

## مقایسه تغییرات آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز خاک در سه رویشگاه جنگلی و دست کاشت فندق در دو فصل

فرهنگ مراقبی<sup>۱\*</sup>، محمد متینی‌زاده<sup>۲</sup>، بابا خانجانی شیراز<sup>۳</sup>، مریم تیموری<sup>۴</sup> و فرناز افدیده<sup>۵</sup>

\*- نویسنده مسئول، استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری. پست الکترونیک: f.moraghebi@iausr.ac.ir

۲- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۳- کارشناس ارشد پژوهش، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و کشاورزی گیلان

۴- مربی پژوهشی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۵- کارشناس، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری

تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۱۳

### چکیده

تولید و تشریح آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز به ترتیب توسط میکروارگانیسم‌ها و گیاهان نقش مهمی در تبدیل فسفات آلی به معدنی و دسترسی گیاهان به آن دارد. برای مطالعه این دو صفت در رویشگاه‌های فندق از خاک ریزوسفر پایه‌های فندق در دو رویشگاه طبیعی آق‌اولر (استان گیلان) و آریاتپه (استان اردبیل) و رویشگاه دست‌کاشت ایستگاه تحقیقات البرز (استان البرز) در دو فصل بهار و تابستان نمونه‌برداری انجام شد. پس از عصاره‌گیری از خاک و انجام واکنش‌های بیوشیمیایی لازم، فعالیت آلکالین فسفاتاز و اسید فسفاتاز با استفاده از اسپکتروفتومتر سنجیده شد. بررسی‌های ما نشان داد که میزان فسفر قابل جذب در سه رویشگاه متفاوت و به ترتیب در رویشگاه آریاتپه  $23/21$  در رویشگاه البرز  $32/42$  و در رویشگاه آق‌اولر  $56/8$  ppm بود. فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز  $(21/38 \pm) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  و اسید فسفاتاز  $(29/52 \pm) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  خاک در رویشگاه آریاتپه در هر دو فصل بهار و تابستان از دو رویشگاه دیگر بیشتر بود. همچنین بررسی‌ها نشان داد که میزان فعالیت اسید فسفاتاز در تابستان حدود  $2/5$  برابر فعالیت در بهار در هر ۳ منطقه بوده که بیان‌کننده‌ی رشد ریشه‌ها در طول دوره‌ی رویش است. بنابراین فعالیت آلکالین فسفاتاز در فصل تابستان ۲ برابر یا کمتر از آن در ۳ رویشگاه می‌باشد که منعکس‌کننده دوره سکون در فعالیت میکروارگانیسم‌ها در طول تابستان است.

واژه‌های کلیدی: فندق، جنگل، آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز.

### مقدمه

اطلاعات بنیادی درباره‌ی جنبه‌های مختلف اکوسیستم‌های جنگلی مانند کیفیت و عملکرد خاک است. خاک به‌عنوان سیستمی زنده یکی از عوامل مؤثر در تعادل اکوسیستم است و فرایندهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی بی‌شماری بخصوص در سطح میکرو در آن جریان دارد. در تمامی این فرایندها، آنزیم‌ها نقش اساسی را ایفا می‌کنند. حضور آنها در چرخه‌های مختلف خاک سبب آزاد شدن و در

در دهه‌های گذشته بسیاری از اکوسیستم‌های طبیعی به دلیل برداشت‌های بی‌رویه، توسعه صنعتی و فعالیت‌های کشاورزی آسیب دیده‌اند. این شرایط سبب شده تا برنامه‌هایی در سطوح محلی و جهانی برای محافظت از اکوسیستم‌های طبیعی و همچنین احیای مناطق آسیب‌دیده گسترش یابد. اما لازمه‌ی موفقیت در این برنامه‌ها داشتن

برای دانستن شرایط خاک لازم هستند، اما Visser & Parkinson (1992) پیشنهاد کردند که ویژگی‌های زیستی و بیوشیمیایی خاک برای تعیین کیفیت خاک از مهمترین عوامل هستند. فرایندهای زیستی و بیوشیمیایی در خاکها اساس اکوسیستم‌های زمینی هستند. اعضای همه طبقات تغذیه‌ای در اکوسیستم‌ها به خاک به‌عنوان منبع مواد غذایی و همچنین به ارگانوسم‌های خاک برای تجزیه مواد آلی و به چرخش انداختن دوباره عناصر تغذیه‌ای وابسته هستند (Kandeler, 2007).

بررسی فعالیت آنزیم‌های خاک روش متداولی است که به‌طور گسترده برای سنجش فرایندهایی که در چرخه‌های مواد غذایی خاک روی می‌دهد استفاده می‌شود. فعالیت حدود ۱۰۰ آنزیم تاکنون در خاک تعیین شده است. فعالیت آنزیم‌های خاک به اثرهای تخریبی انسان و طبیعت حساس هستند و اندازه‌گیری فعالیت برخی از آنها می‌تواند ارزیابی معتبری از پاسخ متابولیک خاک به روشهای مدیریتی و تنش‌های محیطی را فراهم کند (Nannipieri, 1994). از آنجایی که فعالیت آنزیمی در برابر عوامل بیرونی بسیار حساس بوده و اندازه‌گیری آنها در مقایسه با سایر خصوصیات خاک ارزان‌تر و به نسبت آسان‌تر است، در سال‌های اخیر سنجش فعالیت آنزیم‌های بی‌شماری، اساس تحقیقاتی بوده که در پی یافتن تأثیر مدیریت و تنش‌های محیطی بر روی کیفیت خاک بوده است (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008). آنزیم‌های خاک از منابع گیاهی و میکروبی منشأ می‌گیرند و فعالیت اندازه‌گیری شده‌ی آنها نشان‌دهنده‌ی ترکیبی از آنزیم‌های داخل سلولی، آنزیم‌های خارج سلولی محلول و آنزیم‌های ترکیب‌شده با رس‌ها و مواد آلی است که ثابت شده‌اند. این فعالیت‌ها در تشخیص کیفیت خاک تحت کاربردهای مختلف، انواع تخریب‌های انسانی و غیر انسانی و انواع متفاوتی از رویشگاه‌ها مفید هستند (Adams, 1992; Sinsabaugh *et al.*, 2002).

دسترس قرارگرفتن عناصر موردنیاز گیاهان می‌شود. از این رو سنجش برخی از این آنزیم‌ها می‌تواند شاخص و معیار مهمی برای ارزیابی توان بیولوژیکی خاک و به تبع آن سنجش اکوسیستم باشد. در واقع درک پیچیدگی‌ها، تنوع و توانایی‌های اکوسیستم خاک کوششی است که نیازمند دانش بیولوژی خاک همراه با درک جنبه‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و همچنین داشتن فهم دقیق و جزئی از ارتباطات میان شاخص‌ها، عوامل تخریب‌کننده و پدیده‌های اکولوژی است. عملکرد بیوتای خاک با گستره‌ای از روش‌ها با تمرکز بر روی خواص فیزیولوژیک (مانند تنفس خاک و معدنی کردن ازت) و یا واکنش‌های اختصاصی آنزیمی انجام شده توسط میکروارگانوسم‌های خاک بررسی و تحقیق می‌شود (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008).

ارزیابی اثرهای درازمدت فعالیت‌های انسانی روی خاک جنگل دشوار است. خاکهای جنگلی به‌لحاظ فیزیکی، شیمیایی و زیستی بسیار پیچیده بوده و حتی در بهترین شرایط شاخص‌های کیفی خاک را با چالش روبرو می‌کنند (Staddon *et al.*, 1998). درحقیقت پایش با استفاده از عواملی مانند رشد درختان یا مقدار ماده آلی خاک رضایت‌بخش نیست، زیرا تغییرات این عوامل بسیار کند و زمان‌بر هستند (Turco *et al.*, 1994). به همین دلیل پیشنهاد شده است که کیفیت خاک با استفاده از عواملی که در ارتباط با میکروارگانوسم‌های خاک هستند ارزیابی شود. شاخص‌های میکروبی مانند فعالیت‌های آنزیم خاک، مقدار CO<sub>2</sub> خروجی و ذی‌توده میکروبی به تغییرات در محیط خاک بسیار حساس هستند و می‌توانند اثرهای فعالیت‌های انسانی و تخریب را روی خاک نشان دهند (Turco *et al.*, 1994).

بیولوژی خاک علم مطالعه‌ی فعالیت فون و میکروارگانوسم‌ها و همچنین اکولوژی در خاک است. خواص فیزیکی، شیمیایی، بیوشیمیایی و زیستی همگی

حاضر بر روی تعدادی از پایه‌های منتقل شده از مناطق جنگلی به منطقه کرج انجام شد.

## مواد و روشها

### محل مطالعه

محل برداشت ۱: منطقه آرپاته در ۴۵ کیلومتری شهرستان اردبیل و در خط‌الرأس گردنه حیران جنب روستای آرپاته و در ارتفاع ۱۴۵۰ متری از سطح دریا قرار گرفته است. اقلیم منطقه براساس سیستم دوماتن گسترش یافته خیلی مرطوب نوع الف فراسرد می‌باشد. منطقه براساس منحنیهای باران‌دمایی دارای ۳ ماه فصل خشک می‌باشد (Khalili, 1991). خاک سطحی لوم سیلت و اسیدپته آن حدود ۶/۸ است (Moraghebi, 2012).

محل برداشت ۲: منطقه آق‌اولر از توابع شهرستان تالش در ۳۵ کیلومتری جنوب این شهرستان و در ارتفاع حدود ۱۴۰۰ تا ۱۵۰۰ متر قرار دارد. اقلیم منطقه براساس سیستم دوماتن گسترش یافته خیلی مرطوب نوع الف فراسرد و منطقه فاقد فصل خشک است (Khalili, 1991). خاک سطح منطقه عمدتاً لومی و اسیدپته خاک حدود ۶/۹ است (Moraghebi, 2012).

محل برداشت ۳: مرکز تحقیقات البرز در فاصله حدود ۱۵ کیلومتری جنوب شهرستان کرج در مسیر جاده قدیم کرج- فردیس، روبروی مجتمع شهید کجویی است. ارتفاع منطقه ۱۴۰۰ متر، میانگین بارندگی سالانه ۲۵۰ میلی‌متر، حداقل دمای سالانه ۲۱/۷-، حداکثر دمای سالانه ۴۱ درجه و اقلیم منطقه نیمه‌خشک است (Khalili, 1991). مساحت تقریبی ایستگاه ۸۰ هکتار، بافت خاک لومی تا لوم رسی با اسیدپته ۸/۳ است (Moraghebi, 2012). پایه‌های کاشته‌شده فندق در این منطقه بصورت ۷ تا ۱۰ روز یکبار در تابستان به علت مقابله با خشکی زیاد هوا آبیاری شدند.

فسفاتازها از آنزیم‌های کلیدی در چرخه‌ی فسفر خاکها هستند و فعالیت فسفاتازها یک شاخص مناسب برای تعیین قابلیت معدنی شدن فسفر آلی و فعالیت‌های زیستی خاک است. فسفاتازهای خاک خارج سلولی بوده و توسط ریشه‌ی گیاهان و میکروارگانیسم‌ها ترشح می‌شوند (Antonietta Roa, et al., 2000). فعالیت فسفاتازها به خاک و وضعیت پوشش گیاهی، تغییرات انجام شده در اثر روشهای مختلف مدیریتی (Adams, 1992) و رطوبت و دمای خاک (Speir & Cowling, 1991) بستگی دارد. در ایران مطالعات بسیار کمی در خصوص استفاده از آنزیم‌ها برای ارزیابی قابلیت زیستی خاک انجام شده است. (Shirvani, 2004) با مطالعه در اکوسیستم‌های ملج‌های سالم و بیمار گزارش کرد که فعالیت آنزیم‌ها در خاک ملج‌های سالم با افزایش عمق به‌طور منظم کاهش می‌یابد، در حالی که خاک ملج‌های بیمار از نظم مناسبی در فعالیت آنزیم‌ها برخوردار نبود. (Matinizadeh et al., 2004) با مطالعه در دو رویشگاه دست‌خورده و دست‌نخورده‌ی بلوط در چهارمحل و بختیاری نشان دادند که فعالیت آنزیم‌های اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز در منطقه‌ی دست‌نخورده به‌طور معنی‌داری از منطقه‌ی دست‌خورده بیشتر است. ضمن آنکه در منطقه دست‌خورده تغییرات فعالیت آنزیم‌ها با افزایش عمق دارای نظم نبود.

کشور ایران با حدود ۲٪ تولید فندق جهان در رتبه پنجم قرار دارد. در حال حاضر پایه‌های متعددی از این گونه در استان‌های اردبیل و گیلان به‌صورت خودرو مشاهده می‌شود. این گیاه به علت نورپسندی امکان استقرار در داخل جنگل را نداشته و معمولاً در حاشیه فوقانی جنگل‌ها مستقر می‌شود (Moraghebi, et al., 2008) با توجه به شرایط مناسب کشور ایران برای گسترش پایه‌های فندق و افزایش بهره‌وری، پژوهش

## نمونه‌برداری از خاک

در کلیه مناطق مورد بررسی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز خاک، برخی عوامل شیمیایی خاک نظیر میزان ازت کل با استفاده از روش هضم کج‌جلدال (Bremmer & Mulvaney, 1982)، فسفر قابل جذب (Olsen *et al.*, 1954) و ماده آلی (Walkley & Black, 1934) نیز اندازه‌گیری شد. زمان نمونه‌برداری با توجه به اقلیم مناطق در زمان‌های اواسط بهار (حداکثر فعالیت فتوسنتزی برگها) و اواخر تابستان بود. در هر کدام از محلها (در صورت همگونی و یکنواختی رویشگاه) پنج تکرار از عمق ۰ تا ۲۰ سانتی‌متری خاک جمع‌آوری شد، در این عمق بیشترین فعالیت آنزیمی وجود دارد. نمونه‌ها به همراه خاک در کیسه‌های نایلونی و در داخل یخدان به آزمایشگاه منتقل و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

## سنجش فعالیت فسفاتازها

با استفاده از واکنش آنزیم-سوبسترا، آنزیم فسفاتاز در محیط بافری سوپسترای خود پارانیتروفنل فسفات را در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به پارا نیتروفنل تبدیل می‌کنند. این محصول توسط سود استخراج شده و رنگ بدست‌آمده از آن در طول موج ۴۰۰ نانومتر و به کمک اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و فعالیت آن براساس میکروگرم پارانیتروفنل در ساعت در گرم خاک گزارش شد. بهترین pH برای فعالیت بهینه‌ی اسید فسفاتاز حدود ۶/۵ و برای آلکالین فسفاتاز ۱۱ است (Ohlinger, 1996). برای بررسی میزان فعالیت آنزیم‌ها در مناطق از آزمون T-test استفاده شد و در سطح احتمال ۱ و ۵٪ مناطق با یکدیگر مقایسه شدند.

## نتایج

## ویژگیهای شیمیایی خاک مناطق مطالعه‌شده

برای این تحقیق برخی از عناصر مهم و مرتبط با چرخه‌های غذایی خاک سنجش گردید (جدول ۳). مقدار فسفر در آق‌اولر، آرپاتپه و البرز به ترتیب ۵۶/۸، ۲۳/۲۱ و ۳۲/۴۲ و درصد ازت در این مناطق ۰/۴۳، ۰/۱۷ و ۰/۲۵ بود (جدول ۳).

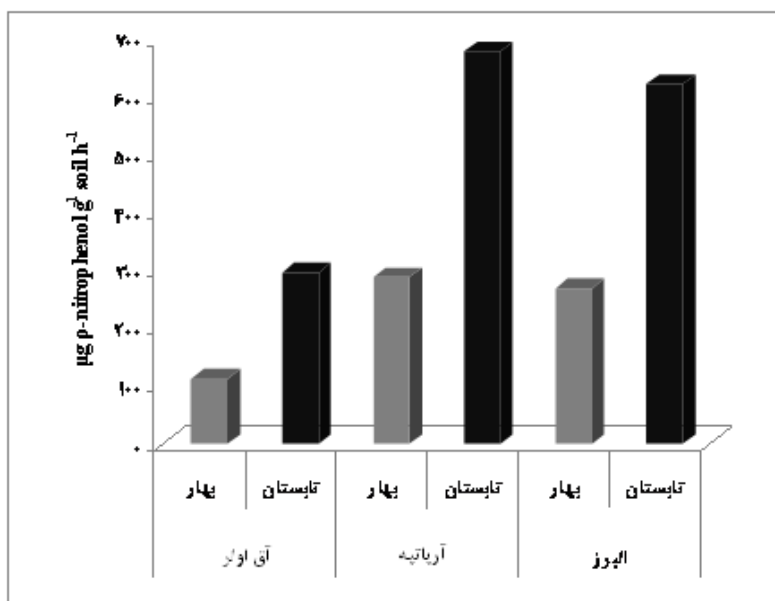
## تغییرات فعالیت اسید فسفاتاز در دو فصل بهار و تابستان

در هر سه منطقه آق‌اولر، آرپاتپه و البرز فعالیت اسید فسفاتاز در دو فصل بهار و تابستان سنجیده شد. در آق‌اولر این فعالیت از  $112/24 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 8/23$ ) در بهار تا  $295/54 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 15/64$ ) در تابستان تغییر نمود (شکل ۱). در آرپاتپه از  $288/53 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 18/79$ ) در بهار تا  $678/02 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 17/29$ ) در تابستان متفاوت بود (شکل ۱). تغییرات این فعالیت در البرز نیز از  $620/23 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 21/73$ ) در بهار تا  $268/40 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  ( $\pm 21/73$ ) در تابستان تفاوت داشت (شکل ۱). همان‌گونه که مشاهده می‌شود فعالیت اسید فسفاتاز در آرپاتپه بیش از دو برابر آن در آق‌اولر است و این روند در هر دو فصل بهار و تابستان وجود دارد. فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز در بهار در سه منطقه دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ بود، همچنین اختلاف فعالیت آنزیم در بهار و تابستان در کلیه مناطق در سطح ۱٪ معنی‌دار شد. در تابستان نیز میزان اختلاف فعالیت در سه منطقه همچنان فاحش بوده و در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه تغییرات آنزیم اسید فسفاتاز در بهار و تابستان در سه منطقه براساس آزمون T-test

تابستان آریاتپه	تابستان آقاولر	بهار آریاتپه	بهار البرز	
-	۶۸/۳۹**	۴۷/۰۱**	۵۲/۵۷**	بهار آقاولر
۶۷/۲۶**	-	-	۴/۵۳**	بهار آریاتپه
۱۰/۲۱**	۷۹/۵۸**	-	۸۲/۳۹**	تابستان البرز
-	۷۴/۱۲**	-	-	تابستان آریاتپه

\*\* معنی دار در سطح ۱ درصد



شکل ۱- نمودار فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز در خاک سه رویشگاه فندق در آقاولر، آریاتپه و البرز کرج در خرداد و شهریور

تغییرات فعالیت آلکالین فسفاتاز در دو فصل بهار و تابستان (شکل ۲). فعالیت آلکالین فسفاتاز همانند اسید فسفاتاز در هر دو فصل بهار و تابستان در آریاتپه بیش از دو برابر آن در آقاولر بود. این فعالیت در البرز بسیار نزدیک به آریاتپه بود. فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در بهار در سه منطقه دارای اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ بود، همچنین اختلاف فعالیت آنزیم در بهار و تابستان در کلیه مناطق در سطح ۱٪ معنی دار شد. در تابستان میزان اختلاف فعالیت در دو منطقه آریاتپه و آقاولر فاحش بوده و در سطح ۱٪ معنی دار شد، اما اختلاف فعالیت بین منطقه البرز و آریاتپه در سطح ۵٪ معنی دار شد (جدول ۲).

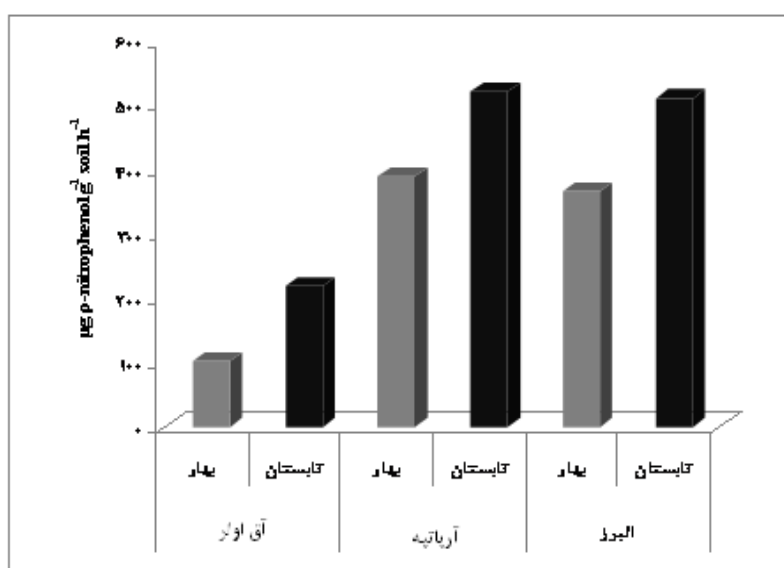
### تغییرات فعالیت آلکالین فسفاتاز در دو فصل بهار و تابستان

اندازه گیری فعالیت آلکالین فسفاتاز در هر سه منطقه آقاولر، آریاتپه و البرز در دو فصل بهار و تابستان انجام شد. در آقاولر این فعالیت از  $58/11 (\pm 8/11) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در بهار تا  $218/76 (\pm 11/53) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در تابستان تغییر نمود (شکل ۲). در آریاتپه از  $218/76 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در بهار تا  $388/98 (\pm 23/18) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در تابستان متفاوت بود (شکل ۲). تغییرات فعالیت آلکالین فسفاتاز در البرز نیز از  $218/76 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در بهار تا  $365/20 (\pm 11/18) \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  در تابستان متفاوت بود (شکل ۲).

جدول ۲- مقایسه تغییرات آنزیم آلکالین فسفاتاز در بهار و تابستان در سه منطقه براساس آزمون T-test

تابستان آق‌اولر	تابستان آق‌اولر	بهار آرپاتپه	بهار البرز	
-	۵۴/۱۷**	۷۴/۴۶**	۱۲۲/۲۸**	بهار آق‌اولر
۳۶/۸۶**	-	-	۵/۹**	بهار آرپاتپه
۲/۴۹*	۹۹/۱۱**	-	۴۹/۳۰**	تابستان البرز
۸۰/۴۷**	-	-	-	تابستان آق‌اولر

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ درصد و ۱ درصد



شکل ۲- نمودار فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در خاک سه رویشگاه فندق در آق‌اولر، آرپاتپه و البرز کرج در خرداد و شهریور

جدول ۳- ویژگی‌های خاک در سه منطقه آق‌اولر، آرپاتپه و ایستگاه البرز

کربن (درصد)	ماده آلی (درصد)	پتاسیم (ppm)	ازت (درصد)	کلسیم (ppm)	منیزیم (ppm)	فسفر (ppm)	CEC (ppm)	
۳/۹	۶/۷	۹۸۹	۰/۴۳	۲۶/۴	۶/۴	۵۶/۸	۲۷۰	آق‌اولر
۳/۷۱	۴/۶۴	۲۷۹/۵	۰/۱۷	۳۰/۴	۱۸/۴	۲۳/۲۱	۳۰۰	آرپاتپه
۳/۶۵	۵/۲	۳۴۰	۰/۲۵	۳۲/۵	۱۴/۵	۳۲/۴۲	۲۹۰	البرز

## بحث

روی خاک جنگل دشوار است. خاکهای جنگلی به لحاظ فیزیکی، شیمیایی و زیستی بسیار پیچیده بوده، حتی در بهترین شرایط شاخص‌های کیفی خاک را با چالش روبرو می‌کنند (Staddon et al., 1998). درحقیقت پایش با استفاده از عواملی مانند رشد درختان یا مقدار ماده آلی

یکی از اصلی‌ترین نیازهای گیاهان برای زندگی دسترسی کافی به فسفات معدنی است. فسفات‌های خاک با تبدیل فسفات آلی به معدنی شرایط استفاده گیاه را فراهم می‌نمایند. ارزیابی اثرهای درازمدت فعالیت‌های انسانی

### تأثیر فصل بر فعالیت اسید فسفاتاز در مناطق مختلف بررسی شده

اسید فسفاتازها را به طور عمده ریشه گیاهان تولید می‌کنند، هرچند که میکروارگانیسم‌ها نیز کمی در تولید آنها سهم دارند (Tabatabai, 1994). اما فعالیت این آنزیم در آرپاتپه به شکل معنی‌داری از آقاولر بیشتر بوده است (جدول ۱) که می‌توان دلیل آن را تراکم در هکتار بیشتر در آرپاتپه دانست که به دلیل گسترش مطلوب و بیشتر ریشه گیاهان در زیر تاج پوشش خود در رویشگاه آرپاتپه باشد. (Benizri & Amiaud (2005) و Bastida et al. (2006) ارتباط مستقیم میان فعالیت آنزیم‌های خارج سلولی را با پوشش گیاهی گزارش کردند که با افزایش تراکم گیاهی بر میزان فعالیت آنزیم‌ها افزوده شد.

فعالیت اسید فسفاتاز در تابستان بیشتر از بهار بوده است. این افزایش فعالیت را می‌توان ناشی از رشد ریشه‌های فندق و ترشح آنزیم در دوره رویشی دانست که منجر به افزایش فعالیت اسید فسفاتاز شده است که با یافته‌های (Kaiser & Heinemeyer (1993) مطابقت داشت. البته در منطقه البرز میزان فعالیت کمتر از آقاولر و بیشتر از آرپاتپه می‌باشد. بنابراین آنزیم‌های خاک در منطقه البرز فعالتر از منطقه آرپاتپه می‌باشد.

### تأثیر فصل بر فعالیت آلکالین فسفاتاز، در مناطق مختلف بررسی شده

منشأ تولید آلکالین فسفاتازها میکروارگانیسم‌ها و فون خاک هستند (Findenegg & Neimans, 1993; Yadav & Tarafdar, 2003) و گیاهان از این آنزیم عاری هستند (Tarafdar et al., 2001). فعالیت این آنزیم نیز در منطقه آرپاتپه در هر دو فصل بهار و تابستان در سطح احتمال ۱٪ بیشتر از آقاولر بوده است (جدول ۲). پوشش و تراکم بیشتر فندق‌ها در منطقه آرپاتپه می‌تواند دلیل مناسبی برای این تفاوت باشد. زیرا خاک در این شرایط از لحاظ

خاک رضایت‌بخش نیست، زیرا تغییرات این عوامل بسیار کند و زمان‌بر هستند (Turco et al., 1994). از آنجایی که خواص بیوشیمیایی و زیستی خاک بسرعت در برابر تنش‌های محیطی پاسخ می‌دهند (lein et al., 1985; Nannipieri et al., 1990) بنابراین می‌توان از آنها برای ارزیابی قابلیت خاک و اثرهای مختلف فعالیت‌های انسانی یا تنش‌های محیطی بر روی خاک استفاده کرد. از میان ویژگی‌های مختلف خاک می‌توان به فعالیت‌های آنزیم‌های خاک اشاره کرد که به اثرهای تخریبی انسان و طبیعت حساس بوده و اندازه‌گیری فعالیت‌های گروهی از آنها می‌تواند ارزیابی معتبری از پاسخ متابولیکی خاکها به روشهای مدیریتی، تغییرات آب و هوایی، تنش‌های محیطی و همچنین چرخه‌های غذایی خاک را فراهم کند (Tabatabai & Dick, 2002; Sinsabaugh, et al. 2002; Kandeler, 2007). اسید فسفاتازها به طور عمده توسط ریشه‌ی گیاهان و به میزان کم توسط میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند (Tabatabai, 1994) و در نگهداری کیفیت خاک نقش مهمی دارند (Acosta-Martinez & Tabatabai, 2001). یکی از رابطه‌های جالب توجه در این پژوهش میزان فسفر قابل جذب در رویشگاه‌های مورد بررسی بود که با فعالیت اسید فسفاتاز مطابقت و رابطه‌ی عکس داشت. شکل ۱ و ۲ تأثیر فعالیت بیشتر آنزیم‌های فسفاتاز را در منطقه آرپاتپه نشان می‌دهد که منجر به تولید مقدار بیشتر فسفر در مقایسه با منطقه آقاولر شده است. اما به دلیل تراکم بیشتر پایه‌های فندق فسفر آزاد شده جذب گیاهان می‌گردد. اثر این آنزیم بر آزادسازی فسفات قابل جذب برای گیاه در پژوهش‌های فراوانی گزارش شده است (Kramer & Green, 2000; Chen, 2003; Baum et al., 2003). در منطقه البرز میزان فعالیت کمتر از آقاولر و بیشتر از آرپاتپه می‌باشد. بنابراین آنزیم‌های خاک در منطقه البرز فعالتر از منطقه آرپاتپه می‌باشد. زیرا در هر دو منطقه در فصل تابستان فصل خشک می‌باشد، در حالی که منطقه آقاولر فاقد فصل خشک در طول سال است.

Kaiser & Heinemeyer (1993) نیز مشاهده کردند که در پایان تابستان فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافته است. در منطقه البرز میزان فعالیت کمتر از آق‌اولر و بیشتر از آرپاتپه می‌باشد. بنابراین آنزیم‌های خاک در منطقه البرز فعالیت از منطقه آرپاتپه می‌باشد. اما از نظر آماری فقط در حد ۰.۵٪ اختلاف بین دو ناحیه مشاهده شد.

### سپاسگزاری

این مقاله قسمتی از نتایج طرح تحقیقاتی تحت عنوان «بررسی آنزیم‌های میکوریزی در پایه‌های فندق مستقر شده در کرج با پایه‌های مادری در جنگل» می‌باشد که توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری تأمین مالی شده است، بدین‌وسیله از کلیه مسئولان ذی‌ربط در دانشگاه و معاونت پژوهشی قدردانی می‌گردد.

دما و رطوبت از تعادل بیشتری برخوردار است، میکروارگانسیم‌ها رشد و فعالیت بیشتری دارند و آلکالین فسفاتاز که جزو آنزیم‌های با منشأ میکروارگانیسمی هستند فعالیت بیشتری نشان داده‌اند. این نتایج با یافته‌های Sedia & Ehrenfeld و Kramer & Green (2000) (2006) مطابقت داشت.

در هر سه منطقه مورد پژوهش، افزایش فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در تابستان مشاهده شد (جدول ۲). افزایش فعالیت آنزیم‌ها را می‌توان به اقلیم مناطق مورد بررسی که دارای اعتدال مناسب در دما و رطوبت هستند نسبت داد. در این زمان چتر گیاهان به‌طور کامل گسترش یافته و سایه‌انداز کاملی بر روی خاک ایجاد می‌نماید، در این حالت، شرایط برای ادامه زندگی و رشد میکروارگانسیم‌ها در طی دوره تابستان مناسب بوده و به همین علت با افزایش در فعالیت روبرو خواهیم شد.

### منابع مورد استفاده

#### References

- Acosta-Martinez, V. and Tabatabai, M.A., 2001. Arylamidase activity in soils: Effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases. *Soil Biology & Biochemistry*, 33: 17-23.
- Adams, M.A., 1992. Phosphatase activity and phosphorus fractions in Karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, 14: 200-204.
- Antonietta Rao, M., Violante, A. and Gianfreda, L., 2000. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 1007-1014.
- Bastida, F., Moreno, J.L., Hernández, T. and García, C., 2006. Microbiological degradation index of soils in a semiarid climate. *Soil Biology and Biochemistry*, 38: 3463-3473.
- Baum, C., Leinweber, P. and Schlichting, A., 2003. Effects of chemical conditions in re-wetted peats temporal variation in microbial biomass and acid phosphatase activity within the growing season. *Applied Soil Ecology*, 22: 167-174.
- Benizri, E. and Amiaud, B., 2005. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 37: 2055-2064.
- Bremner, J.M. and Mulvaney, C.S., 1982. Nitrogen-total. In: Page, A.L., (Ed.). *Methods of Soil Analysis, Part 2: Chemical and Biological Methods*. Agronomy Monograph 9, Part 2, 2nd ed. American Society of Agronomy, Madison, WI. pp. 595-624.
- Chen, H.J., 2003. Phosphatase activity and P fractions in soils of an 18-year-old Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *Forest Ecology and Management*, 178: 301-310.
- Findenegg, G.R. and Neimans, J.A., 1993. The effect of phytase on the availability of P from myo-inositol hexaphosphate (phytate) for maize roots. *Plant and Soil*, 154 (2): 189-196.
- Khalili, A., 1991. State Water Plan- Understanding of Climate. publisher Jamab Consulting Engineers (DOE). 425 p.
- Kaiser, E.A. and Heinemeyer, O., 1993. Seasonal variations of soil microbial biomass carbon within the plough layer. *Soil Biology and Biochemistry*, 25 (12): 1649-1656.



- Kandeler, E., 2007. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. In: Paul, E.A., (Ed.). Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry. Academic Press, Oxford, UK: 53-80.
- Klein, D.A., Sorensen, D.L. and Redente, E.F., 1985. Soil enzymes: A predictor of reclamation potential and progress. In: Tate, R.L. and Klein, D.A., (Eds.). Soil Reclamation Processes. Microbiological Analyses and Applications. Marcel Dekker, New York: 273-340.
- Kramer, S. and Green, D.M., 2000. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in semiarid woodland. Soil Biology and Biochemistry, 32: 179-188.
- Matinizadeh, M., Ali Ahmad Korori, S., Khoshnevis, M. and Teimouri, M., 2004. Identification of symbiotic mycorrhizal fungi with juniper (*Juniperus excelsa*) and their prevalence in Syrachal habitat. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 13 (4): 385-400.
- Moraghebi, F., Matinizadeh, M. and Khanjani Shiraz, B., 2008. Comparison of changes in Karaj morphologically based hazelnut trees with native trees in the area and Fandoghlo Station. Journal of Plant and Ecosystem Research, 14 (4): 12-24
- Moraghebi, F., Teimouri, M., Khanjani, S.B. and Heidari, H., 2012. Study of antimicrobial effects of aqueous extract of leaf and shaton of hazel in a number of natural habitat and planting. Plant and Ecosystem. 31: 18-27.
- Nannipieri, P., 1994. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. and Grace, P.R., (Eds.). Soil Biota: Management in Sustainable Farming Systems. CSIRO Information Services, Victoria, Australia: 238-244.
- Nannipieri, P., Grego, S. and Ceccanti, B., 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag, J.M. and Stotzky, G., (Eds.). Soil Biochemistry. Marcel Dekker, New York, 6: 293-355.
- Ohlinger, R., 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate p-nitrophenyl phosphate. In: Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R. and Margesin, R., (Eds.). Methods in soil biology. Springer-Verlag Berlin: 210-214.
- Olsen, S.R., Cole, C.V., Vatanbe, F.S. and Dean, L.A., 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate, U.S.D.A. cir. 939. Washington D.C: 75-79.
- Sedia, E.G. and Ehrenfeld, J.G., 2006. Differential effects of lichens and mosses on soil enzyme activity and litter decomposition. Biology and Fertility of Soils, 43: 177-189.
- Shirvani, A., 2004. Study healthy and diseased elms (*Ulmus glabra* Hudson) to find disease-resistant elm cultivars in four districts of northern Iran. PhD Thesis, Faculty of Natural Resources, Tehran University, 187 pages.
- Sinsabaugh, R.L., Carreiro, M.M. and Alvarez, S., 2002. Enzyme and microbial dynamics of litter Decomposition. In: Burns, R.G. and Dick, W.A., (Eds.). Enzymes in the environment. Marcel Dekker, New York: 249-266.
- Speir, T.W. and Cowling, J.C., 1991. Phosphatase activities of pasture plants and soils: relationship with plant productivity and soil P fertility indices. Biology and Fertility of Soils, 12: 189-194.
- Staddon, W.J., Duchesne, L.C. and Trevors, J.T., 1998. Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulfatase activities in soils from a jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification. Biology and Fertility of Soils, 27: 1-4.
- Tabatabai, M.A., 1994. Soil enzymes. In: Weaver, R.W., Angle, J.S. and Bottomley, P.S., (Eds.). Methods of Soil Analysis, Part 2, Microbiological and Biochemical Properties. SSSA, Madison, W.I: 775-833.
- Tabatabai, M.A. and Dick, W.A., 2002. Enzymes in soil. In: Burns, R.G. and Dick, W.A. (Eds.). Enzymes in the environment. Marcel Dekker, New York: 567-596.
- Tarafdar, J.C., Yadav, R.S. and Meena, S.C., 2001. Comparative efficiency of acid phosphatase originated from plant and fungal sources. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 164 (3): 279-282.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C. and Gil-Sotres, F., 2008. Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. Soil Biology and Biochemistry, 40: 2146-2155.
- Turco, R.F., Kennedy, A.C. and Jawson, M.D., 1994. Microbial indicators of soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicke, D.F. and Stewart, B.A., (Eds.). Defining soil quality for a sustainable environment. Soil Science Society of America, Special Publication, 35: 73-90.
- Yadav, R.S. and Tarafdar, J.C., 2003. Phytase and phosphatases producing fungi in arid and semi-arid soils and their efficiency in hydrolyzing different organic P. Soil Biology and Biochemistry, 35: 745-751.
- Visser, S. and Parkinson, D., 1992. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. American Journal of Alternative Agriculture, 7: 33-37.
- Walkley, A. and Black, I.A., 1934. An examination of the Degtjareff method for determining organic carbon in soils: Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. Soil Science, 63: 251-263.

## Comparison of acid phosphatase and alkaline phosphates activity in soil of three natural and planted habitats of hazel in two seasons

F. Moraghebi<sup>1\*</sup>, M. Matinizadeh<sup>2</sup>, B. Khanjani Shiraz<sup>3</sup>, M. Teimoori<sup>4</sup> and F. Afdide<sup>5</sup>

1\*- Corresponding author, Assistant Professor, Islamic Azad University. Shahr-e-Rey Branch, Iran. E-mail: f.moraghebi@iausr.ac.ir

2- Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

3- Senior Research Expert, Agricultural and Natural Resources Research Center of Guilan Province, Rasht, Iran

4- Senior Research Expert, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

5- Research Expert, Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahr-e-Rey Branch, Iran

### Abstract

Production and secretion of alkaline and acid phosphatase by microorganisms and plants has a very important role in mineralization of organic phosphate and availability of it for plants. Acid and alkaline phosphatase activity was assayed in two hazel natural habitats including Agh-e-velar in Gilan province and Arpatappeh in Ardebil province and compared with their activity in artificial habitat in Alborz research center in Alborz province. Soil sampling was made in spring and summer. Available phosphorus and acid and alkaline phosphatase activity was assayed by spectrophotometer. The results showed that available phosphorus was 23.21, 32.42 and 56.8 ppm in Arpatappeh, Alborz and Agh-e-velar habitats, respectively. Acid phosphatase ( $678.02(\pm 29.52) \mu\text{g } \rho\text{NP } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) and alkaline phosphatase ( $520.35(\pm 21.38) \mu\text{g } \rho\text{NP } \text{g}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ) activity in Arpatappeh was more than the those in other habitats at both spring and summer seasons. In addition, acid phosphatase activity in summer was almost 2.5 times more than that one in summer at the three locations, which indicates root growth through growth season. Alkaline phosphates showed opposite pattern. Alkaline phosphatase activity in summer samples was two times more than its samples in spring at the three locations, which indicates a decrease in microbial activity at summer

**Key words:** Acid phosphatase, Alkaline phosphataes, Forest, Hazel.