تغییرات فصلی فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در رقابت ریزوسفری نهال‌های بلندمازو و پلت در کشت خالص و آمیخته

یاسمین شریف‌پور[1]، هاشم حبشی و علیرضا علی‌عرب

دانش‌آموخته دکتری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ **y.asharifpour@gmail.com**

دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ **habashi@gau.ac.ir**

استادیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان؛ **aliarab@gau.ac.ir**

دریافت: **96/3/27** و پذیرش: **96/12/22**

چکیده

رقابت ریزوسفری در دستیابی گیاهان به عناصر غذایی مانند فسفر اهمیت زیادی دارد. محیط ریزوسفر حداکثر اثرپذیری را از رقابت بین‌گونه‌ای و درون‌گونه‌ای دارد. با توجه به ویژگی‌های ریزوسفری خاص هر گونه احتمالاً تراوش‌های ریزوسفری (مانند اسیدفسفاتاز) در حالات رقابتی مختلف، تغییرات محسوسی دارد. اسیدفسفاتاز از مهم‌ترین آنزیم‌های ریزوسفری و آنزیم مختص چرخه‌ی فسفر است. این پژوهش به مطالعه‌ی فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در ریزوسفر دو گونه‌ی پلت و بلندمازو (از مهم‌ترین گونه‌های جنگلی شمال کشور) در حالت کشت خالص و آمیخته در طی فصول مختلف در یک ریزوترون نوین پرداخته است. از لوله‌های دستیابی 18 ریزوترون شامل سه تیمار آمیختگی (پلت خالص، بلندمازو خالص و پلت- بلندمازو) درپنج تکرار همراه با سه ریزوترون فاقد کشت نهال طی چهار فصل سال نمونه‌گیری انجام و فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در آن تعیین گردید. نتایج نشان داد که فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز بین ترکیب‌های متفاوت کشت و فصول مختلف در سطح احتمال 95 درصد اختلاف معنی‌داری دارد. ترکیب کشت آمیخته در پاییز بیشترین میزان فعالیت ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$ 154/16±2370/37) و تیمار کنترل در تابستان کمترین میزان فعالیت اسیدفسفاتاز مطلق ($\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$ 108/65±991/75) را به خود اختصاص دادند. میزان فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در انتهای دوره‌ی مطالعه نسبت به فصل آغازین مطالعه کاهش محسوسی را نشان داد. این نتایج می‌تواند تأییدکننده‌ی برتری کشت آمیخته‌ی پلت- بلندمازو از نظر ساختار، فیزیولوژی و مورفولوژی مناسب‌تر ریزوسفری و رشد بهتر ریشه باشد و این تیمار، فسفر خاک را در طی فصول مختلف به میزان بهتری حفظ نموده است.

واژه‌های کلیدی: اسیدفسفاتاز، ترکیب گونه‌ای، رقابت ریشه، ریزوترون

---

[1] نویسنده مسئول، آدرس: استان گلستان، گرگان، میدان بسیج، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، دانشکده علوم جنگل

مقدمه

رقابت بین گیاهان (درون‌گونه‌ای و بین‌گونه‌ای) برای منابع روزمینی (نور) و زیرزمینی (آب و مواد مغذی) است (سانگ و همکاران، 2006). از آنجا که رقابت زیرزمینی (ریشه) زودتر آغاز می‌شود (لی و همکاران، 2012)؛ مطالعه‌ی آن در استقرار نهال‌ها بسیار مهم است. از طرفی آمیختگی (نوع و درصد استقرار گونه‌ها) در کشت نهال و تغییرات ماهانه و فصلی بر فضای ریشه‌دوانی، ریزوسفر، ساختار و عملکرد ریشه تأثیر دارد که در نهایت رقابت زیرزمینی را تغییر خواهد داد. به واسطه‌ی اطلاعات اندک در مورد اثر کشت آمیخته و تغییرات فصلی بر تغییر ساختار و فعالیت ریشه‌ی نهال، پژوهش‌های بیشتری لازم است تا بتوان پویایی دگرگونی‌های ریشه و ریزوسفر را در مدل‌های مبتنی بر فرآیندهای گیاه تفسیر نمود (پرتش و همکاران، 2015).

ریزوسفر حجم کوچک خاکی است که تحت تأثیر ریشه‌های گیاه بوده و از مهم‌ترین واسطه‌های زیستی پویا در زمین است. آنزیم‌های تولید شده توسط ریشه‌ها و ریزجانداران، محرک‌های اصلی زیستی در تجزیه‌ی ماده‌ی آلی خاک می‌باشند. ترشح فعالیت آنزیمی ریشه‌ی هر گونه‌ی گیاهی تا فاصله‌ی مشخصی امتداد دارد. نوع فعالیت آنزیمی نیز در ریزوسفر هر گونه‌ی گیاهی با دیگری متفاوت است. این تفاوت‌ها در نوع و وسعت فعالیت آنزیمی ریزوسفر وابسته به ویژگی‌گونه‌های گیاهی به دلیل فرآیندها (مانند تراوش ریشه) و عملکردهای (مانند توانایی بی‌تحرک‌سازی مواد مغذی) خاص موجود در ریزوسفر است (رضوی و همکاران، 2016). بعلاوه تغییرات فصلی باعث تغییر میزان فعالیت گیاه، ریشه و ریزجانداران شده و نرخ ترشح آنزیمی را تغییر خواهد داد. با توجه به مورفولوژی ریشه و پیوستگی تراوش‌های ریشه، گیاه نقش مهمی در انتخاب، غنی‌سازی و تحریک گروه‌های عملکردی ریزجانداران دارد (بلاگوداتساکایا و همکاران، 2009).

تراوش‌های ریشه‌ی گیاهان نوعی یاری‌رسان به ریزجانداران برای تولید بیشتر آنزیم‌های خارج سلولی است (میر و همکاران، 2017). فعالیت آنزیمی بیشتر در ریزوسفر نسبت به خاک فاقد ریشه تنها وابسته به فعالیت میکروبی نیست، بلکه به رهاسازی مستقیم آنزیم‌ها توسط تجزیه‌ی سلول‌های ریشه نیز بستگی دارد (ماریناری و همکاران، 2014). درجه‌ی فعالیت آنزیمی از سطح ریشه به ریزوسفر وابسته به نوع آنزیم (رضوی و همکاران، 2016) و تغییرات فصلی (اسناجدر و همکاران، 2008) متفاوت است.

فسفاتاز واسطه‌ی معدنی‌سازی فسفر است که از فرآیندهای مهم در چرخه‌ی زیست- زمین- شیمیایی فسفر بوده و قابلیت دسترسی فسفر خاک را در اکوسیستم‌های جنگلی تعیین می‌کند (هو و همکاران، 2015)؛ بنابراین عاملی کلیدی در جذب فسفر توسط گیاهان و میکروب‌ها است (گادین و همکاران، 2015). بسیاری از آنزیم‌های فسفاتاز خارج سلولی هستند و تولید آن در خاک توسط گیاهان و ریزجانداران انجام می‌شود (دیک و طباطبایی، 1992).

اوشیو و همکاران (2010) نشان دادند فعالیت اسیدفسفاتاز بین گونه‌های درختی متفاوت است و ریشه‌های درختان بر کیفیت خاک تأثیرگذارند. کوتروکزو و همکاران (2014) نشان دادند حذف ریشه‌ها باعث کاهش معنی‌دار فعالیت فسفاتاز شد. هو و همکاران (2015) نشان دادند فعالیت فسفاتاز با زی‌توده‌ی ریشه‌ی موئین در لایه‌ی خاک معدنی دارای همبستگی مثبت است. گادین و همکاران (2015) بیان نمودند ریزوسفر محلی با حداکثر فعالیت فسفاتاز است. وانگ و همکاران (2012) نشان دادند فعالیت‌های آنزیمی خاک بر حسب نوع پوشش گیاهی متفاوت است و در خاک‌های جنگلی آمیخته بیشتر از سایر خاک‌ها است. ژانگ و همکاران (2011) تفاوت در فعالیت میکروبی و آنزیمی خاک ریزوسفر را به تراوش ریشه و بقایای گیاهی نسبت دادند که بین گونه‌های گیاهی متفاوت است.

اسناجدر و همکاران (2008) پویایی برخی فعالیت‌های آنزیمی را مطالعه کردند و مشخص شد فعالیت‌های آنزیمی در ماه اوت نسبت به ماه می کاهش یافت. دلیل اصلی آن کاهش لاشبرگ و تغییر در ترکیب شیمیایی آن (مقدار لیگنین بیشتر و نسبت کربن به نیتروژن کمتر اوت نسبت به می) معرفی شد. ویتمن و همکاران (2004) اختلاف فصلی فعالیت‌های آنزیمی از جمله فسفومونواستراز را طی دو سال مورد مطالعه قرار دادند و مشخص شد فعالیت آنزیمی با گذشت زمان کاهش یافت.

فعالیت آنزیمی به دو صورت مطلق و ویژه بیان می‌شود و فعالیت آنزیمی ویژه، فعالیت آنزیمی مطلق در هر واحد ماده‌ی آلی خاک یا کربن آلی خاک است (تراسر-کپدا و همکاران،2008). فعالیت آنزیمی ویژه نقش مهمی در درک روابط متقابل بین آنزیم‌ها و مواد مغذی خاک دارد (وانگ و همکاران، 2012).

ریزوترون‌ها ابزارهایی پیشرفته برای پژوهش‌های رقابت ریشه و محتویات ریزوسفر است. مطالعه‌ی سیستم‌های ریشه‌ای با کاربرد ریزوترون با پژوهش بر روی گیاهان چمنی، مرتعی و باتلاقی (بلوسفلد

و همکاران، 2011؛ موربرگ و همکاران، 2013) آغاز شده و اخیراً برای مطالعه‌ی نونهال‌ها، نهال‌ها و درختان جنگلی مورد استفاده قرار گرفته است (فندر و همکاران، 2013؛ کسارز و همکاران، 2013). پژوهش‌های آنزیمی در محیط ریزوسفر با استفاده از ریزوترون‌ها و ریزوباکس‌ها بسیار اندک است و به تحقیق‌های اسپوهن و همکاران (2013) و اسپوهن و کوزیاکاو (2013) بر روی آنزیم‌های ریزوسفر در گیاه ذرت و رضوی و همکاران (2016) برای مطالعه‌ی فعالیت آنزیمی در محیط ریزوسفر گیاهان ذرت و عدس با استفاده از روش زایموگرافی محدود شده است.

بلندمازو و پلت دارای دو سیستم ریشه‌ای متفاوت هستند و از مهم‌ترین گونه‌های صنعتی و اکولوژیکی جنگل‌های شمال ایران به حساب می‌آیند (ثاقب‌طالبی، 1999؛ رئیسی و همکاران، 2013) که به طور فراوانی جنگل‌کاری شده‌اند. بلندمازو سیستم ریشه‌ای عمودی (Taproot system) و پلت دارای سیستم ریشه‌ای قلبی شکل (Heart root system) است (بوسگن و همکاران،1929). هدف این تحقیق مطالعه‌ی تغییرات فصلی فعالیت آنزیمی مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در ترکیب کشت خالص و آمیخته‌ی بلندمازو (*Quercuscastaneifolia*) و پلت (*Acer velutinum*) با کاربرد یک ریزوترون نوین است. فرض شده است که فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز در ترکیب‌های کشت گونه‌ای متفاوت است و نیز تفاوت معنی‌داری در فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در فصول مختلف، وجود دارد.

مواد و روش

خاک و لاشبرگ مورداستفاده در این تحقیق از سری یک، پارسل یک جنگل شصت کلاته گرگان جمع‌آوری شد. خاک مورد آزمایش دارای بافت لومی شامل 39% شن، 36% سیلت و 25% رس بود. مشخصات خاک مورد آزمایش در جدول 1 نمایش داده شده است.خاک قبل از کشت نهال‌ها یکنواخت شد و ذرات درشت و ریشه‌ها با الک 10 میلی‌متری حذف شدند. لاشبرگ امساله‌ی پلت و بلندمازو از توده‌هایی که شامل این گونه‌ها بود به‌صورت دستی جمع‌آوری شد و در هوای آزاد خشک و ریز شدند تا وضعیت همگنی بدست آید. نهال‌های ریشه لخت یک‌ساله‌ی دو گونه‌ی بلندمازو و پلت از نهالستان قرق در زمستان 1393 انتخاب شدند؛ هنگام انتخاب اصل همانندی رعایت گردید. در شروع آزمایش نهال‌های بلوط و افرا به ترتیب دارای قطر یقه‌ی12/01±0/32 میلی‌متر و 10/38±0/14 میلی‌متر (میانگین± 1 اشتباه معیار) و میانگین ارتفاعی 55/23±0/83 سانتی‌متر و 32/07±0/29 سانتی‌متر (میانگین± 1 اشتباه معیار) بودند. نهال‌ها در دی‌ماه 1393 در ریزوترون‌های واقع در محوطه‌ی پردیس دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به طول جغرافیایی ''54°43'97 شرقی و عرض جغرافیایی ''36°84'29 شمالی کشت شدند.

جدول 1- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد آزمایش

بافت	وزن مخصوص ظاهری (g/cm^3)	%کربن آلی	% نیتروژن کل	فسفر قابل جذب (mg/kg)	کلسیم کل (mg/kg)	منیزیم کل (mg/kg)	سدیم کل (mg/kg)	pH	EC (µs/cm)
لومی	1/001	12/28	0/63	30/5	9380	660	520	7/40	317

ریزوترون‌های نوین مورد استفاده در این مطالعه برگرفته از ریزوترون‌های دوبخشی (double- split- root rhizotron) ساخته شده توسط کسارز و همکاران (2013) و فندر و همکاران (2013) است که تغییرات اندکی شامل مواد مورد استفاده در ساختمان ریزوترون و ارتقای کاربرد آن ایجاد شد (شکل 1). تمامی صفحات ریزوترون شفاف و از جنس پلی کربنات بود. امکان نمونه‌برداری خاک در هر زمان توسط تعبیه‌ی صفحه‌ی متحرک عقب ریزوترون فراهم گردید. پایه‌ی ریزوترون امکان قرارگیری آن در زاویه‌ی دلخواه 30^o –45^o، به منظور رشد ریشه‌ها به روی صفحه‌ی عقب ریزوترون را میسر می‌ساخت. 12 عدد لوله‌ی دستیابی[1](پورت دستیابی رستری، Raster access port) برای گرفتن تراوش‌های ریشه تعبیه شد. این لوله‌ها در اعماق و فواصل مشخص از یکدیگر ایجاد شد تا امکان محاسبه‌ی تغییرات مکانی آنزیم‌های مترشحه از ریشه را فراهم سازد. بسته به محل رپ‌ها ریزوترون‌ها دردو عمق پایین‌تر (50 و 75 سانتی‌متر) از خاک معدنی و در دوعمق بالاتر (15 و 30 سانتی‌متر) از ترکیب خاک و لاشبرگ (4% وزنی) پر شدند.

در این تحقیق دو گونه‌ی بلندمازو و پلت در کشت خالص و آمیخته در ریزوترون کاشته شد. تیمارها

[1] RAP

شامل آمیختگی (سه تیمار) درپنج تکرار همراه با سه ریزوترون کنترل فاقد کشت گونه خواهد بود. به این ترتیب 18 ریزوترون ساخته شد که در پنج ریزوترون بلندمازو به‌صورت خالص، در پنج ریزوترون پلت به‌صورت خالص، در پنج ریزوترون دو گونه به‌صورت آمیخته کشت شد و سه ریزوترون به‌عنوان شاهد بدون کشت نهال بود. طی مدت تحقیق ریزوترون‌ها در حد رطوبت ظرفیت مزرعه آبیاری شدند. نمونه‌گیری از محل پشت رپ‌ها در فصول تابستان 1394، پاییز 1394، زمستان 1394، بهار 1395 و تابستان 1395 انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله به یخچال در دمای 20- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. سپس از هر ریزوترون سه نمونه به طور تصادفی انتخاب و میزان فعالیت مطلق آنزیم اسیدفسفاتاز با استفاده از روش طباطبایی و برمنر 1969، عیوضی و طباطبایی 1977 با اصلاحات مارگسین 1996 اندازه‌گیری شد و بر اساس واحد میکروگرم پارانیتروفنول در گرم خاک خشک در ساعت بیان گردید. مقدار باقیمانده‌ی نمونه‌های خاک پس از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، خشک و الک شد. سپس با استفاده از روش سوزاندن (بن‌دور و بنین، 1989) میزان ماده‌ی آلی موجود در نمونه‌های خاک در فصول پاییز1394، زمستان 1394، بهار 1395 و تابستان 1395 اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز با تقسیم فعالیت مطلق آنزیمی بر میزان ماده‌ی آلی محاسبه شد. میزان رشد قطری و ارتفاعی نهال‌ها با اندازه‌گیری قطر یقه و ارتفاع در ابتدای دوره‌ی آزمایش (هنگام کشت در ریزوترون‌ها) و انتهای دوره‌ی آزمایش محاسبه شد. میزان زی‌توده‌ی ساقه و ریشه نیز در انتهای دوره‌ی آزمایش پس از قطع نهال‌ها با استفاده از روش وزن کردن پس از قراردادن به مدت 48 ساعت در آون با دمای 75 درجه‌ی سانتی‌گراد محاسبه گردید (ایساک و جونز،1972).

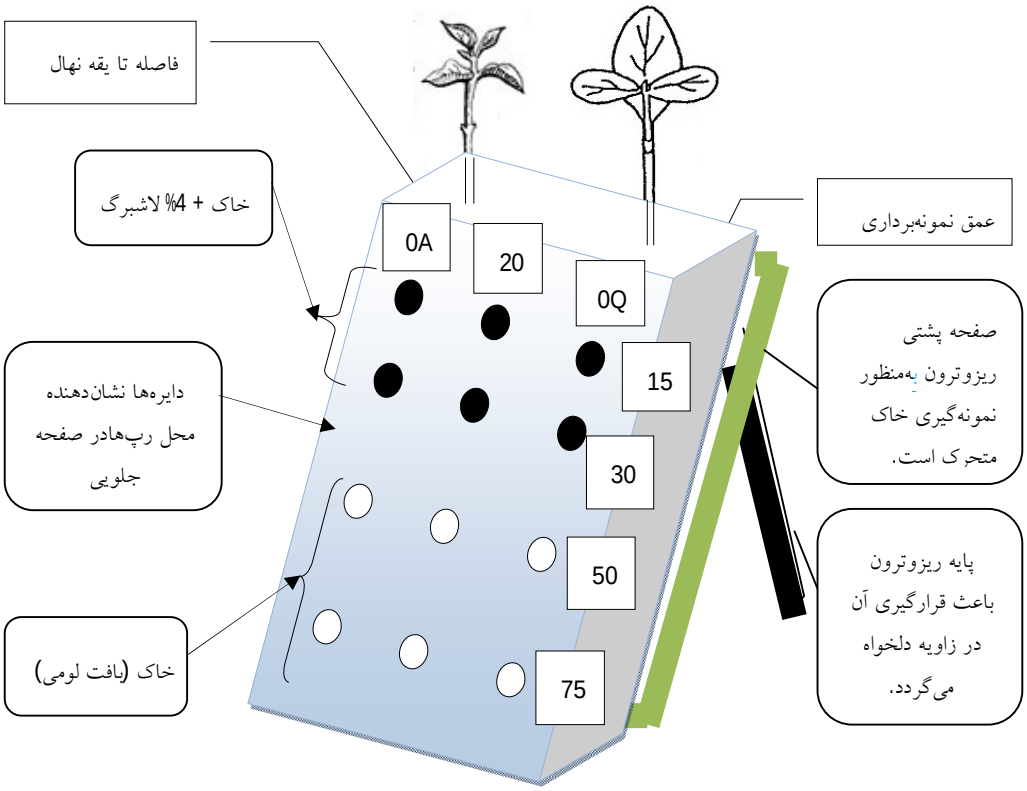
پس از جمع‌آوری داده‌ها و سازمان‌دهی آن‌ها، نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو- ویلکس و یکنواختی واریانس‌ها با آزمون لون مورد بررسی قرار گرفت. داده‌هایی که از توزیع نرمال برخوردار نبود (زی‌توده‌ی ساقه و ریشه) با استفاده از تبدیل جانسون نرمال شد. آنالیز واریانس برای مطالعه‌ی اثرات ترکیب گونه‌ای و فصل بر فعالیت مطلق و ویژه‌ی آنزیم اسیدفسفاتاز و نیز به منظور اثر ترکیب کشت گونه بر میزان رویش قطر و ارتفاع و میزان زی‌توده‌ی ریشه و ساقه استفاده شد. مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمونLSD در سطح احتمال 95 درصد انجام شد. تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16 انجام شد.

نتایج

فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در تیمارهای متفاوت کشت و در فصول مختلف مورد مطالعه در سطح احتمال 95 درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p<0.05$)(جدول 2). بیشترین میزان فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز مربوط به تیمار کشت آمیخته بلندمازو- پلت در فصل پاییز 1394 ($2370/37\pm154/16$ $\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کنترل در فصل تابستان 1395 ($991/75\pm108/65$ $\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$) بوده است. دامنه‌ی تغییرات فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در تیمارهای کشت بلندمازو، پلت، آمیخته و کنترل به ترتیب برابر 2952/15، 2042/37، 2781/94 و 1772/66 $\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$ بود. دامنه‌ی تغییرات فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در تیمارهای متفاوت کشت در فصول تابستان 1394، پاییز 1394، زمستان 1394، بهار 1395 و تابستان 1395 به ترتیب برابر 2731/61، 2790/76، 3165/05، 2552/82 و 2372/24 $\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$ است.

در تمامی تیمارهای کشت به‌صورت میانگین فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در پاییز 94 نسبت به تابستان 94 به میزان 11/57 درصد افزایش یافته است. در زمستان 94 نسبت به پاییز 94 این فعالیت روند کاهشی به میزان 13/26 درصد را نشان داد. در بهار 95 نسبت به زمستان 94 این فعالیت دارای روند افزایشی به میزان 3/25 درصد بود. در تابستان 95 نسبت به بهار 95 میزان فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز دارای روند کاهشی به میزان 20/86 درصد بود. در کل در تمامی تیمارهای کشت به‌صورت میانگین فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در بازه‌ی زمانی تابستان 94 تا تابستان 95 به میزان 19/75 درصد کاهش یافت.

در تمامی فصول تیمار آمیخته دارای بیشترین میانگین فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز و تیمار کنترل دارای کم‌ترین میزان نسبت به سایر تیمارهای کشت گونه بود. علیرغم اینکه در تمامی تیمارهای کشت با گذشت زمان فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز کاهش یافت لیکن این کاهش در تیمار آمیخته و نیز در تیمار کنترل در سطح احتمال 95 درصد دارای اختلاف معنی‌داری نبود. فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در تمامی تیمارهای کشت به طور میانگین دارای 4 نقطه‌ی عطف است. در پاییز 94 اولین افزایش فعالیت، در زمستان 94 اولین کاهش فعالیت، در بهار 95 دومین افزایش فعالیت و در تابستان 95 دومین کاهش فعالیت رخ داده است. لیکن علیرغم تغییرات فصلی فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز میزان تغییرات آن در تیمارهای کشت گونه روند تقریباً ثابتی را نشان داده است.



شکل 1- طرح شماتیک ریزوترون نوین مورد استفاده در این تحقیق- برگرفته از ریزوترون مورد استفاده‌ی کسارز و همکاران (2013) و فندر و همکاران (2013)

جدول 2- مقایسه‌ی فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز (میانگین±اشتباه معیار) (میکروگرم پارانیتروفنول در گرم خاک خشک در یک ساعت) در فضای ریزوسفر ترکیب‌های متفاوت کشت در فصول موردمطالعه

ترکیب کشت	تابستان 94	پاییز 94	زمستان 94	بهار 95	تابستان 95
بلندمازو	1848/30±143/20^{ABab}	2161/62±143/20^{ABa}	1520/94±143/20^{Bbc}	1766/24±143/20^{Aabc}	1436/68±143/20^{Bc}
پلت	1666/15±113/33^{Ba}	1861/78±113/33^{Ba}	1742/36±113/33^{Ba}	1875/50±113/33^{Aa}	1288/70±113/33^{Bb}
آمیخته	2139/47±154/16^{Aa}	2370/37±154/16^{Aa}	2282/91±154/16^{Aa}	2091/01±154/16^{Aa}	1811/75±154/16^{Aa}
میانگین	1884/64±84/84^{b}	2131/26±84/84^{a}	1848/74±84/84^{b}	1910/92±84/84^{ab}	1512/38±84/84^{c}
کنترل	1183/60±108/65^{Ca}	1359/69±108/65^{Ca}	1484/59±108/65^{Ba}	1306/14±108/65^{Ba}	991/75±108/65^{Ca}

مقایسات میانگین با آزمون LSD انجام شده است.

*در هر ردیف حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 95 درصد است.

**حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون در سطح احتمال 95 درصد است.

فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در تیمارهای متفاوت کشت و در فصول مختلف مورد مطالعه در سطح احتمال 95 درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p<0.05$)(جدول3). بیشترین میزان فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز مربوط به تیمار آمیخته در فصل زمستان1394 (70/110±6/862$\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$) و کمترین میزان آن مربوط به تیمار کنترل در فصل تابستان 1395 ($\mu gPNPg^{-}$ 29/998±3/388$^{1}h^{-1}$) بود. دامنه‌ی تغییرات فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در تیمارهای بلندمازو، پلت، آمیخته و شاهد به ترتیب برابر 49/04، 90/70، 99/12، 50/12 $\mu gPNPg^{-}$ $^{1}h^{-1}$ بود. دامنه‌ی تغییرات فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در تیمارهای متفاوت کشت در فصول پاییز 1394، زمستان 1394، بهار 1395 و تابستان 1395 به ترتیب برابر 87/69، 121/12، 89/55، 112/64 $\mu gPNPg^{-1}h^{-1}$ بود.

فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در زمستان 94 نسبت به پاییز 94 به ترتیب در تیمار کشت بلندمازو و

پلت به میزان 20/59 و 10/42 درصد کاهش یافت. این فعالیت در بهار 95 نسبت به زمستان 94 در تیمار بلندمازو و پلت به ترتیب به میزان 9/53 و 7/77 درصد افزایش یافت. این روندها در تیمار آمیخته بالعکس بود. در تابستان 95 نسبت به بهار 95 فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز به میزان 19/97 درصد کاهش یافت. در تمامی تیمارهای کشت به‌صورت میانگین در بازه‌ی زمانی پاییز 94 تا تابستان 95 فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز به میزان 23/05 درصد کاهش را نشان داد.

اگرچه فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در تیمارهای کشت و کنترل در انتهای دوره‌ی مطالعه نسبت به فصل آغازین مطالعه کاهش نشان داد. لیکن این کاهش از لحاظ آماری در تیمار آمیخته و کنترل بین فصول مختلف در سطح احتمال 95 درصد فاقد اختلاف معنی‌دار بود. در تمامی فصول تیمار آمیخته بیشترین میزان فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز و تیمار کنترل کمترین میزان این فعالیت را به خود اختصاص دادند. در فصل تابستان 1395 میزان فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز نسبت به سایر فصول در تمامی تیمارهای کشت به طور قابل توجهی کاهش یافت؛ اما این کاهش در تیمار آمیخته در سطح احتمال 95 درصد معنی‌دار نبود.

جدول 3- مقایسه‌ی فعالیت ویژه‌ی اسیدفسفاتاز (میانگین±اشتباه معیار)(میکروگرم پارانیتروفنول در گرم ماده‌ی آلی در یک ساعت) در فضای ریزوسفر ترکیب‌های متفاوت کشت در فصول مورد مطالعه

ترکیب کشت	پاییز 94	زمستان 94	بهار 95	تابستان 95
بلندمازو	$53/487\pm2/809^{Aa}$	$42/473\pm2/809^{Bbc}$	$46/948\pm2/809^{Bab}$	$37/646\pm2/809^{Bc}$
پلت	$57/304\pm5/277^{Aa}$	$51/333\pm5/277^{ABa}$	$55/659\pm5/277^{ABa}$	$39/359\pm5/277^{Bb}$
آمیخته	$64/211\pm6/862^{Aa}$	$70/110\pm6/862^{Aa}$	$65/675\pm6/862^{Aa}$	$57/664\pm6/862^{Aa}$
میانگین	$58/334\pm3/233^{a}$	$58/638\pm3/233^{a}$	$56/094\pm3/233^{a}$	$44/890\pm3/233^{b}$
کنترل	$34/380\pm3/388^{Ba}$	$38/476\pm3/388^{Ba}$	$35/370\pm3/388^{Ca}$	$29/998\pm3/388^{Ca}$

مقایسات میانگین با آزمون LSD انجام شده است.

*در هر ردیف حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 95 درصد است.

**حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در هر ستون در سطح احتمال 95 درصد است.

مقایسه‌ی رشد قطری در ترکیب‌های متفاوت کشت نشان داد که تیمار آمیخته دارای بیشترین رشد قطری در بازه‌ی زمانی مورد مطالعه است؛ اگرچه بین ترکیب‌های متفاوت کشت از لحاظ رشد قطری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال 95 درصد مشاهده نشد (جدول 4). لیکن تیمار آمیخته از لحاظ رشد قطری به ترتیب 39/93 و 18/31 درصد بیشتر از تیمار بلندمازو خالص و پلت خالص بود. از لحاظ رشد ارتفاعی تیمار آمیخته و بلندمازو خالص بیشترین میزان را به خود اختصاص دادند. از لحاظ زی‌توده‌ی ساقه و ریشه نیز میزان بالاتر در تیمار آمیخته قابل توجه بود. به این صورت که تیمار آمیخته از لحاظ زی‌توده‌ی ساقه به ترتیب 40/87 و 61/90 درصد بیشتر از تیمار بلندمازو خالص و پلت خالص بود. به همین صورت تیمار آمیخته به ترتیب دارای زی‌توده‌ی ریشه به میزان 61/30 و 60/01 درصد بیشتر از تیمار بلندمازو خالص و پلت خالص بود.

جدول 4- مقایسه‌ی رشد قطری و ارتفاعی (سانتی‌متر) و زی‌توده‌ی ساقه و ریشه (گرم) در انتهای دوره‌ی آزمایش در ترکیب‌های متفاوت کشت

ترکیب کشت	رشد قطری	رشد ارتفاعی	زی‌توده ساقه	زی‌توده ریشه
بلندمازو	$6/262\pm1/246^{a}$	$67/350\pm7/629^{a}$	$32/771\pm7/834^{a}$	$18/208\pm8/655^{a}$
پلت	$8/811\pm1/246^{a}$	$28/750\pm7/629^{b}$	$21/114\pm7/629^{b}$	$18/818\pm8/655^{a}$
آمیخته	$10/424\pm1/246^{a}$	$56/650\pm7/629^{a}$	$55/424\pm7/629^{a}$	$47/053\pm8/655^{a}$

مقایسات میانگین با آزمون LSD انجام شده است.

*حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 95 درصد است.

بحث

نتایج نشان داد میزان فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز در ترکیب‌های متفاوت کشت دارای اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال 95 درصد است. اوشیو و همکاران (2010) و هرولد و همکاران (2014) نیز نشان دادند که فعالیت آنزیمی در بین گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. در مطالعه‌ی حاضر میزان فعالیت آنزیمی در ترکیب کشت آمیخته بالاترین بود که نشان‌دهنده‌ی وضعیت رقابتی مناسب‌تر است.به دلیل وجود همزیستی یا به دلیل دارا بودن سیستم ریشه‌ای متفاوت، دو گونه‌ی پلت و بلندمازو ایجادآشیان‌های متفاوت اکولوژیک ریشه در قسمت‌های مختلف خاک می‌نمایند (پریادارشینی و همکاران، 2016؛ کاستیلو و همکاران، 2016).

لی و همکاران (2012) نشان دادند که نرخ رشد ریشه در تیمارهای کشت آمیخته بیشتر از تیمارهای کشت خالص است. اشمید (2002) بیان داشتند که سیستم‌های ریشه‌ای در حالت آمیخته و خالص با هم متفاوت است. ایشان سیستم ریشه‌ای راش و نوئل را در حالت خالص و آمیخته مطالعه نمودند و به این نتیجه رسیدند که گونه‌ی راش اروپایی در حالت آمیختگی با نوئل رشد عمقی بیشتر و زی‌توده‌ی ریشه‌ی بیشتر نسبت به حالت خالص دارد. ایشان این تغییر در رشد ریشه را به آشیان‌های اکولوژیک متفاوت ریشه در نوئل (رشد سطحی بیشتر) نسبت به راش نسبت دادند. فورولوکس و همکاران (2016) با مطالعات رشد ریشه‌ی راش در حالت خالص و آمیخته با بلوط و کاج به این نتیجه رسیدند که ریشه‌های راش در حالت آمیخته با بلوط رشد مناسب‌تری دارند و در این حالت آمیختگی (راش و بلوط) حتی در شرایط سخت رقابتی (کمبود آب) رشد بسیار بیشتری را نسبت به حالت کشت خالص نشان دادند. بویلت و همکاران (2013) نشان دادند که کشت آمیخته‌ی گونه‌های اکالیپتوس و آکاسیا می‌تواند باعث افزایش تولید روزمینی نسبت به کشت خالص در اکوسیستم‌های با شرایط سخت اکولوژیکی گردد. نتایج این مطالعه نیز نشان داد در حالت کشت آمیخته‌ی بلندمازو- پلت رشد و زی‌توده‌ی روزمینی و زیرزمینی نسبت به حالت کشت خالص بیشتر است.

ساختار و عملکرد ریشه در حالت کشت خالص و آمیخته با هم متفاوت است (پرتش و همکاران،2015). پژوهش‌ها نشان داده است که فعالیت آنزیمی ریزوسفر وابسته به تراوش ریشه است و بین گونه‌های مختلف متفاوت است (ژانگ و همکاران، 2011) و نیز حذف ریشه باعث کاهش قابل توجه در میزان فسفاتاز شده است (کوتروکزو و همکاران، 2014). نتایج نشان داد که فعالیت ویژه و مطلق اسیدفسفاتاز در ریزوسفر ترکیب‌های کشت خالص و آمیخته‌ی مورد مطالعه در سطح احتمال 95 درصد تفاوت داشت. این تفاوت می‌تواند به دلیل فیزیولوژی، مورفولوژی و ساختار متفاوت ریشه‌های پلت و بلندمازو در حالت کشت خالص و آمیخته باشد. از آنجا که فعالیت ویژه‌ی آنزیمی نیز روند مشابهی را با فعالیت مطلق نشان داد و همواره ترکیب کشت آمیخته بیشترین میزان و تیمار کنترل کمترین میزان فعالیت آنزیمی فسفاتاز را به خود اختصاص دادند می‌توان نتیجه گرفت که دلیل اصلی تغییرات فعالیت به دلیل -شرایط ثابت مطالعه- متفاوت بودن ویژگی‌های ریشه‌دوانی از جمله مورفولوژی، فیزیولوژی و تراوش‌های ریشه است. نتایج وانگ و همکاران (2012) نیز نشان داد که فعالیت آنزیمی در توده‌های آمیخته بیشتر است.

برخی مطالعات تفاوت در میزان فعالیت آنزیمی در فصول مختلف را به شرایط اقلیمی و تغییرات عوامل دما و رطوبت مرتبط دانسته‌اند (اوشیو و همکاران، 2010؛ کوتروکزو و همکاران، 2014؛ هو و همکاران، 2015؛ هندریکسن و همکاران، 2016). در این مطالعه به دلیل آنکه با آبیاری منظم میزان رطوبت خاک همواره در سطح ظرفیت مزرعه حفظ شد. عامل رطوبت در بین فصول مختلف نمی‌تواند علت تغییر فعالیت آنزیمی در فصول مختلف باشد اما تغییرات حرارت طی فصول مختلف سال می‌تواند عامل مهمی در تغییرات فصلی اسیدفسفاتاز در محیط ریزوسفر باشد.

در فصول مختلف مورد مطالعه همان‌طور که نشان داده شده است فعالیت آنزیمی در تمامی تیمارهای کشت در فصل پاییز 94 نسبت به تابستان 94 روند افزایشی و سپس روند کاهشی محسوسی را تا تابستان 95 نشان داد (اگرچه در فصل بهار 95 به میزان اندکی شاهد افزایش فعالیت بودیم). اسناجدر و همکاران (2008) نشان دادند که در جنگل بلوط فعالیت اکثر آنزیم‌ها از جمله ارگواسترول، سلوبیوهیدرولاز و اسیدفسفاتاز با گذشت زمان از ماه می تا اوت 2006 به میزان قابل توجهی کاسته شده است که مطابق با نتایج این تحقیق است. ویتمن و همکاران (2004) نیز برخی آنزیم‌های هیدرولیتیکی را در چرخه‌های کربن و نیتروژن در خاک جنگلی بوره‌آل مورد مطالعه قرار دادند و پی بردند که اکثر فعالیت‌های آنزیمی بین سال‌های 1997 تا 1999 به میزان قابل توجهی کاهش را نشان داد. با این حال فعالیت فسفومونواستراز در اکتبر (پاییز 1997و 1998) روند افزایشی را نشان داد. بعلاوه ژنگ و همکاران (2017) نشان دادند که کشت‌های

طولانی مدت صنوبر باعث کاهش فعالیت‌های آنزیمی دهیدروژناز و بتا-گلوکوزیداز شد.

از آنجا که فعالیت‌های آنزیمی هر کدام در قسمتی از چرخه‌های مواد مغذی سهیم هستند. با توجه به نتایج (ویتمن و همکاران، 2004؛ اسناجدر و همکاران، 2008؛ ژنگ و همکاران، 2017) می‌توان اظهار داشت که برخی آنزیم‌ها مختص تجزیه‌ی مواد ساده و برخی مختص تجزیه‌ی مواد سخت‌تر و پیچیده‌تر می‌باشند.ویتمن و همکاران (2004) تفاوت‌های فصلی در فعالیت‌های آنزیمی را به دلیل تغییرات در ترکیب شیمیایی لاشبرگ در طی تجزیه بیان داشتند. از آنجا که فضای ریزوترون‌های مورد مطالعه دارای ابعاد کوچک است و میزان حجم خاک بسیار کم‌تر از محیط طبیعی است، ریشه‌ها نیز در این محیط بعد از مدت مطالعه‌ی تقریباً طولانی نسبت به محیط کوچک مطالعه، به نوعی با کل فضای ریزوترون درگیر شده‌اند. در طی فصول اولیه مواد مغذی سهل‌الوصول با ترشح آنزیم‌های مربوط به مراحل اولیه به راحتی تجزیه و در دسترس قرار گرفته است. اسناجدر و همکاران (2008) نشان دادند که دلیل کاهش فعالیت آنزیمی بین دوزمان نمونه‌گیری به دلیل میزان بالاتر لیگنین لاشبرگ در زمان نمونه‌گیری دوم (اوت) نسبت به زمان نمونه‌گیری اول (می) بوده است. پس از طی مراحل و از آنجا که در دو عمق اول ریزوترون لاشبرگ پلت و بلندمازو نیز اضافه گردیده است.

میزان اسیدفسفاتاز به نوعی توسط مکانیسم انتخابی گیاه و ریزجانداران در خاک نسبت به فصل اول مطالعه کاسته شده و احتمالاً انرژی گیاه و ریزجانداران برای تولید آنزیم‌هایی صرف گردیده است که به تجزیه‌ی سایر ترکیب‌های موجود پرداخته و بدین ترتیب نیاز خود را برطرف ساخته‌اند. موخوپادیا و جوی (2010) فعالیت‌های آنزیمی را در سه فصل و چهار رویشگاه مورد مطالعه قرار دادند. ایشان به این نتیجه رسیدند که تغییرات فصلی در فعالیت‌های آنزیمی وابسته به هر رویشگاه متفاوت است؛ بنابراین تغییرات فعالیت‌های آنزیمی را به میزان غنای مواد مغذی نسبت دادند و نشان دادند که فعالیت‌های آنزیمی به میزان زیادی با مواد مغذی خاک همبستگی دارند؛ بنابراین می‌توان اظهار داشت که علاوه بر مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه، مواد مغذی موجود در خاک نیز می‌تواند به نوعی تعیین‌کننده‌ی میزان تولید آنزیمی در گیاه باشد که با گذشت زمان این مسئله اهمیت خود را بیشتر آشکار می‌سازد.

با آنکه در فصل زمستان فعالیت مطلق و ویژه‌ی آنزیمی اسیدفسفاتاز در تیمار کشت بلندمازو خالص و پلت خالص کاهش یافته و در سطح میزان فعالیت تیمار کنترل فاقد نهال قرار گرفته است لیکن تیمار آمیخته همچنان میزان فعالیت خود را در سطح سایر فصول ثابت نگه داشته است. از این لحاظ اهمیت آمیختگی گونه‌ها را حتی در مقیاس‌های کوچکی همچون ریزوسفر می‌توان لمس نمود. با این حال کشت آمیخته‌ی بلندمازو-پلت همواره میزان فعالیت اسیدفسفاتاز بیشتری را در تمامی فصول مطالعه داشت که بیانگر فیزیولوژی و مورفولوژی مناسب‌تر ریشه، رشد مناسب‌تر ترکیب آمیخته و در نهایت حفظ بیشتر مواد مغذی خاک است. در عین اینکه رشد روزمینی و زیرزمینی بیشتری نسبت به ترکیب بلندمازو خالص یا پلت خالص را نشان داده است.

نتیجه‌گیری کلی

فعالیت مطلق اسیدفسفاتاز در تیمارهای کشت همواره در تمامی فصول بیشتر از تیمار کنترل بود. از آنجا که با تجزیه‌ی سلول‌های ریشه، آنزیم اسید فسفاتاز ترشح می‌شود، بازکاشت نهال در فضای خالی جنگل کمک اعانه برای تولید آنزیم‌های خارج سلولی در محیط ریزوسفر بوده، باعث افزایش تراوش‌ها و رسوب‌های ریزوسفری و معدنی شدن فسفر خاک خواهد شد. از زمان آغاز تا پایان مطالعه، روند کاهشی محسوسی در تمامی تیمارهای کشت و کنترل مشاهده گردید. کاهش فعالیت می‌تواند به دلایل مختلفی پس از گذشت زمان رخ دهد یکی از آن‌ها تغییر در ترکیب‌های مورد هدف تجزیه در محیط ریزوسفر و نیز کاهش ترکیب‌هایی است که توسط یک آنزیم خاص در محیط کوچک ریزوسفر تجزیه می‌شود. همچنین فیزیولوژی، مورفولوژی و ساختار ریشه‌دوانی ریزوسفر کشت‌های خالص و آمیخته و بوم‌شناسی آن‌ها می‌تواند در سرعت این روند کاهشی یا به دلایلی تا مدتی روند افزایشی دخیل باشد. در بین تیمارهای کشت، تیمار آمیخته بیشترین فعالیت مطلق و ویژه‌ی اسیدفسفاتاز را به خود اختصاص داد که اهمیت آمیختگی در کشت را بر بهبود معدنی ساختن ماده‌ی آلی نشان می‌دهد. بنابراین کشت آمیخته‌ی بلندمازو-پلت مناسب‌تر از کشت خالص هرکدام است زیرا دارای روند کاهشی آهسته‌تری در نرخ فعالیت آنزیم اسیدفسفاتاز ریزوسفر است. نتایج این تحقیق نشان داد که ریزوترون محیط مناسبی برای مطالعه‌ی فعالیت‌های رقابت ریشه است و با فرضیات تحقیق اثبات گشت.

پژوهش‌های آنزیمی در محیط ریزوسفر با استفاده از ریزوترون‌ها می‌تواند به انتخاب گونه‌های

مناسب در جنگل‌کاری‌ها (خالص یا آمیخته) به منظور افزایش حاصلخیزی خاک، کاهش آلودگی‌های خاک و پالایش زیستی کمک نماید. همچنین پژوهش آنزیمی در محیط ریزوسفر می‌تواند به شناسایی معادن زیرزمینی در مناطق مختلف کمک شایان توجهی نماید. تحقیق در رابطه با سایر ویژگی‌های ریزوسفر و ترکیب‌های مترشحه در فضای ریزوسفر (مانند اسیدهای آلی، آمینواسیدها، فنول‌ها و قندها) را به منظور اهداف مختلف دیگر نیز می‌توان توصیه نمود.

فهرست منابع:

1. ثاقب‌طالبی، خ. 1378. نیاز رویشگاهی و نحوه زیست گونه افرا (پلت) .*Acer velutinium*Boiss در جنگل خیرودکنار نوشهر. تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. ج 2. ش 1. ص 79- 150.
2. رئیسی، ش؛ جلالی، غ م؛ اسپهبدی، ک. و خورنکه، س ا. 1391. بررسی تنوع در خصوصیات مورفولوژیکی برگ و میوه بلوط بلندمازو (*Quercuscastaneifolia*) در 5 رویشگاه طبیعی جنگل‌های مازندران. پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل. ج 19. ش 4. ص 93-108.
3. Ben-Dor, E.and Banin, A. 1989. Determination of organic matter content in arid zone soils using a simple "loss-on-ignition" method. Communiction in SoilScience and Plant Analysis 20(15-16): 1675-1695.
4. Bagodatskaya, E., Blagodatsky, S., Anderson, T.H. andKuzyakov, Y. 2009. Contrasting effects of glucose, living roots and maize straw on microbial growth kinetics and substrate availability in soil. European Journal of Soil Science 60: 186-197.
5. Blosfeld, S., Gansert, D., Thiele, B., Kuhn, A.J., Kuhn,A.J. and Losch, R.2011.The dynamics of oxygen concentration, pH value, and organic acids in the rhizosphere of *Juncusspp*. Soil Biology and Biochemistry 43: 1186-1197.
6. Bouillet, J.P., Laclau, J.P., Gonçalves, J.L.D.M, Voigtlaender, M., Gava, J.L., Leite, F.P., Hakamada, R., Mareschal, L., Tardy, F.,Levillain, J., Deleporte, P., Epron, D., Mabiala, A. and Nouvellon, Y. 2013. Eucalyptus and Acacia tree growth over entire rotation in singleand mixed-species plantations across five sites in Brazil and Congo. Forest Ecology and Management 301: 89–101.
7. Busgen, M., Munch, E.T.and Thomsom, T. 1929.The structure and life of forest trees.Chapman and Hall, London.436 pp.
8. Castillo, J.D., Comas, C., Voltas, J.andFerrio, J.P. 2016. Dynamics of competition over water in a mixed oak-pine Mediterranean forest: Spatio-temporal and physiological components. Forest Ecology and Management 382: 214–224.
9. Cesarz, S., Fender, A.C., Beyer, F., Valtanen, K., Gansert, D., Hertel, D., olle, A., Daniel, R., Pfeiffer, B., Leuschner, C. and Scheu, S.2013. Roots from beech (*Fagussylvatica* L.) and ash (*Fraxinus excelsior* L.) differentially affect soil microorganisms and carbon dynamics. Soil Biology and Biochemistry 6: 123-32.
10. Dick, W.A. andTabatabai, M.A.1992. Significance and potential uses of soil enzymes. In: Metting Jr.,.B. (Ed.), Soil Microbial Ecology: Application in Agricultural and Environmental Management. Marcel Dekker. New York. pp: 95–125.
11. Eivazi, F.and Tabatabai, M.A.1977.Phosphatases in soils. Soil Biology and Biochemistry 9:167–172.
12. Fender, A.C., Gansert, D., Jungkunst, H.F., Fiedler, S., Schützenmeistera, K., Thieled, B., Valtanene, K., Polleec, A., Beyer, F. and Leuschnera, C.2013. Root-induced tree species effects on the source/sink strength for greenhouse gases (CH_4,N_2O and CO_2) of a temperate deciduous forest soil. Soil Biology and Biochemistry 57: 587-597.

13. Fruleux, A., Bonal, D. and Bogeat-Triboulot, M.B. 2016. Interactive effects of competition and water availability on above and belowground growth and functional traits of European beech at juvenile level. Forest Ecology and Management 382: 21–30.
14. Godin, A.M., Lidher, K.K., Whiteside, M.D. and Jones, M.D. 2015. Control of soil phosphatase activities at millimeter scales in a mixed paper birch e Douglas-fir forest: The importance of carbon and nitrogen. Soil Biology and Biochemistry 80: 62-69.
15. Hendriksen, N.B., Creamer, R.E., Stone, D.and Winding, A. 2016. Soil exo-enzyme activities across Europe the influence of climate, land-use and soil properties. Applied Soil Ecology 97: 44–48.
16. Herold, N., Schöning, I., Berner, D., Haslwimmer, H., Kandeler, E., Michalzik, B. and Schrumpf, M. 2014. Vertical gradients of potential enzyme activities in soil profiles of European beech, Norway spruce and Scots pine dominated forest sites. Pedobiologia 54(3): 181-189.
17. Hou, E., Chen, C., Wen, D. andLiub, X. 2015. Phosphatase activity in relation to key litter and soil properties in mature subtropical forests in China. Science of the Total Environment 515–516: 83–91.
18. Isaac, R.A. and Jones,J.B. 1972. Effects of various drying temperatures on the determination of five plant tissues. Communication in Soil Science and. Plant Analysis 3: 261- 269.
19. Kotroczó, Z., Veres, Z., Fekete, I., Krakomperger, Z., Tóth, J.A., Lajtha, K. and Tóthmérész, B. 2014. Soil enzyme activity in response to long-term organic matter manipulation. Soil Biology and Biochemistry 70: 237-243.
20. Lei, P., Scherer-Lorenzen,M.andBauhus, J.2012.Belowground facilitation and competition in young tree species mixtures. Forest Ecology and Management 265:191–200.
21. Margesin, R. 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase with the substrate p-nitrophenyl phosphate [in: Methods in soil biology. Schinner F, Ohlinger E, KandelerE,Margesin R (eds.)].Berlin. Springer Verl.213–217.
22. Marinari, S., Moscatelli, C. and Grego, S. 2014. Enzymes at plant-soil interface. In: Gianfreda, L., Rao, M.A. (Eds.), Enzymes in Agricultural Sciences. OMICS Group eBooks, USA, pp. 94 -109.
23. Meier,I.C., Finzi, A.C. and Phillips, R.P. 2017. Root exudates increase N availability by stimulating microbial turnover of fast-cycling N pools. Soil Biology and Biochemistry 106: 119-128.
24. Moorberg, C.J., Vepraskas, M.J. and Niewoehner, C.P. 2013. Dynamics of P dissolution processes in the matrix and rhizospheres of bald cypress growing in saturated soil. Geoderma 202–203: 153–160.
25. Mukhopadhyay, S.and Joy, V.C. 2010. Influence of leaf litter types on microbial functions and nutrient status of soil: Ecological suitability of forest trees for afforestation in tropical laterite wastelands. Soil Biology and Biochemistry 42: 2306-2315.
26. Pretzsch, H., Forrester, D.I.andThomasRötzer, T. 2015. Representation of species mixing in forest growth models. A review and perspective. Ecological Modelling 313: 276–292.
27. Priyadarshini, K.V.R., Bie, S.D., Heitkonig, I.M.A., Woodborne, S., Gort, G., Kirkman, K.P. and Prins, H.H.T. 2016. Competition with trees does not influence root characteristics of perennial grasses in semi-arid and arid savannas in South Africa. Journal of Arid Environments 124: 270-277.
28. Razavi, B.S., Zarebanadkouki, M., Blagodatskaya, E., and Kuzyakov, Y. 2016. Rhizosphere shape of lentil and maize: Spatial distribution of enzyme activities. Soil Biology and Biochemistry 96: 229-237.
29. Schmid, I. 2002. The influence of soil type and interspecific competition on the fine root system of Norway spruce and European beech. Basic and Applied Ecology 3: 339–346.

30. Šnajdr, J., Valášková, V., Merhautová, V., Herinková, J., Cajthaml, T. and Baldrian, P.2008. Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. Soil Biology and Biochemistry 40: 2068–2075.
31. Song, M., Tian, Y., Xu, X., Hu, Q. and Ouyang, H.2006. Interactions between root and shoot competition among four plant species in an alpine meadow on the Tibetan Plateau. ActaOecologica 29:214– 220.
32. Spohn, M. and Kuzyakov, Y. 2013. Distribution of microbial- and root-derived phosphatase activities in the rhizosphere depending on P availability and C allocation - Coupling soil zymography with C14 imaging. Soil Biology and Biochemistry. 67: 106-113.
33. Spohn, M., Carminati, A. and Kuzyakov, Y. 2013. Soil zymography: A novel in situ method for mapping distribution of enzyme activity in soil. Soil Biology and Biochemistry 58: 275-280.
34. Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. 1969.Use of P-nitrophenyl phosphate for assay soil phosphatas activity. Soil Biology and Biochemistry 1(4): 307–310.
35. Trasar-Cepeda, C., Leiro, 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.
36. Ushio, M., Kitayama, K. and Balser, T.C. 2010. Tree species effects on soil enzyme activities through effects on soil physicochemical and microbial properties in a tropical montane forest on Mt. Kinabalu, Borneo. Pedobiologia 53: 227–233.
37. Wang, B., Xue, S., Liu, G.B., Zhang, G.H., Li, G. and Ren, Z.P. 2012.Changes in soil nutrient and enzyme activities under different vegetation in the Loess Plateau area, Northwest China. Catena 92: 186–195.
38. Wittmann, C., Kähkönen, M.A., Ilvesniemi, H., Kurola, J. and Salkinoja-Salonen, M.S. 2004. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. Soil Biology and Biochemistry 36: 425–433.
39. Zhang, C., Liu, G.,Xue, S.and Song, Z. 2011. Rhizosphere soil microbial activity under different vegetation types on the Loess Plateau, China. Geoderma 161: 115–125.
40. Zheng, J., Chen, J., Pan, G., Wang, G., Zhang, X., Li, L., Bian, R., Cheng, K., Liu, X.and Zheng, J. 2017. A long-term hybrid poplar plantation on cropland reduces soil organic carbon Mineralization and shifts microbial community abundance and composition. Applied Soil Ecology 111: 94–104.

Seasonal Variations of Absolute and Specific Acid Phosphatase Activities on Rhizosphere Competition in Pure and Mixed Planting of Chestnut-Leaved Oak and Persian Maple

Y. Sharifpour, H. Habashi[1] and A. Aliarab

Ph. D. Graduate, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource;
E-mail: y.asharifpour@gmail.com
Associate professor, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource;
E-mail: habashi@gau.ac.ir
Assistant professor, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource;
E-mail: aliarab@gau.ac.ir

Received: June, 2017 & Accepted: March, 2018

Abstract

Rhizospheric competition play a vital role in plant nutrition such as phosphorus availability. Inter and intraspecific competition have the maximum influence on rhizosphere function. It can be expected that rhizosphere exudations (such as acid phosphatase) will change in the various competitive scenarios, considering the specific rhizosphere characteristics of plant species. Acid phosphatase (AP) is one of the most important rhizospheric enzymes and it is a specific enzyme to the phosphorus cycle. This investigation was carried out to study the absolute and specific AP activities on rhizosphere competition in pure and mixed planting of *Quercus castaneifolia* and *Acer velutinium* (two important species of forests of northern Iran) during different seasons by a novel rhizotron. Sampling was done within 18 rhizotron access tube (3 composition treatments/5 replications with 3 controls rhizotron without seedling) in 4 seasons, then absolute and specific AP activities were determined. Results revealed that there were significant differences between the absolute and the specific AP activities of different planting compositions and seasons ($P<0.05$). Mixed planting had the most absolute AP activities ($2370.37\pm154.16 \mu gPNPg^{-1}h^{-1}$) in autumn while control treatment had the least absolute AP activities ($991.75\pm108.65 \mu gPNPg^{-1}h^{-1}$) in summer. Amounts of absolute and specific AP activities showed significant decrease at the end of experiment compared with the beginning of study times. Results showed *Quercus castaneifolia* and *Acer velutinium* companion planting had better rhizosphere structure, physiology and morphology and also showed that mixed planting have better root growth, so we concluded that this treatment provide more phosphorus during different seasons.

Keywords: Acid Phosphatase, Species Composition, Root Competition, Rhizotron

[1] Corresponding author: Faculty of Forest Science, Gorgan University of Agricultural Science and Natural Resource, Gorgan, Iran