

بررسی ویژگی‌های بیولوژیکی و فعالیت‌های آنزیمی خاک تحت تأثیر نوع خاک و عمق نمونه‌برداری

آسیه عباسیان¹، احمد گلچین و محسن شکل‌آبادی

دانشجوی دکتری گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان؛ asiyeabasian@gmail.com

استاد گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان؛ agolchin2011@yahoo.com

استادیار گروه خاکشناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا همدان؛ sheklabadi@yahoo.com

دریافت: 93/4/21 و پذیرش: 93/11/29

چکیده

مطالعه فعالیت‌های آنزیمی و ویژگی‌های بیولوژیکی خاک نشانه‌هایی از پتانسیل خاک برای پشتیبانی از فرآیندهای بیوشیمیایی و حفظ حاصلخیزی خاک در اختیار ما قرار می‌دهد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر نوع خاک و عمق بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی خاک و نیز بر میزان فعالیت آنزیمی خاک شامل آنزیم‌های اووره‌آز، اینورتاز، آلکالین فسفاتاز و آریل‌سولفاتاز بر روی دو نوع خاک هیستوسول انجام شد. نمونه‌برداری در هر منطقه از 3 نیمرخ خاک (0-120 سانتی‌متر، با فواصل مساوی 20 سانتی‌متری) انجام شد. نتایج نشان داد که اثر نوع خاک، عمق و اثرات متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بوده و میزان فعالیت آنزیم‌ها به‌طور شدیدی در معرض شرایط محیطی موجود در انواع مختلف خاک است. مطالعه اثر عمق بر روی میزان فعالیت آنزیمی خاک نشان دهنده کاهش فعالیت آنزیمی در افق‌های پایین‌تر نسبت به افق‌های بالاتر خاک‌های مورد مطالعه بود. بررسی ارتباط سطح فعالیت آنزیم‌ها با کربن آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن نشان دهنده نقش مثبت کربن آلی ($r = 0/86^{**}$) و بیوماس میکروبی کربن ($r = 0/87^{**}$) در هر دو نوع خاک مورد مطالعه بود. با بررسی میزان تنفس میکروبی کربن در دو نوع خاک مورد مطالعه مشاهده شد که مقدار تنفس میکروبی با گذشت زمان افزایش یافت که این نشان‌دهنده افزایش فعالیت بیولوژیکی خاک است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های خاک، فعالیت میکروبی، مواد آلی، هیستوسول

¹نویسنده مسئول، آدرس: همدان، بلوار شهید مصطفی احمدی روشن، دانشگاه بوعلی سینا، دانشکده کشاورزی، گروه خاکشناسی

مقدمه

آنزیم‌های خاک از طریق واکنش‌های شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی بسیار، نقش حیاتی در فرآیندهای خاک مانند چرخه غذایی و تبدیل انرژی بازی می‌کنند (شی و همکاران، 2008). محققین مختلفی آنزیم‌های خاک را به عنوان شاخص‌های قابل استفاده برای آلودگی، حاصلخیزی، سلامت و بلوغ خاک پیشنهاد کرده‌اند (سایوزی و همکاران، 2001؛ ماچولا و همکاران، 2005). از جمله دلایل اصلی این رویکرد می‌توان به ارتباط نزدیک آنزیم‌های خاک با ماده آلی و ویژگی‌های فیزیکی و بیولوژیکی خاک، سهولت در اندازه‌گیری و پاسخ سریع آن‌ها به تغییرات در مدیریت خاک اشاره کرد (دیک، 1994؛ بندیک و دیک، 1999؛ نیلسن و ویندینگ، 2002؛ الدور، 2007). میزان فعالیت آنزیم‌های خاک وابسته به روند و شدت فرآیندهای بیوشیمیایی بوده (ون و چن، 2004؛ سینسبا و همکاران، 2005) و تحت تأثیر نوع خاک، نوع کاربری، پوشش گیاهی و طرح مدیریتی خاک قرار دارد (گرین و اولک‌سزین، 2002؛ ویسکوسکا و همکاران، 2005). یکی از دلایل عمده تفاوت در میزان فعالیت آنزیم‌ها در خاک‌های مختلف، نوع خاک است (چونکار و ترفدار، 1984). چرا که این عامل به نوعی بر سطح مواد آلی خاک، ترکیب و فعالیت میکروارگانیسم‌ها تأثیر دارد.

از جمله مزیت‌های استفاده از شاخص‌های آنزیمی این است که سنجش میزان فعالیت آنزیم‌ها ساده بوده و هزینه‌های کمی را در مقایسه با دیگر روش‌های آنالیز بیولوژیکی طلب می‌کند (ان‌دیای و همکاران، 2000) و در عین حال با دیگر ویژگی‌های خاک همبستگی دارند (ان‌دیای و همکاران، 2000؛ تراسار-سپدا و همکاران، 2000). محققین مختلفی نیز در تحقیقات خود به پاسخ سریع‌تر فعالیت آنزیم‌ها نسبت به ماده آلی در خاک اشاره کرده‌اند (اکوستا-مارتینز و همکاران، 2003). گروهی از آنزیم‌های خاک برای سنجش سطح فعالیت میکروبی درون سلولی بکار می‌روند (مانند دی‌هیدروژناس، کاتالاز و ...) که نوعاً منعکس‌کننده فعالیت میکروبی عمومی در خاک هستند (گارسیا و همکاران، 1997). درحالی‌که دیگر آنزیم‌ها نشان‌دهنده فعالیت برون سلولی در خاک هستند (مانند فسفاتاز، اوره‌آز و ...). فعالیت آنزیم‌های برون سلولی اطلاعاتی در رابطه با فرآیندهای مهم بیوشیمیایی خاک که بر عملکرد خاک تأثیر دارند، به دست می‌دهد (تراسار-سپدا و همکاران، 2000). از جمله آنزیم‌های برون سلولی می‌توان به اوره‌آز، آلکالین فسفاتاز، اینورتاز و آریل سولفاتاز اشاره کرد. آنزیم اوره‌آز در هیدرولیز اوره به

دی‌اکسیدکربن و آمونیاک و بالطبع در افزایش سطح واکنش خاک و کاهش نیتروژن آن از طریق تبخیر آمونیوم مشارکت دارد (مارتینز-سالگادو و همکاران، 2010). پژوهشگران نشان داده‌اند که فعالیت اوره‌آز به جمعیت میکروبی و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک وابسته است (کورتانج و همکاران، 2007). اینورتاز آنزیمی است که هیدرولیز ساکاروز را تسریع می‌بخشد. آنزیم اینورتاز به عنوان شاخصی کارآمد از کیفیت خاک، بسته به نوع کاربری تغییر می‌کند (گرین و اولک‌سزین، 2002). آنزیم‌های فسفاتاز با تسریع هیدرولیز پیوندهای استر-فسفات، سبب آزاد شدن فسفات در خاک شده که می‌تواند توسط گیاهان یا میکروارگانیسم‌ها جذب شود (کوکامپاکس و موساین، 2005). آنزیم آریل سولفاتاز نقش حیاتی در تجزیه ماده آلی و معدنی شدن در خاک‌ها ایفا کرده و به نوع طرح مدیریتی خاک حساس می‌باشد (بندیک و دیک، 1999؛ ان‌دیای و همکاران، 2000).

فعالیت آنزیمی و بیوماس میکروبی ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند زیرا تبدیل عناصر آلی مهم از طریق میکروارگانیسم‌ها صورت می‌پذیرد (آجوا و همکاران، 1999). بیوماس میکروبی خاک می‌تواند به عنوان شاخص حساس به پایداری اکولوژیکی خاک مورد استفاده قرار گیرد (گو و همکاران، 2011). بیوماس میکروبی خاک نه تنها منبع غذایی ناپایدار در خاک به‌شمار می‌رود، بلکه واسطی برای تبدیل و چرخه مواد آلی و عناصر غذایی گیاهی در خاک‌ها است (ایکسو و همکاران، 2006). آنزیم‌های خاک تولید شده توسط میکروب‌ها، نقش کلیدی در عملکرد بیوشیمیایی، تجزیه مواد آلی و چرخه غذایی ایفا می‌کنند (والدراب و همکاران، 2004). تنفس میکروبی خاک اساساً فرآیندی سلولی بوده و واکنش‌های بیوشیمیایی بسیاری را در بر می‌گیرد. این فرآیند علاوه بر اینکه شاخصی از وضعیت و فعالیت میکروب‌های خاک است، بیان‌گر روند و چگونگی تجزیه مواد آلی، فعالیت آنزیمی و چرخه برخی از عناصر غذایی خاک می‌باشد (لو و ژو، 2006).

فعالیت آنزیم‌ها می‌تواند به‌طور مؤثری منعکس‌کننده وضعیت بیولوژیکی خاک باشد. میکروب‌های خاک بازتاب مناسبی برای کیفیت خاک و فعالیت آنزیم‌هایی است که در چرخه بیوشیمیایی کربن، نیتروژن، فسفر و دیگر عناصر غذایی نقش دارند (دیک و همکاران، 1996؛ کالدول، 2005). هم‌چنین از آنجا که فعالیت آنزیمی با فرآیندهای اکوسیستمی مختلفی شامل تشکیل خاک، تبدیل مواد آلی و فعالیت‌های زیست‌پالایی در ارتباط است، یافتن عوامل فیزیکوشیمیایی متفاوت اثرگذار بر

مواد و روش‌ها

تشریح مناطق مورد مطالعه

این تحقیق در دو منطقه دشت لاله‌زار واقع در استان کرمان، با مختصات جغرافیایی 29 درجه و 10 دقیقه و 52/3 ثانیه عرض شمالی و 56 درجه و 46 دقیقه و 55 ثانیه طول شرقی، در 75 کیلومتری جنوب شرق شهر بردسیر و ارتفاع حدود 2680 متر از سطح دریا دارای اقلیم معتدل کوهستانی، و منطقه واقع در استان چهارمحال و بختیاری در چهار کیلومتری جنوب غربی شهرکرد مجاور فرودگاه با مختصات جغرافیایی 32 درجه و 16 دقیقه عرض شمالی و 50 درجه و 49 دقیقه طول شرقی و ارتفاع حدود 2070 متر از سطح دریا دارای اقلیم نیمه خشک انجام شد. در هر منطقه سه نیم‌رخ خاک حفر و از شش عمق با فواصل مساوی 20 سانتی‌متری و از هر عمق شش نمونه جمع‌آوری شد. خاک‌های منطقه دشت لاله‌زار کرمان دارای رژیم حرارتی مزیک و رژیم رطوبتی زیریک و خاک‌های منطقه پشت فرودگاه شهرکرد دارای رژیم حرارتی مزیک و رژیم رطوبتی آکوئیک بوده و هر دو به‌عنوان خاک‌های هیستوسول طبقه‌بندی شدند (فائو/یونسکو، 2012). برخی خصوصیات خاک‌های مورد مطالعه در جدول 1 آورده شده است.

فعالیت‌های آنزیمی دارای اهمیت ویژه‌ای است (کوجور و همکاران، 2012). بنابراین ارزیابی ویژگی‌های میکروبیولوژی و بیوشیمیایی خاک می‌تواند در شناخت محدودیت‌های اصلی موجود در اکوسیستم‌ها مفید بوده و استراتژی‌های مدیریتی مناسبی را به‌منظور حفظ پایداری خاک به‌دست دهد (هریس، 2003). بر این اساس، مطالعه حاضر بر آن است تا با بررسی برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی همراه با ویژگی‌های بیوشیمیایی دو نوع خاک هیستوسول در دو منطقه مطالعاتی واقع در استان چهارمحال و بختیاری و استان کرمان، رفتار این ویژگی‌ها را تحت تأثیر نوع خاک و عمق نمونه‌برداری مورد بررسی قرار داده و نیز با بررسی نحوه توزیع فعالیت آنزیمی این دو نوع خاک، ارتباط میزان فعالیت آنزیم‌ها با محتوای ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن را مورد ارزیابی قرار دهد.

جدول 1- برخی خصوصیات خاک‌های هیستوسول مورد مطالعه

EC (dS/m)		CEC (cmol (+)/kg)		pH		BD (gr/cm ³)		عمق (cm)
۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	۱۰	۲۰	
1/72	1/67	101	78/3	7/15	5/61	0/65	0/58	0-20
1/65	1/63	99/2	72/5	7/54	6/34	0/66	0/76	20-40
1/54	2/72	97/5	70/8	7/63	3/78	0/67	0/86	40-60
1/37	3/67	86/7	68/9	8/16	2/76	0/70	0/90	60-80
1/24	0/82	76/3	67/8	8/68	5/79	0/89	1/02	80-100
1/18	0/79	75/8	66/5	8/70	5/80	1/00	1/04	100-120

BD جرم مخصوص ظاهری خاک، CEC ظرفیت تبادل کاتیونی، EC هدایت الکتریکی

مطالعات آزمایشگاهی

با کلروفوم (جنکینسون و لاد، 1981) و تنفس میکروبی خاک طی 270 روز انکوباسیون (آندرسون، 1982) مورد استفاده قرار گرفت. فعالیت آنزیم اوره‌آز به روش طباطبایی و برمنر (1972)، فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز به روش عیوضی و طباطبایی (1977)، فعالیت آنزیم اینورتاز به روش اسپینر و ون‌مرسی (1990) و فعالیت آنزیم آریل‌سولفاتاز به روش طباطبایی و برمنر (1970) تعیین شد.

نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مورد مطالعه به‌منظور انجام آزمایش‌های شیمیایی و بیولوژیکی شامل کربن آلی به روش اکسیداسیون تر با دی‌کرومات پتاسیم (والکی و بلک، 1934)، نیتروژن کل به روش کج‌لدال (برمنر، 1965)، کربوهیدرات‌عصاره‌گیری شده با اسید رقیق و آب داغ 85°C به روش شرح داده شده توسط دوپایز و همکاران (1956)، فسفر به روش اولسن (اولسن و سامرز، 1982)، بیوماس میکروبی کربن به روش تدخین

آنالیز داده‌ها

داده‌های به دست آمده در این تحقیق به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای هر یک از ویژگی‌های شیمیایی، بیوشیمیایی و بیولوژیکی مورد مطالعه در خاک، تحلیل واریانس دو طرفه (ANOVA) به منظور تعیین اثرات معنی‌دار فاکتورهای اصلی نوع خاک (شهرکرد، کرمان) و عمق خاک (0-20، 20-40، 40-60، 60-80، 80-100 و 100-120 سانتی‌متر) و اثرات متقابل آن‌ها انجام شد و ضرایب همبستگی جزئی مجذور اتا برای بررسی اندازه اثرات محاسبه شد. میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار فیشر (Fisher's LSD) در سطح احتمال یک درصد آماری مقایسه شدند. آنالیز رگرسیون خطی بین ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن با میزان فعالیت آنزیم‌ها انجام شد. در ادامه نمودارهای تنفس با گذشت زمان در هر عمق و برای هر دو نوع خاک ترسیم شد. کلیه تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه 9/2 و SPSS نسخه 16 انجام شد.

نتایج و بحث

رده‌بندی خاک‌های مورد مطالعه

خاک‌های منطقه دشت لاله‌زار استان کرمان کلیه خصوصیات هیستوسول را دارند. این خاک‌ها برای حداقل 30 روز جمعی در سال از آب اشباع بوده و به دلیل وجود افق هیستیک در سطح خاک که مواد آلی آن با درجه پوسیدگی متوسط است در تحت رده همبست قرار می‌گیرند. در این خاک‌ها در دو افق 40 تا 60 و 60 تا 80 سانتی‌متری از سطح خاک کاهش ناگهانی و بیش از اندازه واکنش خاک مشاهده گردید. تجمعات زرد رنگ کانی جاروسایت در زمینه خاک مشاهده شد. کانی جاروسایت در طی فرآیند سولفیدی شدن کانی پريت تشکیل می‌گردد. در طی سال‌های اخیر با کاهش رطوبت و برقراری شرایط اکسایش موضعی که در عمق این خاک‌ها فراهم شده، کانی پريت اکسایش یافته و باعث کاهش واکنش خاک از طریق تولید اسید سولفوریک در این خاک‌ها شده است. بر این اساس خاک‌های این منطقه در گروه بزرگ سولفی‌همبست و به دلیل وجود لایه‌ای با مشخصات فوق که دارای 30 سانتی‌متر ضخامت بوده و در بخش مقطع کنترل قرار دارد در تحت گروه تریک‌سولفی‌همبست رده‌بندی شدند. ساختمان خاک به صورت دانه‌ای درشت با درجه متوسط بوده که به راحتی به خاکدانه‌های دانه‌ای ریز شکسته می‌شود. ریشه‌ها در سرتاسر افق‌های بالایی به صورت ریز با فراوانی متوسط

یافت می‌شوند. رنگ حالت‌های خشک و مرطوب نمونه‌های خاک به ترتیب به صورت 5YR4/3 و 5YR3/1 مشاهده شد.

در خاک‌های منطقه پشت فرودگاه شهرکرد به دلیل شرایط احیایی حاکم در گذشته، اکسیژن کمی برای اکسیداسیون و تجزیه مواد آلی حاصل از گیاهان با ریشه‌های متراکم وجود داشته، که این شرایط منجر به انباشته شدن مواد آلی در سطح این خاک‌ها و تشکیل افق آلی ضخیم شده است. این افق‌های آلی به دلیل درجه تخریب کم، حاوی مواد فیبریکی هستند. به دلیل وجود اپی‌پدون هیستیک با درجه تجزیه و تخریب کم (فیبر خیلی زیاد) و کلیه خصوصیات هیستوسول، خاک‌های این قسمت از اراضی در رده هیستوسول و تحت رده فیبریست رده‌بندی شدند. ساختمان خاک در لایه‌های سطحی خاک دانه‌ای درشت با درجه متوسط بوده که به خاکدانه‌های دانه‌ای ریز شکسته می‌شوند. در لایه‌های عمقی، ساختمان خاک از نوع مکعبی گوشه‌دار متوسط و درجه وضوح متوسط تا ضعیف مشخص گردید. ریشه‌ها در سرتاسر افق‌های بالایی به صورت درشت و خیلی درشت و فراوان یافت شدند. رنگ خاک در نمونه‌های خشک و مرطوب به ترتیب 5YR4/2 (خاکستری مایل به قرمز تیره) و 5YR2.5/1 (خاکستری خیلی تیره مایل به سیاه) مشاهده شد. به دلیل عدم وجود رژیم حرارتی کرائیک و نیز مواد خزهای اسفاگونوم در بیش از 75 درصد حجم افق، در گروه بزرگ هاپلوفیبریست رده‌بندی و تحت گروه تیپیک هاپلوفیبریست قرار گرفته است.

ویژگی‌های شیمیایی

تأثیر نوع خاک و عمق بر روی برخی از خصوصیات شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه شامل کربن آلی، نیتروژن کل (نوع خاک غیرمعنی‌دار)، فسفر، کربوهیدرات عصاره‌گیری شده با آب داغ 85°C و اسید سولفوریک رقیق در سطح احتمال یک درصد آماری معنی‌دار گردید. ضریب همبستگی جزئی η^2 (مجذور اتا) نیز که بیان‌گر جزئی از تغییراتی است که اثرات اصلی و متقابل بر خصوصیت مربوطه اعمال می‌کند، در داخل پراکنش در این جدول آورده شده است. η^2 شدت اثر فاکتور مورد آزمون را اندازه‌گیری می‌کند. هم‌چنین بررسی اثرات متقابل نوع خاک و عمق بر خصوصیات شیمیایی مورد مطالعه، نشان داد که نه تنها هر یک از این عامل‌ها، بلکه ترکیب حالت‌های مختلف این دو نیز بر روی ویژگی‌های شیمیایی مورد مطالعه در سطح یک درصد آماری معنی‌دار بوده و اثرگذار است (جدول 2). نتایج حاصل از تحلیل واریانس نشان داد که فسفر اندازه‌گیری شده در نمونه‌های

همکاران، 1995). میزان کربن آلی در خاک‌های هیستوسول به تعادل بین سرعت تجزیه و تخریب و ترکیب این مواد بستگی دارد (بلر و همکاران، 1995). خاک‌های هیستوسول یک منبع و ذخیره مهم از کربن آلی هستند (رابنهورست و سوانسون، 2000).

مورد مطالعه، به صورت معنی‌داری تحت تأثیر تغییر عمق و البته نوع خاک قرار داشت (جدول 2). الگوی رشد ریشه، مقدار و کیفیت مواد اضافه شده به خاک، فعالیت آنزیمی برون سلولی، تولید کلات‌های آلی و فعالیت موجودات زنده از جمله عوامل بیولوژیکی هستند که تأثیر آن‌ها بر روی مقدار فسفر شناخته شده است (زو و

جدول 2- نتایج تجزیه واریانس دو طرفه برای برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه (مقادیر نشان داده شده کم‌ترین مربعات و مقادیر داخل پرانتز ضریب همبستگی جزئی r^2)

DAE	HWE	P	TN	OC	منابع تغییر
mg/kg		درصد			
960** (0/99)	49/9** (0/86)	2848** (0/66)	0/002 ^{ns} (-)	44/8** (0/99)	S
964** (0/99)	1003** (0/99)	9554** (0/97)	0/86** (0/99)	101** (0/99)	D
23/9** (0/91)	220** (0/99)	1276** (0/81)	0/04** (0/98)	11/6** (0/99)	S × D
0/48	0/35	61/9	0/0001	0/02	خطا

S: نوع خاک، D: عمق نمونه‌برداری، OC: کربن آلی، TN: نیتروژن کل، P: فسفر، HWE: کربوهیدرات عصاره‌گیری شده با آب داغ، DAE:

کربوهیدرات عصاره‌گیری شده با اسید رقیق

** معنی‌دار در سطح 1 درصد آماری، ^{ns} غیرمعنی‌دار

در خاک است. نتایج نشان داد که اثر نوع خاک بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شد (جدول 3)، به طوری که مقدار متوسط فعالیت این آنزیم در خاک شهرکرد بیشتر از خاک مورد مطالعه در استان کرمان بود (جدول 4). زنگ و همکاران (2009) بیان کردند که فعالیت آنزیم اوره‌آز تحت اثر کاربری و فصل نمونه‌برداری و اثرات متقابل این دو است. هم‌چنین اثر عمق بر روی میزان فعالیت این آنزیم در سطح احتمال یک درصد آماری معنی‌دار گردید (جدول 3). بررسی توزیع میزان فعالیت این آنزیم در عمق‌های مختلف دو نوع خاک مورد مطالعه نشان داد که در هر دو نوع خاک، میزان فعالیت این آنزیم با افزایش عمق نمونه‌برداری کاهش یافت (جدول 5). میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز به طور شدیدی تحت تأثیر نوع خاک، عمق خاک و اثرات متقابل این دو قرار داشت (جدول 3). شواهد نشان داد که حضور این آنزیم در خاک شهرکرد با فعالیت بیشتری در مقایسه با خاک مورد مطالعه واقع در استان کرمان همراه بود (جدول 4). نتایج نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم در هر دو نوع خاک روند کاهشی با افزایش عمق داشت (جدول 5). هم‌راستا با نتایج به دست آمده در این پژوهش، یافته‌های بهشتی و همکاران (1390) نیز نشان‌دهنده اثرات معنی‌دار عمق بر میزان فعالیت آنزیم

بررسی‌ها بیانگر اثرات معنی‌دار نوع خاک و عمق بر کربوهیدرات و کربن آلی و اثرات معنی‌دار عمق بر روی نیتروژن کل خاک بود، به طوری که با توجه به مقادیر مجذور اتا، اندازه این اثرات چشمگیر است (جدول 2). هم‌راستا با پژوهش حاضر، محققین مختلفی اثرات معنی‌دار عمق بر نیتروژن کل خاک را گزارش کرده‌اند (جیمنز و همکاران، 2011). مطالعه بر روی اثر نوع خاک و عمق بر محتوی کربوهیدرات خاک حاکی از آن است که عمق و نوع خاک، هم به صورت مستقل و هم اثرات متقابل آن‌ها بر روی مقدار به دست آمده برای کربوهیدرات اثرگذار هستند (جدول 2).

ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع خاک و عمق بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های مورد مطالعه شامل تنفس میکروبی، بیوماس میکروبی خاک (نوع خاک غیرمعنی‌دار) و فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، آلکالین فسفاتاز، اینورتاز و آریل سولفاتاز اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد آماری داشتند. علاوه بر آن تحقیقات نشان داد که اثرات متقابل نوع خاک و عمق بر کلیه ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی مورد مطالعه معنی‌دار بود (جدول 3). این مشاهدات حاکی از نقش این دو عامل در فرآیندهای بیوشیمیایی و بیولوژیکی موجود

آلکالین فسفاتاز بود، به طوری که ایشان گزارش کردند میزان فعالیت این آنزیم با افزایش عمق کاهش می‌یابد.

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس دو طرفه برای برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های مورد مطالعه (مقادیر نشان داده شده کم‌ترین مربعات و مقادیر داخل پرانتز ضریب همبستگی جزئی r^2)

منابع تغییر	UA ($\mu\text{gNH}_4/\text{g2h}$)	ALP (mgPNP/gh)	INV ($\mu\text{gGlucose}/\text{g24h}$)	ARS ($\mu\text{gPNS}/\text{gh}$)	RE (mg/100gr)	BMC ($\mu\text{g}/100\text{gr}$)
S	11664** (0/87)	29241** (0/87)	5675** (0/91)	1482** (0/85)	789259** (0/99)	17754252** (-)
D	28791** (0/99)	72366** (0/99)	11169** (0/99)	5601** (0/99)	226577** (0/99)	10842276010** (0/99)
S × D	2245** (0/87)	14732** (0/94)	500** (0/82)	180** (0/78)	3855** (0/95)	1509905234** (0/93)
خطا	71/8	180	22/7	10/8	39/8	24622283

S: نوع خاک، D: عمق نمونه‌برداری، UA: اوره‌آز، ALP: آلکالین فسفاتاز، INV: اینورتاز، ARS: آریل سولفاتاز، RE: تنفس میکروبی، BMC: بیوماس میکروبی کریه

** معنی‌دار در سطح 1 درصد آماری، ^{ns} غیر معنی‌دار

جدول 4- میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در دو نوع خاک به همراه نتایج آزمون $(\text{mean} \pm \text{SE}) \text{LSD}_{(0.01)}$

نوع خاک	UA ($\mu\text{gNH}_4/\text{g2h}$)	ALP (mgPNP/gh)	INV ($\mu\text{gGlucose}/\text{g24h}$)	ARS ($\mu\text{gPNS}/\text{gh}$)
شهرکرد	222 ^a ($\pm 18/2$)	794 ^a ($\pm 34/5$)	172 ^a ($\pm 11/2$)	107 ^a ($\pm 6/7$)
کرمان	186 ^b ($\pm 13/5$)	737 ^b ($\pm 15/7$)	147 ^b ($\pm 8/2$)	94/8 ^b ($\pm 7/1$)
LSD _(0.01)	7/90	12/5	4/44	3/06

UA: اوره‌آز، ALP: آلکالین فسفاتاز، INV: اینورتاز، ARS: آریل سولفاتاز

برای هر ویژگی، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند بیان‌گر گروه‌های همگن در سطح معنی‌داری $P = 0/01$ هستند.

عمق نمونه‌برداری و اثرات متقابل آن‌ها قرار داشت به طوری که اندازه این اثرات، سطح بالایی از تغییرات در میزان فعالیت این آنزیم تحت تأثیر این عوامل را نمایان می‌کند (جدول 3). از طرفی بهشتی و همکاران (1390) اثر نوع خاک بر فعالیت این آنزیم را بر خلاف نتایج ما غیر معنی‌دار گزارش کردند.

بررسی توزیع فعالیت این آنزیم در دو نوع خاک و شش عمق مختلف نشان داد که در هر دو نوع خاک، با افزایش عمق نمونه‌برداری میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت (جدول 5)، اما میزان فعالیت آن در خاک شهرکرد بیشتر از خاک مورد مطالعه واقع در استان کرمان بود (جدول 4). بهشتی و همکاران (1390) نیز به روند توزیع مشابهی برای میزان فعالیت این آنزیم نسبت به عمق رسیدند. به طور کلی در بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی در دو نوع خاک مشاهده شد که خاک شهرکرد دارای میزان فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به خاک مورد مطالعه واقع در استان کرمان بود. همچنین با

میزان فعالیت آنزیم اینورتاز اثرات معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد آماری نسبت به نوع خاک، عمق خاک و اثرات متقابل این دو عامل بر خود نشان داد (جدول 3). بررسی میزان فعالیت این آنزیم در دو نوع خاک مورد مطالعه حاکی از بیشتر بودن مقدار متوسط فعالیت این آنزیم در خاک شهرکرد نسبت به خاک مورد مطالعه واقع در استان کرمان بود (جدول 4). همچنین مشاهده شد که میزان فعالیت این آنزیم نسبت به افزایش عمق از روندی نزولی پیروی می‌کند (جدول 5). در مقایسه با نتایج دیگر محققین بر روی میزان فعالیت آنزیم اینورتاز، بهشتی و همکاران (1390) در مطالعه بر روی خاک‌های منطقه گرگان و پره‌سر، مشاهده کردند که عمق خاک بر روی میزان فعالیت آنزیم اینورتاز تأثیر دارد. آن‌ها شاهد کاهش مقدار فعالیت این آنزیم با افزایش عمق بودند که مشابه با نتایج حاصل از این پژوهش است. میزان فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز به طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد آماری تحت تأثیر نوع خاک،

توجه به نتایج به‌دست آمده در توزیع میزان فعالیت آنزیم‌ها با عمق نمونه‌برداری مشاهده شد که به‌طورکلی با افزایش عمق میزان فعالیت آنزیمی در هر دو نوع خاک کاهش می‌یابد.

جدول 5- میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در شش عمق و دو نوع خاک به همراه نتایج آزمون LSD_(0.01) (mean ± SE)

عمق (cm)	ARS (µgPNS/g/h)	INV (µgGlucose/g24h)	ALP (mgPNP/g/h)	UA (µgNH ₄ /g2h)	شهرکرد
0-20	155 ^a (±2/60)	234 ^a (±1/83)	996 ^a (±14/4)	337 ^a (±10/4)	0-20
20-40	130 ^b (±1/73)	215 ^b (±1/73)	968 ^a (±19/3)	300 ^b (±1/44)	20-40
40-60	105 ^c (±2/31)	186 ^c (±2/31)	772 ^b (±2/02)	227 ^c (±8/08)	40-60
60-80	93/8 ^d (±1/59)	172 ^c (±8/08)	716 ^c (±2/93)	171 ^d (±4/21)	60-80
80-100	86/2 ^d (±1/59)	119 ^d (±2/89)	701 ^c (±4/93)	161 ^{de} (±7/31)	80-100
100-120	75/0 ^c (±1/42)	110 ^d (±0/58)	610 ^d (±5/20)	134 ^e (±1/15)	100-120
	7/91	16/0	44/8	27/8	LSD _(0.01)
					کرمان
0-20	136 ^a (±2/60)	202 ^a (±1/73)	824 ^a (±3/75)	272 ^a (±4/91)	0-20
20-40	115 ^b (±2/31)	160 ^b (±0/67)	775 ^b (±2/77)	210 ^b (±1/44)	20-40
40-60	109 ^b (±2/02)	157 ^b (±0/73)	767 ^b (±3/48)	202 ^{bc} (±2/33)	40-60
60-80	90/0 ^c (±1/15)	151 ^c (±0/88)	746 ^c (±3/18)	195 ^c (±1/30)	60-80
80-100	67/0 ^d (±2/31)	119 ^d (±0/76)	679 ^d (±2/31)	136 ^d (±2/31)	80-100
100-120	50/5 ^e (±0/29)	94/0 ^e (±1/73)	630 ^e (±5/20)	99/5 ^e (±0/87)	100-120
	8/44	5/09	15/4	11/1	LSD _(0.01)

UA: اوره‌آز، ALP: آلکالین فسفاتاز، INV: اینورتاز، ARS: آریل سولفاتاز

برای هر ویژگی، میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک دارند بیان‌گر گروه‌های همگن در سطح معنی‌داری P = 0/01 هستند.

مطالعه در این مطالعه با ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن انجام شد. نتایج حاکی از ارتباطات معنی‌داری بین میزان فعالیت این آنزیم‌ها با مقدار کربن آلی خاک در هر دو نوع خاک مورد مطالعه در این تحقیق بود (جدول 6). در تحقیقات متعددی ارتباط مقدار کربن آلی خاک با میزان فعالیت آنزیم‌ها مورد ارزیابی و بحث قرار گرفته‌اند. در بررسی‌های انجام شده توسط زنگ و همکاران (2009) میزان رطوبت، کربن آلی خاک، نیتروژن کل و فسفر از عوامل تأثیرگذار بر فعالیت آنزیم اوره‌آز ذکر شده‌اند. به‌طور کلی براساس تحقیقات لیروس و همکاران (2000) محتوی کربن آلی خاک معمولاً به‌طور مثبتی با میزان فعالیت آنزیم‌های خاک در ارتباط است که این مطلب همراستا با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش است. نتایج به‌دست آمده نشان داد که بین اینورتاز و کربن آلی ارتباط قوی و معنی‌داری در هر دو نوع خاک برقرار بود. مشابه با نتایج به‌دست آمده در این تحقیق، زنگ و همکاران (2009) و شی و همکاران (2008) با انجام تحلیل‌های همبستگی بین خصوصیات مختلف خاک و میزان فعالیت آنزیم اینورتاز به اثرات مثبت کربن آلی بر فعالیت این آنزیم اشاره کرده‌اند. آن‌ها در بررسی رابطه بین میزان فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، اینورتاز، اسید فسفاتاز

این کاهش در میزان فعالیت آنزیمی با عمق خاک را می‌توان به‌طور ویژه به کاهش فعالیت بیولوژیکی در همه اقصاها به سمت پایین نسبت داد. در این زمینه نتایج مشابهی توسط برگستروم و همکاران (1998) گزارش شده است. آن‌ها نسبت‌های بالای ماده آلی و فعالیت آنزیم‌هایی مانند اوره‌آز، فسفاتاز، آریل سولفاتاز، بتاگلوکوسیداز و دی‌هیدروژناز را در افق سطحی گزارش کردند. در بررسی اثر عمق و نوع خاک بر روی تنفس میکروبی و بیوماس میکروبی کربن مشاهده شد که اثر عمق خاک و نیز اثرات متقابل عمق و نوع خاک بر تنفس میکروبی و بیوماس میکروبی کربن معنی‌دار بود، با این حال اثر نوع خاک به‌صورت مستقل، تنها بر تنفس میکروبی خاک معنی‌دار بود و نقشی در میزان بیوماس میکروبی خاک نداشت (جدول 3). واسکوئز-موریتا و همکاران (2007) اثر نوع خاک و ویژگی‌های آن را دلیل تفاوت در میزان بیوماس میکروبی کربن در خاک‌های مورد مطالعه معرفی کردند.

ارتباط بین ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن با میزان فعالیت آنزیم‌ها

تحلیل همبستگی رگرسیونی خطی به‌منظور تعیین ارتباط بین میزان فعالیت آنزیم‌های برون سلولی مورد

و کاتالاز به طور کلی به این نتیجه رسیدند که کربن آلی از عوامل اصلی تأثیرگذار بر فعالیت آنزیم های خاک است.

جدول 6- ارتباط بین ماده آلی خاک و بیوماس میکروبی کربن با میزان فعالیت آنزیم ها در دو نوع خاک

نوع خاک	کربن آلی (درصد)	ضریب همبستگی	بیوماس میکروبی کربن ($\mu\text{g}/100\text{gr}$)	ضریب همبستگی
رگ	$UA = 18/3 \times OC - 41/1$	$r = 0/88^{**}$	$UA = 0/003 \times BMC - 288$	$r = 0/96^{**}$
	$ALP = 34/0 \times OC + 305$	$r = 0/86^{**}$	$ALP = 0/005 \times BMC - 157$	$r = 0/95^{**}$
	$INV = 12/4 \times OC - 4/93$	$r = 0/97^{**}$	$INV = 0/002 \times BMC - 109$	$r = 0/87^{**}$
رگ	$ARS = 6/59 \times OC + 12/9$	$r = 0/86^{**}$	$ARS = 0/001 \times BMC - 77/8$	$r = 0/95^{**}$
	$UA = 11/9 \times OC + 40/4$	$r = 0/93^{**}$	$UA = 0/001 \times BMC + 10/5$	$r = 0/91^{**}$
	$ALP = 13/3 \times OC + 576$	$r = 0/88^{**}$	$ALP = 0/001 \times BMC + 537$	$r = 0/89^{**}$
	$INV = 7/39 \times OC + 57/8$	$r = 0/94^{**}$	$INV = 0/0006 \times BMC + 39/7$	$r = 0/92^{**}$
	$ARS = 6/17 \times OC + 19/8$	$r = 0/90^{**}$	$ARS = 0/0005 \times BMC - 0/17$	$r = 0/94^{**}$

OC: کربن آلی، BMC: بیوماس میکروبی کربن، UA: اوره آز، ALP: آلکالین فسفاتاز، INV: اینورتاز، ARS: آریل سولفاتاز

** معنی دار در سطح 1 درصد آماری

تحقیق و گزارشات ارائه شده توسط محققان مختلف بر ما آشکار می سازد که عموماً فعالیت های آنزیمی با مقدار کربن آلی خاک همبستگی دارند. همبستگی قوی این آنزیم ها با کربن آلی خاک نشان دهنده آن است که هر چهار آنزیم دارای تمایل قوی برای برقراری پیوند با بخش آلی خاک می باشند. به طور کلی در تمامی مطالعات فوق بر نقش کلیدی کربن آلی خاک در حفظ فعالیت آنزیمی خاک تأکید شده تا آنجا که سطح فعالیت آنزیم ها در خاک به دلیل حساسیتی که به تخریب مواد آلی از خود نشان می دهند به عنوان شاخص های سنجش کیفیت خاک پیشنهاد گردیده اند (مونریل و برگستروم، 2000).

در این مطالعه ارتباط مثبت مستقیمی بین میزان فعالیت آنزیم های برون سلولی مورد مطالعه با بیوماس میکروبی کربن برای خاک های مورد مطالعه واقع در شهرکرد و استان کرمان مشاهده شد (جدول 6). مشابه با نتایج به دست آمده در این پژوهش، والدراپ و همکاران (2000) در مطالعات خود به طور عمومی شاهد همبستگی معنی دار فعالیت چند آنزیم از جمله فسفاتاز با بیوماس میکروبی کربن بودند. دودور و طباطبایی (2003) در برخی از سایت های تحقیقاتی خود مشاهده کردند که بین آلکالین فسفاتاز با بیوماس میکروبی کربن ارتباط معنی داری برقرار است. توجه در معادلات ارائه شده در جدول 6 نشان می دهد که به طور کلی آنزیم آلکالین فسفاتاز دارای میزان فعالیت بالاتری نسبت به سایر آنزیم ها بوده و نیز نرخ افزایش مقدار آن با افزایش ماده

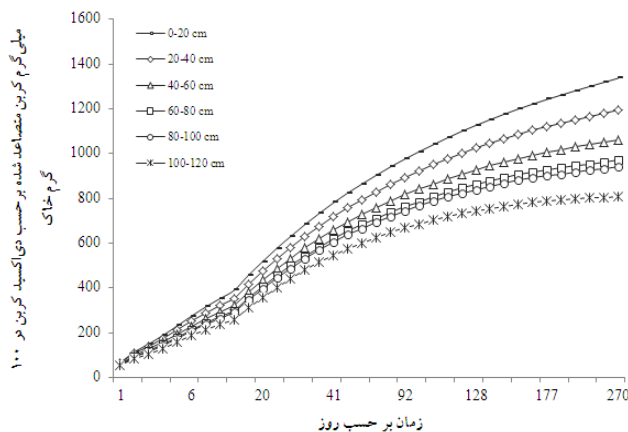
بررسی نتایج نشان داده شده در جدول 6 نشان داد که در هر دو نوع خاک مورد مطالعه در این پژوهش، میزان فعالیت آنزیم های آلکالین فسفاتاز و آریل سولفاتاز با کربن آلی خاک ارتباط مثبت و معنی داری داشت. به دلیل اهمیت آنزیم فسفاتاز در تغذیه گیاهان، این آنزیم بسیار مورد توجه قرار گرفته است. نتایج تحقیقات آکوستا-مارتینز و همکاران (2003) نشان داد که فعالیت آنزیم های آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز و آریل سولفاتاز رابطه مثبت و معنی داری با کربن آلی داشت که مؤید نتایج به دست آمده در این پژوهش است. در مطالعات انجام شده توسط والدراپ و همکاران (2000) بر روی خاک های مناطق حاره، همبستگی مثبت و معنی داری بین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز با کربن آلی و نیتروژن کل خاک مشاهده شد. این مطالب نشان دهنده اهمیت کربن آلی در حفظ و نگهداری فعالیت آنزیمی خاک است. دیک (1994) در بررسی خود بر روی خاک های مختلف نشان داد که رابطه خطی و معنی دار بین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و کربن آلی خاک وجود دارد. وی به نقش کلیدی مواد آلی در حفظ فعالیت های آنزیمی خاک اشاره کرد و بیان کرد که با توجه به این که آنزیم آلکالین فسفاتاز به منبع ترشح میکروبی نسبت به سایر منابع وابستگی بیشتری دارد، اساساً بین فعالیت این آنزیم و کربن آلی خاک همبستگی بالا و معنی داری وجود دارد. دودور و طباطبایی (2003) نیز به ارتباط معنی دار بین کربن آلی و فعالیت آنزیم های فسفاتاز پی بردند. توجه به نتایج به دست آمده در این

است اما با گذشت زمان به تدریج از شیب آن کاسته می‌شود. نتایج به‌دست آمده توسط کرون و والنزولا-سولانو (2003) نیز مؤید این مطلب است. ایشان دریافتند که تجزیه مواد آلی افزوده شده در هر عمقی از خاک در اوایل دوره با سرعت بیشتری انجام می‌شود، که احتمالاً به دلیل وجود مواد سهل‌التجزیه در مواد آلی می‌باشد، ولی به مرور زمان به دلیل کاهش مواد سهل‌التجزیه سرعت تجزیه کاهش می‌یابد. وجود مواد غذایی کافی یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر افزایش ریزجانداران خاک به حساب می‌آید و زمانی که مواد غذایی خاک پاسخگوی جامعه میکروبی نباشد ریزجانداران حساس از بین خواهند رفت (چاندر و همکاران، 2006). مقادیر بیشتر دی‌اکسیدکربن آزاد شده طی فرآیند تنفس مبین فعالیت عمومی میکروب‌ها به‌ویژه فعالیت هتروتروف‌ها بوده و شاخصی برای تعیین بخش قابل معدنی شدن کربن آلی خاک محسوب می‌شود (نانی‌پیری و همکاران، 1990).

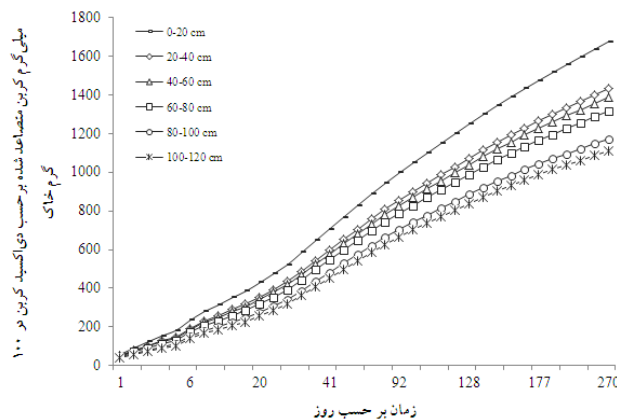
آلی و میزان بیوماس میکروبی کربن نسبت به آنزیم‌های دیگر بیشتر است. هم‌چنین مشاهدات بیشتر بر ما آشکار ساخت که بیوماس میکروبی کربن خاک نسبت به کربن آلی خاک به‌طور کلی همبستگی بیشتری با فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه داشت (به استثنای سه مورد ولی با همبستگی تقریباً یکسان). وانگ و همکاران (2013) نیز در مطالعات خود به نتایج مشابهی رسیدند و بیان کردند که بیوماس میکروبی خاک نسبت به کربن آلی خاک عموماً دارای همبستگی بیشتری با فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، اینورتاز، سلولاز، کاتالاز، فسفاتاز اسیدی و پلی‌فنول اکسیداز داشت.

تنفس میکروبی کربن

مقدار دی‌اکسید کربن متصاعد شده در طی 270 روز در هفت عمق مختلف برای خاک‌های منطقه شهرکرد و منطقه کرمان به‌ترتیب در شکل‌های 1 و 2 نشان داده شده است. توجه به این شکل‌ها نشان می‌دهد که شیب نمودارها در ابتدای دوره تنفسی با تندی بیشتری همراه



شکل 1- میزان کربن متصاعد شده به‌صورت دی‌اکسیدکربن در منطقه واقع در شهرکرد



شکل 2- میزان کربن متصاعد شده به‌صورت دی‌اکسیدکربن در منطقه واقع در استان کرمان

نتیجه‌گیری

آنزیم‌های اووره‌آز، اینورتاز، فسفاتاز و آریل سولفاتاز در معرض شرایط محیطی موجود در انواع متفاوت خاک قرار داشته و به تغییرات در محتوی کربن آلی خاک و فعالیت بیولوژیکی مربوط به بیوماس میکروبی کربن حساس است. در این رابطه پیشنهاد می‌گردد تأثیر فصل نمونه‌برداری بر فعالیت آنزیم‌ها در تحقیقات آتی مورد مطالعه قرار گیرد زیرا تغییرات رطوبت خاک در فصول مختلف بر روی ماده آلی خاک و متعاقباً بر روی فعالیت‌های آنزیمی می‌تواند تأثیرگذار باشد.

با توجه به نتایج پژوهش حاضر مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم‌ها به نوع و عمق خاک مورد مطالعه بسیار وابسته است. مطالعه ویژگی‌های شیمیایی مد نظر در این پژوهش نشان دهنده ارتباط بین آن‌ها با نوع خاک هیستوسول مورد مطالعه و همچنین عمق نمونه‌برداری بود. میزان فعالیت آنزیم‌ها در افق‌های سطحی خاک بیشتر بوده و با افزایش عمق کاهش می‌یابد که می‌توان آن را به کاهش فعالیت موجودات زنده در افق‌های پایین‌تر و همچنین کاهش کربن آلی نسبت داد. به‌طور کلی فعالیت

فهرست منابع:

1. بهشتی، ع، رئیس، ف. و گلچین، ا. 1390. اثرات آشفتنگی ناشی از تبدیل اراضی جنگلی به کشاورزی بر برخی شاخص‌های بیولوژیک کیفیت خاک در اکوسیستم‌های جنگلی شمال ایران. نشریه بوم‌شناسی کشاورزی 3: 439-453.
2. Acosta-Martínez, V., Klose, S. and Zobeck, T.M. 2003. Enzyme activities in semiarid soils under conservation reserve program, native rangeland, and cropland. *Journal of plant nutrition and soil science* 166: 699-707.
3. Ajwa, H.A., Dell, C.J. and Rice, C.W. 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 769-777.
4. Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. In: Page, A. L. (ed.). *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 831-871.
5. Bandick, A.K. and Dick, R.P. 1999. Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1471-1479.
6. Bergstrom, D.W., Monreal, C.M. and King, D.J. 1998. Sensitivity of soil enzyme activities to conservation practices. *Soil Science Society of America Journal* 62: 1286-1295.
7. Blair, G.J., Lefroy, R.D.B. and Lisle, L. 1995. Soil carbon fractions based on their degree of oxidation, and the development of a carbon management index for agricultural systems. *Australian Journal of Agricultural Research* 46: 1459-1466.
8. Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. p. 1149-1178. In: Black, C.A., Evans, D.D. and Dinauer, R.C. (eds.) *Methods of soil analysis. Part 2*. American Society of Agronomy, Monograph No. 9, Madison, Wisconsin.
9. Caldwell, B.A. 2005. Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia* 49: 637-644.
10. Chander, K., Goya, S. and Kapoor, K. 2006. Microbial biomass dynamics during the decomposition of leaf litter of Poplar and eucalyptus in a sandy loam. *Applied Soil Ecology* 35: 10-23.
11. Chhonkar, P.K. and Tarafdar, J.C. 1984. Accumulation of phosphatase in soils. *Journal of the Indian Society of Soil Science* 32: 266-272.
12. Corstanje, R., Schulin, R. and Lark, R.M. 2007. Scale-dependent relationships between soil organic carbon and urease activity. *European Journal of Soil Science* 58: 1087-1095.
13. Crohn, D.M. and Valenzuela-Solano, C. 2003. Modeling temperature effects on decomposition. *Journal of Environmental Engineering* 129: 1149-1156.

14. Dick, R.P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. p. 107-124. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F. and Stewart, K. (eds.) *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Special Publication, Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
15. Dick, R.P., Breakwell, D. and Turco, R. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrating biological indicators. p. 247-272. In: Doran, J.W. and Jones, A.J. (eds.) *Handbook of Methods for Assessment of Soil Quality*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
16. Dodor, D.E. and Tabatabai, M.A. 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 166: 7-13.
17. Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
18. Eivazi, F. and Tabatabai, M.A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 9: 167-172.
19. Eldor, P. 2007. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*. Tercera ed. Eldor P, editor. Chennai, India: Academic Press.
20. FAO/UNESCO. 2012. *Soil map of the world: revised legend*.
21. Garcia, C., Roldan, A. and Costa, F. 1997. Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 12: 123–134.
22. Green, D.M. and Oleksyszyn, M. 2002. Enzyme activities and carbon dioxide flux in a sonoran desert urban ecosystem. *Soil Science Society of America Journal* 66: 2002–2008.
23. Guo, P., Wang, C., Jia, Q., Wang, Q., Han, G. and Tian, X. 2011. Response of soil microbial biomass and enzymatic activities to fertilizations of mixed inorganic and organic nitrogen at a subtropical forest in East China. *Plant and Soil* 338: 355 – 366.
24. Harris, J.A. 2003. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science* 54: 801-808.
25. Jenkinson, D.S. and Ladd, J.N. 1981. Microbial Biomass in Soil: Measurement and Turnover. p. 455–471. In: Paul, E.A. and Ladd, J.N. (eds.) *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker.
26. Jiménez, J.J., Lorenz, K. and Lal, R. 2011. Organic carbon and nitrogen in soil particle-size aggregates under dry tropical forests from Guanacaste, Costa Rica — Implications for within-site soil organic carbon stabilization. *Catena* 86: 178-191.
27. Kujur, M., Gartia, S.K. and Patel, A.K. 2012. Quantifying the contribution of different soil properties on enzyme activities in dry tropical ecosystems. *ARP Journal of Agricultural and Biological Science* 7: 763-772.
28. Leirós, M.C., Trasar-Cepeda, C., Seoane, S. and Gil-Sotres, F. 2000. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate–humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 733-745.
29. Luo, Y. and Zhou, X. 2006. *Soil respiration and the Environment*. Academic press, 328 pp.
30. Machulla, G., Bruns, M.A. and Scow, K.M. 2005. Microbial properties of mine spoil materials in the initial stages of soil development. *Soil Science Society of America Journal* 69: 1069-1077.
31. Martinez-Salgado, M.M., Gutiérrez-Romero, V., Janssens, M. and Ortega-Blu, R. 2010. Biological soil quality indicators: a review. p. 319-328. In: Mendez-Vilas, A. (ed.) *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*. Formatex Research Center.

32. Monreal, C.M. and Bergstrom, D.W. 2000. Soil enzymatic factors expressing the influence of land use, tillage system and texture on soil biochemical quality. *Canadian Journal of Soil Science* 80: 419-428.
33. Nannipieri, P., Ceccanti, B. and Grego, S. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. p. 293-366. In: Bollag, J.M. and Stotzky, G. (eds.) *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York, USA.
34. Ndiaye, E.L., Sandeno, J.M., McGrath, D. and Dick, R.P. 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *American Journal of Alternative Agriculture* 15: 26-36.
35. Nielsen, M.N. and Winding, A. 2002. Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute, Denmark.
36. Olsen, S.R. and Sommers, L.E. 1982. Phosphorus. p. 403-430. In: Page, A.L. (ed.) *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Monograph No. 9, Madison, Wisconsin.
37. Quiquampoix, H. and Mousain, D. 2005. Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. p. 89-112. In: Turner, B.L., Frossard, E. and Baldwin, D.S. (eds.) *Organic phosphorus in the environment*. CABI, Wallingford.
38. Robenhorst, M.C. and Swanson, D. 2000. Histosols. p. 183-209. In: Sumner, M.E. (ed.) *Handbook of soil science*. CRC Press, Boca Raton, USA.
39. Saviozzi, A., Levi-Minzi, R., Cardelli, R. and Riffaldi, R. 2001. A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. *Plant and Soil* 233: 251-259.
40. Schinner, F. and Von Mersi, W. 1990. Xylanase-, CM-cellulase- and invertase activity in soil: An improved method. *Soil Biology and Biochemistry* 22: 511-515.
41. Shi, Z.J., Lu, Y., Xu, Z.G. and Fu, S.L. 2008. Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China. *Plant, Soil and Environment* 54: 341-346.
42. Sinsabaugh, R.L., Gallo, M.E., Lauber, C., Waldrop, M.P. and Zak, D.R. 2005. Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry* 75: 201-215.
43. Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. 1970. Arylsulphatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal* 34: 225-229.
44. Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. 1972. Assay of urease activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 4: 479-487.
45. Trasar-Cepeda, C., Leiros, M.C. and Gil-Sotres, F. 2000. Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oak wood) in an area of the European temperate-humid zone (Galicia, N.W. Spain): specific parameters. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 747-755.
46. Vásquez-Murrieta, M.S., Govaerts, B. and Dendooven, L. 2007. Microbial biomass C measurements in soil of the central highlands of Mexico. *Applied Soil Ecology* 35: 432-440.
47. Waldrop, M.P., Balser, T.C. and Firestone, M.K. 2000. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1837-1846.
48. Waldrop, M.P., Zak, D.R., Sinsabaugh, R.L., Gallo, M. and Lauber, C. 2004. Nitrogen deposition modifies soil carbon storage through changes in microbial enzymatic activity. *Ecological Applications* 14: 1172-1177.
49. Walkley, A. and Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.
50. Wan, F. and Chen, P. 2004. Soil enzyme activities under agroforestry systems in northern Jiangsu Province. *Forestry Studies in China* 6: 21-26.

51. Wang, Q., Xiao, F., He, T. and Wang, S. 2013. Responses of labile soil organic carbon and enzyme activity in mineral soils to forest conversion in the subtropics. *Annals of Forest Science* 70: 579-587.
52. Wyszowska, J., Kucharski, J. and Lajszner, W. 2005. Enzymatic activities in different soils contaminated with copper. *Polish Journal of Environmental Studies* 14: 659–664.
53. Xue, D., Yao, H. and Huang, C. 2006. Microbial biomass, N mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in Tea Orchard soils. *Plant and Soil* 288: 319-331.
54. Zeng, D.H., Hu, Y.L., Chang, S.X. and Fan, Z.P. 2009. Land cover change effects on soil chemical and biological properties after planting Mongolian pine (*Pinus sylvestris* var. *mongolica*) in sandy lands in Keerqin, northeastern China. *Plant and Soil* 317: 121–133.
55. Zou, X., Binkley, D. and Caldwell, B.A. 1995. Effects of dinitrogenfixing trees on phosphorus biogeochemical cycling in contrasting forests. *Soil Science Society of America Journal* 59: 1452–1458.

