بررسی اثر کاربرد کود شیمیایی و مواد آلی بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در برخی از خاک‌های کشور

میترا افشاری[1]، محمود رمضانپور، عبدالحسین ضیاییان، سید محمد هادی موسوی فضل و حمیدرضا ذبیحی

عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران؛ **mi_afshari@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مازندران، ایران؛ **mrramezanpour@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، فارس، ایران؛ **ziaeyan_39@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، خوزستان، ایران؛ **mousavifazl@yahoo.com**

عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی؛ سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، فارس، ایران؛ **zabihi_hamidreza@yahoo.com**

دریافت: **95/3/23** و پذیرش: **96/6/22**

چکیده

فراهمی فسفر در خاک وابستگی زیادی به فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی دارد. به منظور بررسی اثر کود شیمیایی فسفر و مواد آلی بر فعالیت این آنزیم‌ها آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در کشت ذرت در استان‌های خوزستان، خراسان رضوی، فارس و مازندران انجام شد. تیمارها شامل تیمار یک: مصرف کود شیمیایی فسفری بر اساس آزمون خاک ($P_{100\%}$)، تیمار دو: مصرف ماده آلی از منبع اول به میزان 20 تن در هکتار (P_0M_2)، تیمار سه: مصرف ماده آلی از منبع دوم به میزان 20 تن در هکتار (P_0M_4)، تیمار چهار: تیمار اول بعلاوه تیمار دوم ($P_{100\%}M_2$)، تیمار پنج: تیمار اول بعلاوه تیمار سوم ($P_{100\%}M_4$) و تیمار شش: بدون مصرف کود شیمیایی فسفری و مواد آلی (P_0M_0) بود. از هر استان 36 نمونه (قبل و بعد از کشت) و در کل از چهار استان 144 نمونه تهیه و مورد آزمون قرار گرفت. نتایج نشان داد که تاثیر تیمارها در دوران قبل و بعد از کشت ذرت به ترتیب بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز 75 و 87/5 درصد از استان‌های مورد مطالعه معنی‌دار بوده است. پوشش گیاهی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز نسبت به تیمارهای قبل از کشت شد. درحالیکه استفاده از تنها کود شیمیایی فسفر ، منجر به کاهش تقریبا 22 درصدی فعالیت این آنزیم‌ها گردید. مصرف کود آلی منجر به افزایش فعالیت آنزیمی شد.

واژه‌های کلیدی: کود فسفره، آنزیم فسفاتاز، ماده آلی و کود شیمیایی

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: کرج- موسسه تحقیقات خاک و آب، بخش تحقیقات بیولوژی خاک

مقدمه

افزایش بیش از اندازه جمعیت جهان و نیاز به غذا در قرن 21 به عنوان یک معضل بزرگ مطرح می‌باشد. تأمین غذا برای این جمعیت در حال افزایش تنها از دو راه امکان‌پذیر است، افزایش سطح زیر کشت و افزایش عملکرد در واحد سطح. با توجه به وضعیت اقلیمی کشور، افزایش سطح اراضی زراعی چندان قابل توصیه نمی‌باشد، بنابراین می‌بایست به فکر افزایش عملکرد بود. یکی از راه‌های افزایش عملکرد، بهبود خواص فیزیکی و تغذیه‌ای خاک مزارع با افزودن کودهای شیمیایی و آلی به خاک می‌باشد. با توجه به اینکه کشور ما در منطقه نوار خشک جهان قرار گرفته است مقدار مواد آلی خاک‌ها به استثنای شمال کشور، در حدود چند دهم درصد بوده و با مقدار مناسب آن که بین دو تا سه درصد است فاصله بسیار دارد. بنابراین اینگونه به نظر می‌رسد که اضافه کردن کودهای آلی به این خاک‌ها می‌تواند امری مؤثر در جهت بهبود حاصلخیزی و افزایش عملکرد در واحد سطح باشد.

مطالعات محققین در سال‌های گذشته نشان داده است که افزودن کودهای آلی به خاک ضمن بهبود خصوصیات فیزیکی، زیست توده میکروبی را نیز افزایش می‌دهد (لیانگ و همکاران، 2003 و کاوور و همکاران، 2005). افزایش زیست توده میکروبی هم به نوبه خود به صورت مستقیم و غیر مستقیم در بهبود حاصلخیزی خاک مؤثر است. به عنوان مثال فعالیت‌های آنزیمی خاک که واکنش‌های بیوشیمیایی و چرخه عناصر غذایی را کاتالیز می‌کنند شدیداً وابسته به فعالیت زیست توده میکروبی است (بورن، 1982). در واقع کاربرد مقادیر متعادل از کودهای آلی و معدنی فعالیت آنزیمی خاک را افزایش می‌دهد (تو و همکاران، 2006). فسفاتازها انواعی از این آنزیم‌ها هستند که از طریق هیدرولیز منواسترهای اسیدفسفریک، توانایی معدنی کردن فسفرآلی خاک را داشته و از این طریق در چرخه بیوژئوشیمی فسفر خاک نقش مهمی دارند (گوماریس و همکاران، 2006). مهم‌ترین انواع فسفاتازهای آنزیمی در خاک‌ها، فسفاتاز اسیدی و قلیایی هستند که به علت اهمیتشان در معدنی شدن فسفر آلی خاک و تغذیه گیاهان، بیش از سایر گروه‌های فسفاتاز مورد توجه قرار گرفته‌اند.

فسفاتاز اسیدی در خاک‌های اسیدی و فسفاتاز قلیایی در خاک‌های قلیایی غالب هستند (جوما و طباطبایی، 1977 و ساپاراتکا، 2003). منبع این آنزیم‌ها در خاک ترشحات ریشه‌ای گیاهان و میکروب‌های خاک می‌باشد. بنابراین میزان فعالیتشان در خاک وابسته به وجود پوشش گیاهی، خصوصیات فیزیکی خاک‌ها (نیکولاردوت و همکاران، 1994) مقدار و شدت فعالیت بیومس میکروبی (آسری و همکاران، 2009) و مقدار کودهای آلی و معدنی (الکسیوا و همکاران، 2003 و فریدونی و همکاران، 1389) در خاک است.

تأثیر اضافه کردن کودهای آلی در افزایش فعالیت فسفاتازهای آنزیمی در خاک‌ها ممکن است تحت مکانیسم‌های متفاوتی باشد. به عنوان مثال کودهای آلی از یک طرف باعث بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه و در نتیجه افزایش رشد و میزان ترشحات ریشه‌ای حاوی این آنزیم‌ها شده، و از طرف دیگر باعث افزایش جمعیت و فعالیت بیومس میکروبی تولید کننده این آنزیم می‌شود. در این زمینه صفاری و شریفی (2007) تغییرات فسفر قابل دسترس و فعالیت فسفاتاز در ریزوسفر چند گیاه زراعی و غیر زراعی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که در خاک ریزوسفری در مقایسه با خاک‌های غیر ریزوسفری فعالیت فسفاتازها بیشتر بوده است.

این پژوهشگران بیان کردند که گونه‌های زراعی فعالیت فسفاتاز ریزوسفر را به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق افزایش ترشحات ریشه‌ای و یا تحریک فعالیت میکروبی زیاد کرده‌اند. چن (2003) فعالیت آنزیم فسفاتاز را در یک خاک با دوازده سال کشت یک نوع درخت بومی چین، بررسی نمود. نتایج نشان داد که فعالیت این آنزیم در خاک ریزوسفری بیشتر از خاک غیرریزوسفری بوده است. وی پیشنهاد کرد که فعالیت آنزیم فسفاتاز و توزیع جزءهای فسفر در خاک ریزوسفری و غیرریزوسفری، نتیجه واکنش‌های متقابل بین خاک، گیاه و ریزجانداران است. ساها و همکاران (2008) در بررسی تغییرات نسبی فعالیت فسفاتاز که تحت تأثیر کاربرد و منبع کمپوست‌های آلی در محصولات زراعی بود، نشان دادند که فعالیت‌های فسفاتاز به طور قابل توجهی با فسفر موجود در کود دامی و ورمی کمپوست در ارتباط بود. قنبری و همکاران (1391) در مطالعه بررسی تأثیر استفاده از مواد اصلاح کننده آلی و معدنی در تعدیل اثرات شوری بر فعالیت‌های میکروبی و ویژگی‌های بیوشیمیایی خاک نشان دادند که افزایش سطوح شوری باعث کاهش تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی گردید. در حالیکه اضافه کردن مواد اصلاحی آلی به این خاک‌ها منجر به افزایش بیومس میکروبی، تنفس خاک و فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی آن شد.

اومر و فرج (2012) در بررسی تأثیر استفاده از باکتری‌های تولید کننده آنزیم‌های فسفاتاز و حل کننده فسفر در خاک نشان دادند که انحلال فسفات عمدتا به

دلیل ترشح آنزیم‌های فسفاتاز میکروب‌های خاک است. فوکان و همکاران (2011) فعالیت آنزیم فسفاتاز را در آسپرژیلوس نایجر جدایه *MMPSM 10* مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که این جدایه از طریق تولید فسفاتازهای آنزیمی منجربه انحلال فسفات نامحلول خاک و بهبود تغذیه فسفاتی خاک شده است. لیلاهاونگ و پنجسیلپ (2009) فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز باکتری‌های گرهک ریشه‌ای و عوامل تغذیه ای مؤثر برتولید فسفاتازها توسط باکتری‌های مسئول را مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها نتیجه گرفتند که استفاده از مواد آلی، عاملی است که تولید فسفاتازهای قلیایی و اسیدی را توسط تمام سویه-های مورد آزمایش افزایش داد.

با توجه به مطالب ارائه شده در رابطه با تأثیر کودهای شیمیایی و آلی بر روی فعالیت آنزیمی خاک‌ها، هدف از این مطالعه بررسی اثر استفاده از این کودها بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در برخی از خاک‌های کشور بوده است.

مواد و روش‌ها

آزمایش در سال 1391، بر روی مزرعه کرت بندی و کشت شده با ذرت در استان‌های خوزستان، خراسان رضوی، فارس و مازندران انجام شد. در طول مدت آزمایش از روش آبیاری سطحی جهت آبیاری استفاده گردید. قالب طرح آزمایش به صورت بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و شش تیمار به شرح زیر بود.

تیمار یک: مصرف کود شیمیایی فسفری بر اساس آزمون خاک ($P_{100\%}$).

تیمار دو: مصرف ماده آلی از منبع اول (کود گاوی) به میزان 20 تن در هکتار (P_0M_2).

تیمار سه: مصرف ماده آلی از منبع دوم (منبع دوم در استان‌های مازندران، خراسان رضوی ، خوزستان و فارس به ترتیب شامل کمپوست صنایع چوب و کاغذ، کمپوست زباله شهری کارخانه کمپوست مشهد، کمپوست باگاس نیشکر و کمپوست شهری بوده است) به میزان 20 تن در هکتار (P_0M_4).

تیمار چهار: تیمار اول بعلاوه تیمار دوم ($P_{100\%}M_2$).

تیمار پنج: تیمار اول بعلاوه تیمار سوم ($P_{100\%}M_4$).

تیمار شش: بدون مصرف کود شیمیایی فسفری و کود آلی (P_0M_0).

نمونه‌برداری از خاک‌های هر استان در دو مرحله قبل و بعد از کشت (ابتدای تشکیل خوشه) صورت گرفت. به طوریکه از هر یک از تکرارهای هر تیمار سه بوته همراه با خاک اطراف ریشه که نماینده هر کرت بود، تهیه شد. در مجموع از هر استان 36 نمونه خاک در دو مرحله قبل و بعد از کشت و در کل 144 نمونه خاک جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی به آزمایشگاه بیولوژی مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج منتقل شد. رطوبت نمونه‌ها بصورت درصدی از وزن خشک اندازه‌گیری گردید. نمونه‌های خاک هوا خشک و از الک دو میلی‌متری عبور داده شد. سپس میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی بر حسب میکروگرم پارا نیتروفنل آزاد شده در هر گرم خاک خشک در هر ساعت ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$)، طبق روش طباطبایی و برمنر، 1969 و عیوضی و طباطبایی، 1977 اندازه‌گیری شد. به همین منظور در ابتدا محلول‌های بافر یونیورسال تغییر pH یافته و محلول پارا نیتروفنیل فسفات به روش زیر ساخته شد.

محلول‌های بافر یونیورسال تغییر pH یافته

به این منظور مقدار 12/1 گرم تریس، 11/6 گرم اسید مالئیک، 14 گرم اسید سیتریک و 6/3 گرم اسید بوریک در 500 میلی لیتر سود یک مولار حل و با آب مقطر به حجم 1000 میلی لیتر رسانده شد. سپس pH 200 میلی لیتر از ذخیره محلول بافر یونیورسال ساخته شده با استفاده از اسیدکلریدریک یک‌دهم مولار روی 6/5 (بافر مربوط به اندازه‌گیری فسفاتاز اسیدی) تنظیم و با آب مقطر به حجم 1000 میلی لیتر رسانده شد. pH 200 میلی لیتر دیگر از محلول بافر را نیز با استفاده از سود یک‌دهم مولار به 11 (بافر مربوط به اندازه‌گیری فسفاتازقلیایی) رسانده و با آب مقطر به حجم 1000 میلی لیتر رسانده شد.

محلول پارا نیتروفنیل فسفات (15 میلی‌مولار)

مقدار 2/927 گرم سدیم پارانیتروفنیل فسفات به طور جداگانه در 40 میلی لیتر محلول‌های بافر یونیورسال تغییر pH یافته حل و با بافر مربوطه به حجم 50 رسانده شد. در ادامه یک گرم از هر نمونه خاک را در ارلن‌های مایر 50 میلی لیتری ریخته و 0/25 میلی‌لیتر تولوئن، چهار میلی‌لیتر از محلول‌های بافر یونیورسال (pH برابر 6/5 برای سنجش فسفاتاز اسیدی و pH برابر11 برای سنجش فسفاتاز قلیایی) و یک میلی‌لیتر از محلول پارانیتروفنیل فسفات ساخته شده در بافر مشابه به آن اضافه گردید. پس از پوشاندن درب ارلن‌ها، محتویات کاملاً مخلوط و برای یک ساعت در دمای37 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. بعد از گرماگذاری، یک میلی‌لیتر کلرید کلسیم نیم مولار و چهار میلی‌لیتر سود نیم مولار به محتویات اضافه و پس از مخلوط کردن از کاغذ صافی دو لایه عبور داده شد. جذب نور در طول موج 400 نانومتر قرائت گردید. نمونه‌های شاهد (control) در شرایط

یکسان و بدون محلول‌های بافر یونیورسال تهیه شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار صورت گرفت. همچنین به منظور تهیه منحنی استاندارد، استانداردهای صفر، یک، دو، سه، چهار و پنج از محلول استاندارد پارانیتروفنل ساخته شد و ما نند نمونه‌های خاک گرماگذاری صورت گرفت.

در هر نمونه مقدار پارانیتروفنل در هر میلی-لیتر محلول صاف شده با مراجعه به منحنی کالیبراسیون محاسبه و نهایتاً از فرمول زیر میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی بر حسب میکروگرم پارا نیتروفنل آزاد شده در هر گرم خاک خشک در هر ساعت محاسبه گردید.

$$P\text{- Nitrophenol } (\mu g/g^{-1} \text{ dwt } h^{-1}) = \frac{C \times V}{dwt \times SW \times t}$$

C: غلظت پارانیتروفنل اندازه‌گیری شده (میکروگرم در میلی لیتر محلول صاف شده)

dwt: وزن خشک یک گرم خاک مرطوب.

V: حجم کل سوسپانسیون خاک (میلی لیتر).

SW : وزن نمونه خاک (یک گرم).

t: مدت زمان گرماگذاری (ساعت).

نتایج

جدول (1) برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک استان‌های مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

نتایج مربوط به میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی بر حسب میکروگرم پارا نیتروفنل آزاد شده در هر گرم خاک خشک در هر ساعت، به ترتیب بر اساس استان‌ها در زیر آمده است.

بر اساس نتایج جدول دو، تأثیر تیمارهای مورد مطالعه بر روی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در تمام استان‌ها و دوره‌های قبل و بعد از کشت ذرت (به استثنای تیمار قبل از کشت استان خراسان رضوی و تیمار بعد از کشت استان خوزستان) معنی‌دار بوده است. تأثیر این تیمارها بر روی میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تمام استان‌ها و دوره‌های قبل و بعد از کشت ذرت (به استثنای تیمار قبل از کشت استان مازندران) نیز معنی‌دار بوده است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها در استان مازندران (جدول 3)، بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در اکثر تیمارها در دوران قبل از کشت و به خصوص در تیمار P_0M_2 بوده است. به‌طوریکه بین فعالیت ناشی از این آنزیم در این تیمار با سایر تیمارهای قبل از کشت اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد وجود دارد. همچنین در رابطه با آنزیم فسفاتاز قلیایی، بیشترین فعالیت در اکثر تیمارها در دوران بعد از کشت و به خصوص تیمار $P_{100\%}M_4$ بوده است. در اینجا نیز بین عملکرد ناشی از این تیمار با سایر تیمارهای بعد از کشت اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود دارد. نهایتاً بر اساس مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در تیمارهای قبل و بعد از کشت ذرت، فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در خاک‌های استان مازندران بیشتر از فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بوده است .

جدول 1- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک هر استان

	عمق cm	EC ds/m	pH	OC	N	P	K
				درصد		mg/kg	
مازندران	0-30	0/41	7	0/83	0/07	7/34	207
خراسان رضوی	0-30	1/8	7/8	0/46	0/05	8	113
خوزستان	0-30	2/36	7/9	0/82	0/1	4/4	182
فارس	0-30	1/06	8/1	0/67	nd	7/8	264

nd: تعیین نشده است، EC (Electerical Conductivity): هدایت الکتریکی، OC (Organic Carbon): کربن آلی، N: نیتروژن، P: فسفر و K: پتاسیم.

جدول 2- تجزیه واریانس تأثیر تیمارها بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در خاک‌های استان‌های مازندران، خراسان رضوی، خوزستان و فارس

منابع تغییرات		درجه آزادی	میانگین مربعات							
			فسفاتاز اسیدی				فسفاتاز قلیایی			
			مازندران	خراسان رضوی	خوزستان	فارس	مازندران	خراسان رضوی	خوزستان	فارس
تیمار	قبل از کشت	5	42172**	1455^{ns}	22848*	54896**	4583^{ns}	24368*	71614**	271099**
	بعد از کشت		13967**	18660**	1305^{ns}	8753**	8110633**	53355*	671505**	43608**
تکرار	قبل از کشت	2	2166^{ns}	1975^{ns}	25386*	3617^{ns}	15229^{ns}	18852^{ns}	37106*	6437^{ns}
	بعد از کشت		209^{ns}	736^{ns}	124^{ns}	192^{ns}	512792^{ns}	7239^{ns}	4909^{ns}	22088**
خطا	قبل از کشت	10	895	558	4935	1552	6519	6050	4124	5976
	بعد از کشت		2968	873	398	405	609431	6594	3627	2921
ضریب تغییرات	قبل از کشت		6/52	28/37	39/71	11/44	26/36	34/87	23/63	9/63
	بعد از کشت		15/46	13/97	14/20	9/03	66/67	25/35	12/05	11/14

*و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال 5% و 1% و ns معنی‌دار نیست.

جدول 3- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در خاک‌های استان مازندران

آنزیم	زمان نمونه برداری	تیمار						میانگین تیمارهای قبل و بعد از کشت
		1	2	3	4	5	6	
فسفاتاز اسیدی (µgPNPg-1h-1)	قبل از کشت	394^{c}	692^{a}	472^{b}	392^{c}	388^{c}	412^{c}	406
	بعد از کشت	273^{b}	280^{b}	413^{a}	425^{a}	397^{a}	324^{ab}	
فسفاتاز قلیایی (µgPNPg-1h-1)	قبل از کشت	239^{a}	254^{a}	354^{a}	251^{a}	304^{a}	320^{a}	320
	بعد از کشت	217^{b}	276^{b}	367^{b}	433^{b}	476^{a}	351^{b}	

1: $P_{100\%}$، 2: P_0M_2، 3: P_0M_4، 4: $P_{100\%}M_2$، 5: $P_{100\%}M_4$ و 6: P_0M_0.

جدول 4- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در خاک‌های استان خراسان رضوی

آنزیم	زمان نمونه برداری	تیمار						میانگین تیمارهای قبل و بعد از کشت
		1	2	3	4	5	6	
فسفاتاز اسیدی (µgPNPg-1h-1)	قبل از کشت	73/32^{b}	68/65^{b}	63^{b}	67/37^{b}	81/33^{b}	126^{a}	174
	بعد از کشت	178^{b}	341^{a}	214^{b}	84/75^{c}	283^{a}	206^{b}	
فسفاتاز قلیایی (µgPNPg-1h-1)	قبل از کشت	150^{b}	326^{a}	189^{ab}	206^{ab}	340^{a}	125^{b}	273
	بعد از کشت	302^{bc}	446^{ab}	486^{a}	129^{d}	354^{bc}	227^{cd}	

1: $P_{100\%}$، 2: P_0M_2، 3: P_0M_4، 4: $P_{100\%}M_2$، 5: $P_{100\%}M_4$ و 6: P_0M_0. در هر سطر میانگین‌های با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

در رابطه با استان خراسان رضوی با توجه به جدول شماره چهار، مشاهده شد که بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در اکثر تیمارها در دوران بعد از کشت و به ترتیب در تیمارهای P_0M_2 و $P_{100\%}M_4$ بوده است. بطوریکه بین فعالیت ناشی از این آنزیم در این تیمارها با سایر تیمارهای بعد از کشت اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود داشته است. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در استان خراسان رضوی نیز مانند استان مازندران،در اکثر تیمارها در دوران بعد از کشت و به خصوص در تیمار P_0M_4 بیشتر بوده است. در اینجا بین عملکرد ناشی از این تیمار با اکثر تیمارهای بعد از کشت اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود داشته است. همچنین بر اساس میانگین فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در تیمارهای قبل و بعد از کشت، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک‌های این استان بیش از فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بوده است.

در استان خوزستان، بیشترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی در دوره بعد از کشت و خصوصاً در تیمار ($P_{100\%}M_4$) مشاهده شد. همچنین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک‌های این استان نیز مانند استان خراسان رضوی بیشتر از فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بوده است (جدول شماره پنج).

جدول 5- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در خاک‌های استان خوزستان

آنزیم	زمان نمونه برداری	تیمار						میانگین تیمارهای قبل و بعد از کشت
		1	2	3	4	5	6	
فسفاتاز اسیدی	قبل از کشت	108 ^{b}	154 ^{b}	150^{b}	244 ^{a}	120^{b}	142 ^{b}	147
(µgPNPg-1h-1)	بعد از کشت	141^{abc}	109^{c}	161^{ab}	124^{bc}	168^{a}	147^{abc}	
فسفاتاز قلیایی	قبل از کشت	231^{b}	574^{a}	160^{b}	242^{b}	264^{b}	157^{b}	420
(µgPNPg-1h-1)	بعد از کشت	252^{d}	234^{d}	464^{b}	316^{cd}	1740^{a}	401^{bc}	

1: $P_{100\%}$، 2: P_0M_2، 3: P_0M_4، 4: $P_{100\%}M_2$، 5: $P_{100\%}M_4$ و 6: P_0M_0. در هر سطر میانگین‌های با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

جدول 6- مقایسه میانگین اثر تیمارها بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در خاک‌های استان فارس

آنزیم	زمان نمونه برداری	تیمار						میانگین تیمارهای قبل و بعد از کشت
		1	2	3	4	5	6	
فسفاتاز اسیدی	قبل از کشت	290^{b}	261^{b}	287^{b}	266^{b}	283^{b}	416^{a}	262
(µgPNPg-1h-1)	بعد از کشت	145^{c}	208^{b}	294^{a}	194^{b}	223^{b}	273^{a}	
فسفاتاز قلیایی	قبل از کشت	610^{cd}	760^{b}	815^{b}	704^{bc}	543^{d}	832^{a}	598
(µgPNPg-1h-1)	بعد از کشت	294^{c}	508^{b}	512^{b}	458^{b}	466^{b}	669^{a}	

1: $P_{100\%}$، 2: P_0M_2، 3: P_0M_4، 4: $P_{100\%}M_2$، 5: $P_{100\%}M_4$ و 6: P_0M_0. در هر سطر میانگین‌های با حروف یکسان فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

نهایتاً در استان فارس و با توجه به جدول شماره شش، بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی (در اکثر تیمارها) و قلیایی (در تمام تیمارها) در دوران قبل از کشت و با یک اختلاف معنی‌دار از طریق تیمار (P_0M_0) بوده است. نهایتا بر اساس میانگین فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در این استان نیز فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در تمامی تیمارها در دوران قبل و بعد از کشت ذرت بیش از دو برابر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بوده است.

بحث

از آنجا که فراهمی فسفر در خاک وابستگی زیادی به فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی دارد، در این مطالعه اثر کاربرد کود شیمیایی و مواد آلی بر فعالیت آنزیم‌های مذکور در خاک‌های استان‌های خوزستان، خراسان رضوی، فارس و مازندران بررسی شد. نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در استان‌های مختلف نشان داد که در تمام استان‌ها میانگین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در دوران قبل و بعد از کشت ذرت، بیشتر از میانگین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بوده است. در این زمینه جوما و طباطبایی (1977) در مطالعات خود نشان دادند که آنزیم فسفاتاز اسیدی بیشتر در خاک‌های اسیدی و آنزیم فسفاتاز قلیایی بیشتر در خاک‌های قلیایی غالب هستند. بنابراین

می‌توان نتیجه گرفت که در مقایسه با استان مازندران، pH نسبتا بالاتر خاک استان‌های خراسان رضوی، فارس و خوزستان منجر به بیشتر شدن فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در این خاک‌ها نسبت به فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی شده است. وانگ و همکاران (2006) نیز طی آزمایشی ارتباط بین pH خاک و فعالیت بیولوژیک آن را مورد بررسی قرار دادند. در این آزمایش کاهش pH موجب افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی و تنفس شد.

علاوه بر این به جز استان فارس (در 91/6 درصد از تیمارهای این استان فعالیت آنزیم‌های مذکور در دوران قبل از کشت بیشتر از دوران بعد از کشت بود)، در سایر استان‌ها به طور متوسط در 72 درصد از تیمارها فعالیت آنزیمی در دوران بعد از کشت بیش از قبل از کشت بوده است. این امر خود تأیید کننده نقش مثبت گیاهان و ترشحات ریشه‌ای در تولید فسفاتازها و همچنین افزایش جمعیت میکروبی تولید کننده این آنزیم‌هاست. افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور در خاک‌های کشت شده نسبت به خاک‌های بدون کشت در مطالعات زیادی گزارش شده است (مکوئی و همکاران، 2010، وانگ و همکاران، 2006 و سانیولا و همکاران، 2011).

تأثیر کاربرد کود شیمیایی فسفر در تیمارهای فاقد مصرف ماده آلی ($P_{100\%}$ و P_0M_0) بر روی متوسط مجموع فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در دوره‌های قبل و بعد از کشت ذرت در چهار استان مورد مطالعه نشان داد که استفاده از صرفاً کود شیمیایی فسفر ($P_{100\%}$)، منجر به کاهش تقریباً 22 درصدی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در این تیمار نسبت به تیمار عدم استفاده از کود شیمیایی (P_0M_0) شده است. دلیل کاهش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در این خاک‌ها احتمالاً تأثیر منفی کودهای فسفره در تولید ترشحات ریشه‌ای و بالطبع کاهش بیومس میکروبی تولید کننده این آنزیم‌ها در ریزوسفر است. این نتایج با نتایج قول‌لرعطا و همکاران (2008) و رضایی و همکاران (1392) مطابقت دارد. محمدی و سهرابی نیز در مطالعه خود بیان کردند که کوددهی خاک با منابع کودی همچون کودهای فسفره بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز خاک مؤثر است. ایشان نشان دادند که استفاده از کودهای شیمیایی در مقایسه با کودهای آلی فعالیت آنزیمی خاک را به طور معنی‌داری کاهش داده است.

مقایسه تأثیر مصرف تنها کود آلی (تیمارهای P_0M_2 و P_0M_4) با تیمار فاقد مصرف کود آلی (P_0M_0) بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز نشان داد که در تمام استان‌ها (به استثنای استان فارس و تیمار P_0M_4 استان خراسان رضوی) میزان فعالیت این آنزیم‌ها در تیمارهای مصرف کود آلی بیشتر از تیمار فاقد مصرف کود آلی بوده است. همچنین کاربرد کود آلی اختصاصی هر منطقه (P_0M_4) نسبت به کود گاوی تأثیر بیشتری در افزایش میزان فعالیت این آنزیم ها داشته است هرچند این اختلاف معمولاً معنی‌داری نبوده است. این نتیجه با یافته‌های دیک و طباطبایی (1994) و کریستین و جانسون (1997) نیز مطابقت داشت.

تأثیر اضافه کردن کودهای آلی در افزایش فعالیت فسفاتازهای آنزیمی در خاک‌ها ممکن است تحت مکانیسم‌های متفاوتی باشد. به عنوان مثال کودهای آلی از یک طرف باعث بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه و در نتیجه افزایش رشد و میزان ترشحات ریشه‌ای حاوی این آنزیم‌ها شده، و از طرف دیگر باعث افزایش جمعیت و فعالیت بیومس میکروبی تولید کننده این آنزیم می‌شود. در این زمینه صفاری و شریفی (2007) تغییرات فسفر قابل دسترس و فعالیت فسفاتاز در ریزوسفر چند گیاه زراعی و غیر زراعی را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد که در خاک ریزوسفری در مقایسه با خاک‌های غیر ریزوسفری فعالیت فسفاتازها بیشتر بوده است. این پژوهشگران بیان کردند که گونه‌های زراعی فعالیت فسفاتاز ریزوسفر را به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق افزایش ترشحات ریشه‌ای و یا تحریک فعالیت میکروبی زیاد کرده‌اند. ساها و همکاران (2008) در بررسی تغییرات نسبی فعالیت فسفاتاز که تحت تأثیر کاربرد و منبع کمپوست‌های آلی در محصولات زراعی بود، نشان دادند که فعالیت‌های فسفاتاز به طور قابل توجهی با فسفر موجود در کود دامی و ورمی کمپوست در ارتباط بود.

در این مطالعه همچنین تأثیر استفاده همزمان از کود آلی و کود شیمیایی فسفر ($P_{100\%}M_2$ و $P_{100\%}M_4$) بر فعالیت آنزیم‌های مذکور در سطح پنج درصد معنی‌دار بوده است. اما به طور کلی متوسط فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی (به عنوان آنزیمی که در خاک بیشتر تولید شده است) در نیمی از موارد در تیمار P_0M_2 (تنها کود آلی) بیشتر از تیمار $P_{100\%}M_2$ (کود آلی و کود شیمیایی فسفره) بوده است. که احتمالاً این به خاطر تأثیر منفی کود شیمیایی فسفر در تولید ترشحات ریشه‌ای حاوی این آنزیم‌هاست. در این زمینه ارشاد و همکاران (2008) در مطالعه خود به جزءبندی مرحله‌ای فسفر در خاک بعد از کاربرد طولانی مدت دو نوع کود آلی و یک کود شیمیایی

پرداختند. نتایج نشان دهنده تجمع بیشتری از همه شکل-های فسفر در خاک تیمار شده با کود آلی نسبت به خاک تیمار شده با کود شیمیایی و آلی بود. فریدونی و همکاران (1389) و رضایی و همکاران (1392) نیز در مطالعات خود، تأثیر کودهای آلی و معدنی را بر فعالیت فسفاتازها در خاک تأیید کرده‌اند.

نتیجه‌گیری

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در خاک استان‌های مورد مطالعه نشان داد که pH قلیایی خاک اکثر این استان‌ها منجر به افزایش میانگین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی نسبت به فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی شده است. در اینجا کاربرد پوشش گیاهی به دلیل نقش مثبت گیاهان و ترشحات ریشه‌ای آن‌ها در تولید فسفاتازها و افزایش جمعیت میکروبی تولید کننده این آنزیم‌ها در خاک باعث افزایش فعالیت این آنزیم‌ها شد. این در حالیست که کاربرد صرفاً کود شیمیایی فسفر احتمالاً از طریق تأثیر منفی در تولید ترشحات ریشه‌ای و بالطبع کاهش بیومس میکروبی تولید کننده آنزیم‌های فسفاتاز در ریزوسفر منجر به کاهش تقریباً 22 درصدی فعالیت این آنزیم‌ها شد. نهایتاً کاربرد تیمارها در دوران قبل و بعد از کشت نشان دهنده تأثیر مثبت استفاده همزمان از پوشش گیاهی و کودهای آلی بر روی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی خاک می‌باشد.

فهرست منابع:

1. رضایی، ش. خاوازی، ک. نظامی، م. و سعادت، س. 1392. تأثیر گوگرد، فسفر و نقش گیاه بر زیست توده میکروبی و فعالیت فسفاتازهای خاک. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب). شماره 2.
2. فریدونی ناغانی، م . رئیسی، ف . و فلاح، س. 1398. روند تولید CO_2 و تغییر کربن بیومس میکروبی در خاک های تیمار شده با کود اوره و مرغی . مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک . شماره 54.
3. قنبری مفتی کلایی، ه. بهمنیار، م..سالک گیلانی، س. و رئیسی، ف. 1391. اثر سطوح مختلف شوری آب آبیاری و برخی مواد اصلاح کننده بر تنفس میکروبی و فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی خاک ریزوسفری طی رشد رویشی سویا. مجله پژوهش های حفاظت آب و خاک. شماره 3.
4. محمدی، خ و سهرابی، ی. 1393. تأثیر روش های تلفیقی کود دهی بر غلظت نیتروژن، فسفر و خواص زیستی خاک و صفات کلزا. مجله پژوهش‌های خاک (علوم خاک و آب). شماره 1.
5. Aleksieva, P., Spasova, D. and Radoerska S. 2003. Acid Phosphatase Distribution and Localization in the Fungus Humicola lutea. Zeitschrift fur Naturforschung C. Journal of Biosciences 58 (3): 239-243.
6. Aseri, G.K., Neelam J. and Tarafdar J.C. 2009. Hydrolysis of Organic Phosphate Forms by phosphatases and Phytase Producing Fungi of Arid and Semi Arid Soils of India. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Science 5(4): 564-570.
7. Burns, R. G. 1982. Enzyme actibity in soil: location and a possible role in microbial actibity. Soil Biologyand Biochemistry 14: 423-427.
8. Chen, H. 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.
9. Christenen, B.T. and Johnston, A. E. 1997. Soil organic matter and soil quality lessons learned from long-term experiments at Askov and Rothamsted. Soil Quality for Crop Production and Ecosystem Health. Elsevier 6: 157-159.
10. Dick, W. A. and Tabatabai, M. A. 1994. Significance and potential use of soil enzymes. Soil Microbial Ecology 14: 95-127.
11. Eivazi, F. and Tabatabai, M. 1977. Phosphates in soils. Soil Biology and Biochemistry 9: 167-172.
12. Ghoularata, M., Raeisi, F. and Nadian, H. 2008. Salinity and phosphorus interactions on growth yield and nutrient uptake by Berseem. Clover (Trifolium alexandrinum L.). I. Field Crops Research 6: 117-126.

13. Guimaraes, L.H.S., Simone, C.P.N. and Michele, M. 2006. Screening of filamentous fungi for production of enzymes of biotechnological interest. Brazilian Journal of Microbiology 37: 474-480.
14. Irshad, M., M. Inoue, R.A. Khattak, S. Yamamoto. and T. Honna. 2008. Phosphorus and metal fractions in paddy soils under different fertilizer management. Journal of Sustainable Agriculture 32: 255-268.
15. Juma, N.G. and Tabatabai, M.A. 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. Soil Science Society of America 41: 343–346.
16. Kaur, K., Kapoor, K. K. and Gupta, A. P. 2005. Impact of organic manures with and without mineral fertilizers on soil chemical and biological properties under tropical conditions. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 168: 117-122.
17. Leelahawonge, C. and Pongsilp, N. 2009. Phosphatase Activities of Root-nodule Bacteria and Nutritional Factors Affecting Production of Phosphatases by Representative Bacteria from Three Different Genera. KMITL science technology 9: 65-83.
18. Liang, Y. C., Yang, Y. F., Yang, C. G., Shen, Q. R., Zhou, J. M., an Yang, L. Z. 2003. Soil enzymatic activity and growth of rice and barley as influenced by organic manure in and anthropogenic soil. Geoderma 115: 149-160.
19. Makoi, J. H. J. R., Bambara, S. and Ndakidemi, P. A. 2010. Rhizosphere phosphatase enzyme activities and secondary metabolites in plants as affected by the supply of Rhizobium, lime and molybdenum in *Phaseolus vulgaris* L. Australian Journal of Crop Science 4: 590-597.
20. Nicolardot, B., Fauvet, G. and Cheneby, D. 1994. Carbon and nitrogen cycling through soil microbial biomass at various temperatures. Soil Biology and Biochemistry 26: 253-261.
21. Omer, Amal. M. and Farag, H. I. A. 2012. Biological activity of phosphate dissolving bacteria and their effect on some genotypes of barley production. Journal of Applied Sciences Research 8 (7): 3478-3490.
22. Phukan, R., Samanta, R. and Barthakur, B. K. 2011. Phosphatase Activity of Aspergillus niger: A Native Tea Rhizosphere Isolate. Journal of Applied Science & Technology 77 (9): 403405.
23. Safari, S.Aand . Sharifi, Z. 2007. Changes of available phosphorus and phosphatase activity in the rhizosphere of some field and vegetation crops in the fast growth stage. Journal of Applied Sciences and Environmental Management 11: 113-118.
24. Saha, S., Mina, B. L., Gopinath, K. A., Kundu, S. and Guptah , S. 2008. Relative changes in phosphatase activities as influenced by source and application rate of organic composts in field crops. Bioresource Technology 99: 1750–1757.
25. Sanaullaha, M., Blagodatskaya, E., Chabbi, A., Rumpel, C. and Kuzyakov, Y. 2011. Drought effects on microbial biomass and enzyme activities in the rhizosphere of grasses depend on plant community composition. Applied Soil Ecology 48: 38–44
26. Saparatka, N. 2003. Phosphatase activities (ACP- ALP) in Agro ecosystem Soils. Doctoral thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.
27. Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner. 1969. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biology and Biochemistry 1: 301-307.
28. TU. C., Rustaino, J. B. and Hu, S. 2006. Soil microbial biomass and activity in organic tomato farming systems: effects of organic inputs and straw mulching. Soil Biology and Biochemistry 38: 247-255.
29. Wang, A. S., Angle, J. S., Chaney, R. L., Delorme, T. A. and McIntosh, M. 2006. Changes in soil biological activities under reduced soil pH during Thlaspi caerulescens phytoextraction. Soil Biologyand Biochemistry 38: 1451–1461.

Effect of organic compounds on acid and alkaline phosphatase activity in some soils of Iran

M. Afshari[1], M. Ramezanpour, A. H. Ziaeian, H. Mousavifazl and H. R. Zabihi

Member of Scientific of Soil and Water Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail: mi_afshari@yahoo.com

Member of Scientific of Mazandaran Agricultural Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail: mrramezanpour@yahoo.com

Member of Scientific of Fars Agricultural Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail: ziaeyan_39@yahoo.com

Member of Scientific of Khouzestan Agricultural Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail: mousavifazl@yahoo.com

Member of Scientific of Khorasan-e- razavi Agricultural Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization; E-mail: zabihi_hamidreza@yahoo.com

Received: June, 2016 & Accepted: September, 2017

Abstract

Phosphorus availability in soils is largely depended on acidic and alkaline phosphatase activities. Soil organic matter content is one of the most important factors influencing the activity of those f enzymes. The present experiment was carried out in a randomized complete block design with three replications on corn planting time in four provinces of Khuzestan, Khorasan, Fars and Mazandaran. Treatments included chemical phosphorus fertilizer (P 100%), caw manure (P0 M2) 20 tons per hectare, organic fertilizer (P0 M4) 20 tons per hectare, the first treatment plus second treatment (P100% M2), the first treatment plus third treatment (P100% M4) and without any chemical phosphorus fertilizer and manure (P0 M0) as control. In all provinces cow manure was used but organic fertilizers were different in each province. In Mazandaran, compost of wood and paper industries; In Khorasan, compost of municipal waste; In Khuzestan, sugar cane bagasse compost and in Fars, municipal homemade was used as organic fertilizer. From each province 36 samples (before and after planting) were collected and a total of 144 samples were analyzed. The results of different treatments showed the positive effect of the simultaneous use of vegetation and organic fertilizers on acidic and alkaline phosphatase in soil samples. In all Provinces, the mean activity of alkaline phosphatase before and after corn planting period, was higher than acidic phosphatase.

Keywords: organic matter, acid phosphatase, alkaline phosphatase and phosphorus

[1]. Corresponding author: soil biology department. Soil and Water research Institute. Karaj