ۱	۰۹۹۲/۳۳۴۵۳**	۴۳۰۳/۹۸۲۲**
فسفر *گیاه	۲	۴۴۳۰/۲۲۲۸۶۴**	n.s۰۹۹۲/۳۳۴۵۳	۱۲۲۲/۱۱۲۶۴**
گوگرد*فسفر*گیاه	۶ ۵۱۷۶/۶۳۰۹ ۸	n.s۵۴۲۱/۶۳۸۹	۴۰۵۶/۶۵۷۴**	
خطای کل	۲۴	۹۷۰/۲۳۴۱۱	۰۰۶۸/۴۶۱۵	۳۹۳۴/۱۶۹۱
ضریب تغییرات		۶۴۲۱۹/۱۸	۶۷۰۹۰/۱۵	۷۷۹۰۴/۲۲

**معنی دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد * معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد n.s غیرمعنی دار

با افزایش مقدار فسفر، کربن زیست توده میکروبی به طور معنی دار کاهش یافت (جدول ۳). دلیل این کاهش اثر فسفر در کاهش ترشحات ریشه اي و در نتیجه کاهش جمعیت میکروارگانیسم ها در ریزوسفر مي باشد. قول لرعطا و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند با افزایش فسفر، کربن زیست توده میکروبی کاهش یافت. مصرف گوگرد تا سطح پانصد کیلوگرم در هکتار باعث تغییر در مقدار زیست توده میکروبی نشد (جدول ۳). با افزایش میزان گوگرد از پانصد کیلوگرم به هزار و دوهزار کیلوگرم در هکتار، زیست توده میکروبی به طور معنی داری در سطح پنج درصد کاهش یافت. یکی از دلایل احتمالی این موضوع، کاهش pH ناشی از مصرف گوگرد در میکروسایت های خاک می باشد. تحقیقات آسیگوپتری و بروک (۲۰۰۸) نشان داد که بین pH خاک و کربن زیست توده خاک

همبستگی منفی معنی داری وجود دارد. یکی دیگر از عوامل احتمالی این کاهش را می توان به افزایش EC ناشی از مصرف گوگرد نسبت داد. ساردینا و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند در خاکهای شور فعالیت های میکروبی محدود می شود. کاهش کربن زیست توده میکروبی با افزایش EC توسط تریپاتی و همکاران (۲۰۰۷) نیز گزارش شده است. نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر گیاه بر فعالیت فسفاتاز قلیایی و اسیدی در سطح یک درصد، اثر گوگرد بر فعالیت فسفاتاز قلیایی در سطح یک درصد و بر فسفاتاز اسیدی در سطح پنج درصد معنی دار بود ولی فسفر اثر معنی دار بر فعالیت فسفاتاز ها نداشت(جدول ۲). وجود گیاه باعث افزایش معنی دار فسفاتاز قلیایی و اسیدی شد)جدول ۳). افزایش فعالیت بیولوژیکی در خاک ریزوسفر نه تنها به دلیل اثر فراوانی بلکه به دلیل افزایش فعالیت میکروبی نیز می باشد. افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و اسیدی در ریزوسفر توسط مکوئی و همکاران(۲۰۱۰) و وانگ و همکاران(۲۰۰۶) نیز گزارش شده است.

جدول ۳- مقایسه میانگین کربن زیست توده میکروبی و فسفاتاز قلیایی و اسیدی

تیمار	سطوح تیمار	کربن زیست توده (μgCg^{-1})	فسفاتازقلیایی ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)	فسفاتازاسیدی ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)
گیاه	$Plant_0$ $Plant_1$	^{b}۴۹/۷۱۸ ^{a}۰۵/۹۲۳	^{b}۸۸/۳۸۰ ^{a}۱۳/۴۸۶	^{b}۷۶/۱۳۱ ^{a}۳۴/۲۲۹
فسفر	P_0 P_1 P_2	^{a}۹۳/۹۰۵ ^{b}۷۷/۸۱۴ ^{c}۶۲/۷۴۱ ^{a}۴۳/۴۴۵ ^{a}۰۱/۴۳۳ ^{a}۰۸/۴۲۲	^{a}۷۶/۱۹۰ ^{a}۶۳/۱۷۸ ^{a}۲۵/۱۷۲	
گوگرد	S_0 S_1 S_2 S_3	^{a}۱۷/۹۱۵ ^{a}۱۹/۹۳۷ ^{b}۲۱/۷۴۱ ^{b}۵۲/۶۸۳	^{a}۲۰/۵۳۰ ^{b}۵۱/۴۱۳ ^{c}۰۳/۳۶۵ ^{b}۲۷/۴۲۵	^{a}۹۵/۲۱۲ ^{b}۰۴/۱۷۸ ^{b}۸۲/۱۶۴ ^{b}۳۷/۱۶۶

میانگین هایی که در هر ستون دارای حرف مشترک هستند، بر اساس آزمون مقایسه میانگین ها به روش دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی دار با یکدیگر ندارند.

سطوح مختلف گوگرد باعث کاهش فسفاتاز قلیایی و اسیدی شد که این کاهش در همه سطوح نسبت به سطح صفر گوگرد (S_0) معنی دار بود. کاهش آنزیم فسفاتاز قلیایی به دلیل تاثیر گوگرد در کاهش pH خاک می باشد. وانگ و همکاران (۲۰۰۶) و جوما و طباطبائی (۱۹۹۷) نیز گزارش کردند کاهش pH خاک، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را به طور معنی دار کاهش می دهد. یکی دیگر از دلایل احتمالی کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی، افزایش EC ناشی از مصرف گوگرد می باشد که باعث تغییر در نوع و ترکیب جمعیت میکروارگانیسمها در ریزوسفر گیاه می شود. کاهش فعالیت آنزیمی ناشی از افزایش EC توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است(ساردینا و همکاران؛ ۲۰۰۳ .(پایداری آنزیمهای خاک با تغییر pH به خصوصیات خاک بستگی دارد (فرانکنبرگر و جانسون، ۱۹۸۲). تغییر در فعالیت های آنزیمی با تغییر pH می تواند به واسطه تغییر در جمعیت میکروبی خاک و ترکیبات وابسته به آن‌ها باشد. مطالعات ویزکوفسکایا و همکاران (۲۰۰۱) نشان داد با افزایش مقدار گوگرد و کاهش pH خاک، فعالیت فسفاتاز قلیایی و اسیدی کاهش یافت. این محققین بیان کردند بسیاری از آنزیمها در محیط های خنثی و کمی اسیدی فعال هستند. گوگرد محیط اسیدی قوی ایجاد می کند که برای آنزیمهایی مثل اوره آز، دهیدروژناز، فسفاتاز قلیایی و حتی فسفاتاز اسیدی نامناسب است.

منابع

نجف زاده نوبر، ز.، شعبانپورشهرستاني، م. و کریمی نیا، آ. ۱۳۸۴. بررسي تاثير كاربرد ماده آلي و گوگرد بر قابليت جذب فسفر و عناصر كم مصرف در خاك. نهمين كنگره علوم خاك ايران، تهران، ايران.

Aciego Pietri J.C. and Brookes P.C. ۲۰۰۸. Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. Soil Biolo. Biochem, ۴۰:۱۸۵۶-۱۸۶۱.

Aon M.A., Cabello M.N., Sarena D.E., Colaneri A.C., Franco M.G., Burgos J.L. and Cortassa S. ۲۰۰۲. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. Appl. Soil. Ecol, ۱۸: ۲۳۹-۲۵۴.

Benizri E., Nguyen C., Piutti S., Slezack-Deschaumes S. and Philippot L. ۲۰۰۷. Additions of maize root mucilage to soil changed the structure of the bacterial community. Soil Biol. Biochem, ۳۹: ۱۲۳۰-۱۲۳۳.
Eivazi J. and Tabatabai M.A. ۱۹۹۷. Phosphatases in soil. Soil Biol. Biochem, ۲۷: ۱۰۱۱-۱۰۱۶.
Ghoularata M., Raeisi F. and Nadian H. ۲۰۰۸. Salinity and phosphorus interactions on growth yield and nutrient uptake by Berseem. clover (*Trifolium alexandrinum* L.). I. J. Field Crops Res, ۶: ۱۱۷-۱۲۶.
Frankenberger J. r. and Johanson J.B. ۱۹۸۲. Effect of pH on enzyme stability in soils. Soil Biol. Biochem, ۱۴: ۴۳۳-۴۳۷.
Hu C. and Cao Z. ۲۰۰۷. Size and activity of the soil microbial biomass and soil enzyme activity in long-term field experiments. W. J. Agri. Sci, ۳: ۶۳-۷۰.
Makoi J.H.J.R., Bambara S. and Ndakidemi P.A. ۲۰۱۰. Rhizosphere phosphatase enzyme activities and secondary metabolites in plants as affected by the supply of Rhizobium, lime and molybdenum in *Phaseolus vulgaris* L. Aust. J. Crop Sci, ۴: ۵۹۰-۵۹۷.
Sanaullaha M., Blagodatskaya E., Chabbi A., Rumpel C. and Kuzyakov Y. ۲۰۱۱. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. Appl. Soil Ecol, ۴۸: ۳۸-۴۴.
Sardinha M.T., Muller H., Schmeisky R. and Joergensen G. ۲۰۰۳. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. Applied Soil Ecology, ۲۳: ۲۳۷-۲۴۴.
Sun H., Yan L. and Mu C. ۲۰۱۲. Rhizosphere microbial dynamics of Leymus chinensis and its correlation with aboveground biomass and soil environment. Afr. J. Microbiol. Res, ۶: ۳۸۱۴- ۳۸۲۰.
Tripathi S., Chakrabarty A., Chakrabarti K. and Bandyopadhyay B.K. ۲۰۰۷. Enzyme activities and microbial biomass in coastal soils of India. Soil Biol. Biochem, ۱۱: ۲۸۴۰-۲۸۴۸.
Wang A. S., Angle J. S., Chaney R.L., Delorme T. A. and McIntosh M. ۲۰۰۶. Changes in soil biological activities under reduced soil pH during Thlaspi caerulescens phytoextraction. Soil Biol. Biochem, ۳۸: ۱۴۵۱-۱۴۶۱.
Wyszkowska J., Kucharski J. and Benedycka Z. ۲۰۰۱. Physicochemical properties and enzymatic activity of sulfur-acidified horticultural soil. Polish Journal of Environmental Studies, ۱۰: ۲۹۳-۲۹۶.

Abstract

Soil enzymes and microbial biomass monitor as indicator for soil quality. Recently, application of sulfur increased because of decreasing of pH and increasing of elements availability. The aim of this study was to investigate the impacts of sulfur, phosphorus and plant on soil microbial biomass and phosphatases activity. A split factorial experiment consisting of four levels of sulfur and three levels of phosphorus and two levels of plant (plant۰ and plant۱) arranged in a complete randomize block design with three replication under field condition. The results showed that microbial biomass carbon and alkaline and acid phosphatase activity were significantly greater in the presence of plant than in the absence of plant. The addition of sulfur and phosphorus to soil decreased microbial biomass carbon, alkaline and acid phosphatase. Sulfur effect was significant on soil microbial carbon, alkaline and acid phosphatase but effect of phosphorus was not significant on phosphatase activities.

Keywords: Microbial biomass, phosphatase enzyme, sulfur, phosphorus