

اثر همزمان تلقیح کرم خاکی (*Lumbricus terrestris* L.) و کاربرد مواد آلی مختلف بر تغییرات زمانی فعالیت آنزیمی یک خاک لوم آهکی

فخرالسادات موسوی^{۱*} - فایز رئیسی^۲

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۲۱

چکیده

کرم‌های خاکی بدلیل نقش اساسی در بهبود اغلب خصوصیات خاک، مهمترین جزو فون خاک محسوب می‌شوند. با این وجود، مطالعات اندکی درباره اثرات متقابل مواد آلی و کرم خاکی بر تغییرات زمانی فعالیت آنزیمی خاک، به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک، انجام شده است. پایین بودن میزان ماده آلی در خاک‌های این مناطق و در عین حال نقش مهم کرم‌های خاکی در بهبود شرایط میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی خاک‌های این اقلیم ضرورت توجه خاص به اثرات متقابل بقایای آلی و کرم‌های خاکی را نمایان می‌سازد. بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار، تحت شرایط کنترل شده گلخانه‌ای اجرا گردید. فاکتور اول شامل حضور یا عدم حضور کرم خاکی آنسیک (*Lumbricus terrestris* L.) و فاکتور دوم شامل بقایای آلی مختلف (بقایای یونجه، کود کمپوست و مخلوط بقایای یونجه + کود کمپوست و کود گاوی) به همراه بدون بقایا (شاهد) بود. فعالیت پنج آنزیم (اوره‌آز، فسفاتاز قلیایی، ساکاراز، بتاگلوکوسیداز و آریل سولفاتاز) خاک ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در شرایط استاندارد مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که فعالیت‌های آنزیمی در خاک تلقیح شده با کرم خاکی در مقایسه با خاک بدون کرم خاکی افزایش معنی دار یافت، اما میزان افزایش فعالیت آنزیمی در حضور کرم خاکی به نوع مواد آلی بستگی دارد. علاوه بر این، فعالیت همه آنزیم‌ها بر اثر افزودن مواد آلی به خاک در مقایسه با تیمار شاهد بهبود یافت. با این وجود، مصرف مواد آلی همراه با تلقیح کرم خاکی نتایج بسیار مطلوب‌تری به همراه داشت. سنجش فعالیت‌های آنزیمی طی هر سه مرحله زمانی (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) نشان داد که در اغلب موارد متوسط افزایش فعالیت آنزیم‌ها از مرحله دوم تا مرحله سوم (فاصله زمانی ۶۰ تا ۹۰ روز) در خاک بدون کرم خاکی بیشتر از خاک تلقیح شده با کرم خاکی بود که حاکی است کرم‌های خاکی قادر هستند زمان رسیدن به حداکثر فعالیت آنزیمی خاک را کوتاه‌تر نمایند (فاصله زمانی ۳۰ تا ۶۰ روز).

واژه های کلیدی: آنزیم های خاک، فعالیت کرم خاکی، مواد آلی، خاک های خشک و نیمه خشک

مقدمه

خاک به کار می‌روند (۱۸)، از این رو می‌توان از فعالیت‌های آنزیمی در خاک به عنوان سنسورهای بیولوژیک در مطالعات بررسی تأثیر تیمارهای خاک بر حاصلخیزی آن استفاده نمود (۷)، زیرا فعالیت آنزیم‌های خاک با قابلیت دسترسی عناصر غذایی در خاک همبستگی بالایی دارند (۳). آنزیم‌هایی که در معدنی شدن عناصر غذایی شرکت می‌کنند، اصولاً همبستگی خوبی با تجزیه‌ی لاشبرگ‌های گیاهی و سهولت دسترسی عناصر غذایی نشان می‌دهند (۱۷). اکثر فاکتورهایی که فعالیت میکروبی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، کنترل شدیدی بر تولید آنزیم‌های خاک، قابلیت دسترسی عناصر غذایی و حاصلخیزی خاک اعمال می‌کنند (۲۲). یکی از عواملی که می‌تواند فعالیت آنزیم‌های خاک و در نتیجه سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی آن را تحت تأثیر قرار دهد، حضور و فعالیت کرم‌های خاکی می‌باشد. اگر چه

خاک حاوی آنزیم‌های متنوع بوده که به صورت برون سلولی، درون سلولی، آزاد و یا ترکیبی از این حالت‌ها می‌باشد. فعالیت هر آنزیم در خاک مرکب از فعالیت‌های وابسته به اجزاء مختلف زنده و غیر زنده مانند سلول‌های تکثیر شده، سلول‌های در حال کمون، بقایای سلولی، مواد رسی، کلوتیدهای هومیک و فاز آبی خاک می‌باشد (۱۹). به طور کلی آنالیزهای آنزیمی به طور گسترده برای شناخت فرآیندهای تجزیه مواد آلی و چرخه عناصر غذایی مانند N، P و S در

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

*- نویسنده مسئول: (Email moosavi_melika@yahoo.com)

سانتی متری، چندین نمونه‌ی خاک (بافت لوم رسی سیلتی) تهیه و از الک ۴ mm عبور داده شد و پس از مخلوط کردن تمام خاک الک شده، ۱۰ کیلوگرم خاک برای هر گلدان (گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر) با ترازوی دقیق توزین و به گلدان‌ها اضافه شد. لازم به ذکر است که در کف گلدان‌ها چندین سوراخ جهت زهکشی و تبادل هوا تعبیه شد و همچنین برای جلوگیری از خروج خاک و کرم‌ها، کف گلدان‌ها با تورهای نازک پلاستیکی پوشانده شد. مواد آلی مورد آزمایش (بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه) در هوای معمولی خشک و سپس با آسیاب پودر شدند. پس از آن بقایای از الک ۱mm عبور و برای هر تیمار به میزان ۵۰ گرم توزین گردید. برای تیمارهای مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه از هر یک از بقایای یونجه و کود کمپوست به میزان ۲۵ گرم (به نسبت ۱:۱) توزین و سپس با هم مخلوط شدند. در نهایت بقایا به گلدان‌ها اضافه و با خاک مخلوط گردیدند. مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک و مواد آلی مورد آزمایش، در جدول ۱ آورده شده است. به نیمی از گلدان‌ها ۴۰ عدد کرم خاکی از نوع آنسیک (*Lumbricus terrestris* L.) اضافه گردید. به منظور تعیین دقیق اثر نوع ماده آلی بر فعالیت این آنزیم‌ها لازم بود محتویات دستگاه گوارش کرم‌ها از مواد غذایی بلعیده شده بستر تکثیر، کاملاً تخلیه و پاکسازی شود. به این منظور کرم‌های خاکی بر روی کاغذ حوله‌ای مرطوب به مدت ۲۴ ساعت به حالت نیمه شناور رها شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت کرم‌ها به بسترهای آزمایش منتقل گردیدند (۱۴). در طول مدت آزمایش رطوبت در حداقل ۵۰ درصد ظرفیت زراعی از طریق آبیاری گلدان‌های به میزان ۵۰۰ سی سی به فاصله هر ۳ روز یکبار تنظیم گردید. دمای گلخانه با قرار دادن دماسنج جیوه‌ای در بین گلدان‌ها و کنترل تهویه از طریق باز نمودن پنجره‌های گلخانه در دو نوبت صبح و عصر انجام شد. سنجش فعالیت آنزیم‌ها به کمک افزودن محلول سوبسترای (S) مصنوعی با غلظت مشخص به مقدار معینی از خاک و اندازه‌گیری سرعت تبدیل آن به محصول (P) صورت گرفت، بدین صورت که برای ارزیابی فعالیت آنزیمی در سه مرحله به فواصل زمانی هر ۳۰ روز یکبار، از گلدان‌ها نمونه برداری و فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به روش طباطبایی و برمنر (۲۴)، اوره‌آز به روش طباطبایی و برمنر (۲۵)، ساکاراز به روش اسپینر و وان مرسی (۲۳)، آریل سولفاتاز به روش طباطبایی و برمنر (۲۶) و بتاگلوکوسیداز به روش طباطبایی (۲۷) توسط دستگاه اسپکتوفتومتری مدل UV7500 اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم افزار STATISTICA 6.0 و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD فیشر در سطح ۵ درصد انجام گردید.

تعداد کرم‌های خاکی در بین فون خاک غالب نیست، ولی اندازه‌ی آنها سبب شده است که سهم عمده‌ای از بی‌مهرگان خاک را به این موجودات اختصاص دهند، از این رو فعالیت آنها به شدت در حفظ حاصلخیزی خاک به طرق گوناگون حائز اهمیت می‌باشد (۱۱). کرم‌های خاکی قادرند به طور مستقیم (از طریق شبکه غذایی) و یا به طور غیرمستقیم (از طریق ساختمان خاک) بر چرخه عناصر و دینامیک مواد آلی و در نتیجه حاصلخیزی خاک تأثیر بگذارند. کرم‌های خاکی مواد آلی را مصرف و تا حدودی هضم می‌کنند و به طور مستقیم فعالیت میکروبی را تحریک می‌کنند و همچنین از طریق ایجاد ساختمان اسفنجی، شرایط بهتری را برای تجزیه هوازای ایجاد می‌کنند. جایجایی قسمتی از مواد آلی داخل خاکدانه‌های پایدار می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای دینامیک مواد آلی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۵). در دستگاه گوارش کرم‌های خاکی آنزیم‌های متعددی مانند پروتئاز، آمیلاز، ساکاراز، لیپاز، سلولاز و کیتیناز یافت می‌شود، از سوی دیگر فعالیت کرم‌ها در خاک می‌تواند منجر به تحریک میکروب‌ها و در نتیجه افزایش فعالیت‌های آنزیمی خاک که منشأ میکروبی دارند، گردد و حتی کرم‌های خاکی به طور غیرمستقیم می‌توانند بر فعالیت‌های آنزیمی تأثیر بگذارند، زیرا تفکیک و تجزیه کرم‌ها پس از مرگ و میر آنها توسط ریزجانداران می‌تواند سبب سنتز آنزیم‌های خاک شود (۲۱). این تأثیر کرم‌های خاکی به حضور بقایای گیاهی و یا کودهای آلی بستگی دارد، به طوری که برخی از محققان (۶) دریافته‌اند که فعالیت آنزیمی اغلب با محدودیت مقدار مواد آلی و همچنین کیفیت آنها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در یک آزمایش گلخانه‌ای اثبات شد که کرم‌های خاکی در حضور بقایای آلی فعالیت‌های بیوشیمیایی و آنزیمی خاک را تحریک می‌کنند ولیکن کرم‌های خاکی به تنهایی تأثیر اندکی بر این فرآیندها دارند (۱۸). با بررسی و سنجش فعالیت آنزیم‌ها در خاک می‌توان به مناسب‌ترین روش‌های مدیریت مواد آلی و خاک پی برد، از این رو هدف اصلی این تحقیق بررسی و مطالعه تغییرات زمانی فعالیت پنج آنزیم خاک از چرخه های کربن، نیتروژن، فسفر و گوگرد در حضور یا عدم حضور کرم خاکی آنسیک (*Lumbricus terrestris* L.)، در خاک تیمار شده با مواد آلی مختلف تحت شرایط کنترل شده گلخانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و ۴ تکرار (۴۰ گلدان) در شرایط گلخانه اجرا گردید. فاکتور اول شامل حضور (+W) یا عدم حضور (-W) کرم خاکی و فاکتور دوم شامل انواع مختلف مواد آلی (بقایای یونجه، کود کمپوست و مخلوط بقایای یونجه + کود کمپوست و کود گاوی) و یا بدون مواد آلی (شاهد) بود. در ابتدا به روش نمونه برداری تصادفی، از عمق ۳۰-۰

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و مواد آلی مورد آزمایش

خصوصیات	خاک	بقایای یونجه	کود گاوی	کمپوست	کمپوست + یونجه مخلوط
شن (درصد)	۱۶	-	-	-	-
سیلت (درصد)	۵۲	-	-	-	-
رس (درصد)	۳۲	-	-	-	-
بافت	لوم رسی سیلتی	-	-	-	-
CaCO ₃ (درصد)	۳۳/۸	-	-	-	-
OM(درصد)	۰/۹۳۰	-	-	-	-
OC(درصد)	۰/۵۴۰	۳۹/۷	۱۴/۲	۲۲/۲	۳۰
N (درصد)	۰/۰۴۱	۲/۹۰	۰/۶۱۶	۱/۷۳	۲/۲۱
C/N	۱۳/۲	۱۳/۷	۲۳/۰	۱۲/۸	۱۳/۵
(میکروموس بر سانتیمتر) EC	۰/۱۲	۲/۷۷	۳/۱۸	۳/۹۴	۶/۳۶
pH	۷/۷۹	۶/۰۲	۸/۱۵	۷/۸۰	۶/۹۴

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم ساکاراز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر کرم خاکی (W) و مواد آلی (OM) به تنهایی در هر سه دوره‌ی زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش، اثر بسیار معنی‌دار ($P < 0.001$) بر فعالیت آنزیم ساکاراز داشتند و همچنین اثرات متقابل کرم خاکی و ماده‌ی آلی (W × OM) ۳۰ روز پس از شروع آزمایش در سطح

احتمال ۱ درصد و ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در سطح احتمال ۰/۱ درصد بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که تلقیح کرم خاکی فعالیت آنزیم ساکاراز را در دوره‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش، به ترتیب، به طور متوسط ۱۳ درصد، ۲۱ درصد و ۱۵ درصد نسبت به خاک بدون کرم‌خاکی افزایش داده است.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر ساده کرم خاکی (W) و مواد آلی (OM) و اثرات متقابل آنها (W×OM) بر فعالیت آنزیم‌های خاک (اعداد آماره F هستند)

آنزیم	منبع تغییر	درجه آزادی	زمان (روز)		
			۹۰	۶۰	۳۰
ساکاراز	کرم خاکی (W)	۱	۶۱۵***	۱۲۲۷۵***	۱۷۲***
	ماده آلی (OM)	۴	۶۵۳***	۵۱۶۴***	۷۸/۹***
	(W × OM)	۴	۳۴/۳***	۶۲۸***	۳/۹۵**
اوره آز	کرم خاکی (W)	۱	۱۵۶۵***	۱۱۱۷***	۴۱۱***
	ماده آلی (OM)	۴	۹۱۹***	۲۴۳***	***۵۹/۲
	(W × OM)	۴	۳۴/۱۶***	۱۳/۶***	۱۰/۷۰***
آریل سولفاتاز	کرم خاکی (W)	۱	۳۱۱۴***	***۳۲۹۰	۲۰۱***
	ماده آلی (OM)	۴	۸۰۴۸***	۲۹۳۹**	۱۷۱***
	(W × OM)	۴	۵۷/۳***	۷۰/۹۷***	۲۱/۷***
بتا گلوکوسیداز	کرم خاکی (W)	۱	۷۴۹۴***	۱۴۰۸***	۹۲/۵***
	ماده آلی (OM)	۴	۱۹۵۵***	۵۳۶***	۱۹/۲***
	(W × OM)	۴	۳۱/۹***	۵۸/۰۵***	۶/۲۲***
فسفاتاز قلیایی	کرم خاکی (W)	۱	۱۱۱۱۹***	۵۹۶***	۵۷/۸۲***
	ماده آلی (OM)	۴	۵۲۶۸***	۲۸۸***	۱۵۷***
	(W × OM)	۴	***۴۲۳	۱۹/۷***	۰/۷۶n.s

***، ** و ns- به ترتیب به مفهوم معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۰/۱ درصد و غیرمعنی‌دار می‌باشد.

جدول ۳- اثرات کرم خاکی و مواد آلی مختلف بر فعالیت آنزیم‌های (ساکاراز، اوره آز و آریل سولفاتاز) خاک ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش. اعداد جدول میانگین‌ها (n=۴) به همراه (SD) هستند.

کرم خاکی	مواد آلی	ساکاراز ($\mu\text{g glucose g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$)			اوره آز ($\mu\text{g NH}_4\text{-N g}^{-1} 2\text{h}^{-1}$)			آریل سولفاتاز ($\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$)		
		۹۰	۶۰	۳۰	۹۰	۶۰	۳۰	۹۰	۶۰	۳۰
	خاک شاهد	۲۴۰(۱۰/۷) h	۲۴۲(۴/۸۰) j	۲۵۳(۶/۹۰) f	۱۳/۳(۱/۴۶) g	۱۳/۶(-/۶۸۱)	۱۳/۴(-/۶۶۲)	۲۷/۷(-/۳۲۹) i	۱۲۵/۴ (-/۸۴۰)	۳۶/۱(۲/۰۰)
	بقایای یونجه	۴۰۰(۲/۶۰) de	۳۶۳(-/۳۰۶) d	۲۸۷(۷/۰۰) d	۴۱/۷۰(-/۱/۲۲) e	۲۳/۰(-/۱۰۱)	۲۶/۴(-/۳۰۱) d	۱۲۶(۱/۵۰) c	۱۰۷(۳/۱۰) d	۶۳/۲(۴/۵۰)
	کود گاوی	۳۴۵(۱/۵۵) g	۳۴۱(۱/۲۰) g	۳۲۶(۱۰/۳) e	۱۵/۹(۱/۵۰)	۱۶/۴(-/۲۴۸)	۲۶/۰(-/۶۹۱) f	۸۸/۶ (۱/۴۰) g	۶۶/۰(-/۵۳۱)	۴۰/۰(۳/۵۰) fg
-W	کود کمپوست	۳۹۱(۲/۵۰) e	۳۵۳(-/۵۳۹) f	۲۷۴(۸/۶۰) e	۱۸/۱(-/۱۶۵۱) e	۱۸/۹(-/۳۲۸)	۱۰۱(۲/۶۰) f	۸۵/۱(-/۶۶۰)	۴۳/۷(۱/۳۳) f	۲۳/۳(-/۵۲۹) e
	کمپوست + یونجه	۴۰۶(۲/۰۰) cd	۳۶۶(۳/۷۰) d	۳۱۸(۲/۵۰) bc	۴۲(-/۴۶۵) e	۲۱/۳(-/۳۵۷)	۲۶/۳(-/۳۲۲) d	۱۱۵(-/۴۵۴) e	۱۰۰(-/۳۲۷) e	۵۷/۳(۱/۰۱) d
	متوسط	۲۵۹ (۳/۹۵)	۳۳۳ (۳/۱۰)	۳۷۹ (۷/۰۶)	۱۶/۴ (۱/۰۶)	۱۸/۶ (-/۵۲۶)	۲۲/۳(-/۵۰۱)	۹۱/۷ (۱/۲۵)	۷۶/۷ (۱/۰۸)	۴۸/۰ (۲/۴۶)
	خاک شاهد	۳۳۸(۱/۵۴) g	۳۳۷(-/۶۷۳) h	۳۲۹(۱۴/۲) e	۱۷/۶(-/۴۹۶) e	۱۸/۸(-/۳۷۷)	۱۹/۷(-/۴۴۷)	۳۹/۸(-/۵۶۸)	۱۴۱/۴ (-/۹۹۵)	۴۳/۶ (۱/۰۶) f
	بقایای یونجه	۴۴۴(-/۱۷۴۸) b	۴۴۳(-/۴۰۲) b	۳۳۰(۸/۷۰) b	۲۴/۶ (-/۸۸۰) c	۳۳/۵(۱/۶۱) a	۳۴/۹(-/۶۳۷)	۱۴۴(-/۷۶۹) a	۱۰۱(۷/۷۰) a	۳۴/۹(-/۶۳۷)
	کود گاوی	۳۷۵(۸/۶۱) f	۳۵۷(-/۸۴۳) e	۳۰۶(۶/۹۰) c	۲۱/۳(۲/۲۱) d	۲۵/۵(۱/۵۱)	۲۵/۸(-/۶۸۷) d	۱۱۶(۲/۵) e	۱۱۳ (-/۴۴۸) c	۲۵/۹(۵/۲۰) e
	کود کمپوست	۴۱۲(۱۵/۰) c	۴۰۸(-/۵۳۹) c	۳۲۲(۱۴/۰) b	۲۹/۰(-/۷۷۰) a	۲۹/۴(-/۴۸۷) c	۳۱/۴(-/۲۱۹)	۱۲۳(۱/۳۶) d	۱۲۲ (۱/۲۱) b	۵۵/۰(۲/۹۰) de
+W	کمپوست + یونجه	۴۷۶(۲/۰۷) a	۴۷۳(-/۷۹۹) a	۳۵۷(۱/۷۰) a	۲۶/۸(-/۸۰۵) b	۳۱/۵(-/۵۹۳)	۲۲/۳(-/۴۲۳) b	۱۳۷(-/۶۲۴) a	b (-/۶۳۴) ۷۱/۴	b (-/۶۳۴) ۷۱/۴
	متوسط	۴۰۹ (۵/۶۰)	۴۰۳ (-/۶۵۱)	۳۱۶ (۹/۱۰)	۲۳/۹ (۱/۰۳)	۲۷/۷(-/۹۱۵)	۲۸/۸ (-/۴۸۲)	۱۱۴ (-/۸۱۰)	۱۱۱ (۱/۶۰)	۶۴/۳(۳/۵۰)
		۱/۱۵	۱/۲۱	۱/۱۳	۱/۴۵	۱/۴۹	۱/۲۹	۱/۲۴	۱/۴۵	۱/۳۵
	+ W - W									
	LSD (P ۰/۰۵ =)	۹/۶۳	۲/۹۱	۱۳/۰	۱/۶۹	۱/۲۵	۰/۷۵۰	۱/۸۷	۲/۷۸	۵/۳۱

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

همان‌طور که مشاهده می‌شود تلقیح کرم خاکی ۶۰ روز پس از شروع آزمایش، بیشترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم ساکاراز (افزایش ۲۱ درصدی) داشته است، به عبارت دیگر فعالیت این آنزیم در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) نسبت به اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش)، افزایش ناگهانی داشت. از آنجا که این آنزیم در خاک دارای سه منشأ میکروبی، حیوانی و گیاهی است، تلقیح کرم خاکی می‌تواند بر جمعیت و فعالیت ریزجانداران سنتزکننده این آنزیم تأثیر بگذارد. به همین دلیل ساردانس و پنولاس (۲۲) بیان کردند که فاکتورهایی که فعالیت میکروبی خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهند، کنترل شدیدی بر تولید آنزیم‌های خاک، قابلیت دسترسی عناصر غذایی و حاصلخیزی خاک اعمال می‌کنند. بنابراین به نظر می‌رسد از آنجا که کرم‌های خاکی بر فعالیت میکروبی خاک تأثیر گذار هستند، قادرند بر سنتز آنزیم ساکاراز موثر باشند. تلقیح کرم خاکی در شرایط عدم افزودن ماده‌ی آلی به خاک (تیمار شاهد کرم خاکی)، باعث افزایش فعالیت آنزیم ساکاراز نسبت به خاک شاهد (خاک بدون ماده‌ی آلی و کرم خاکی) در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز به ترتیب تا ۳۲/۳۲ درصد، ۳۹/۲ درصد و ۴۰/۸ درصد گردید. فعالیت آنزیم ساکاراز در خاک شاهد در طی زمان

(۹۰ روز) روند کاهشی و در خاک تلقیح شده با کرم خاکی ولی بدون ماده‌ی آلی (تیمار شاهد کرم خاکی)، طی ۶۰ روز اولیه روند افزایشی نشان داده، ولی در ۳۰ روز بعدی (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) تغییر محسوسی نکرده است. طبق نظر بوئرتر و همکاران (۶) فعالیت آنزیمی بالا اغلب با محدودیت مقدار و یا کیفیت مواد آلی تحت تأثیر قرار می‌گیرد و افزایش فعالیت آنزیمی در حضور مواد آلی مختلف و متفاوت بودن میزان این فعالیت بر حسب نوع ماده‌ی آلی کاربردی، گواهی بر همین مطلب می‌باشد. یکی از دلایل احتمالی کاهش فعالیت فعالیت آنزیم ساکاراز در تیمار شاهد را می‌توان به بیوماس میکروبی کمتر، به دلیل کمبود مواد آلی در این خاک نسبت داد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود (جدول ۳) مواد آلی مختلف (بدون در نظر گرفتن اثر کرم خاکی) تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم ساکاراز در طی زمان داشتند، بدین صورت که بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه هر یک به ترتیب فعالیت این آنزیم را به طور متوسط در اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش) نسبت به تیمار شاهد ۱۶/۵، ۹/۶۰، ۱۴/۲ و ۲۹/۳ درصد، در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) ۳۹/۲، ۲۰/۵، ۳۱/۴ و ۴۴/۹ درصد و در سومین مرحله

اندازه‌گیری (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) ۴۶/۰، ۲۴/۶، ۳۸/۹ و ۵۲/۶ درصد افزایش داده‌اند.

با توجه به نتایج فوق در هر سه مرحله اندازه‌گیری مخلوط بقایای یونجه + کود کمپوست بیشترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم ساکاراز داشته است و همچنین تأثیر مثبت این ماده‌ی آلی در طی ۹۰ روز روند صعودی داشته است (۲۹/۳، ۴۴/۹ و ۵۲/۶ درصد افزایش در دوره‌های زمانی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش). افزایش یا ثابت باقی ماندن فعالیت آنزیم ساکاراز در طی یک دوره زمانی در حضور کرم‌های خاکی، شاید به علت مقاوم شدن کمپلکس‌های آنزیم-هوموس، در برابر حمله‌ی میکروبی و کرم‌های خاکی باشد و این به عنوان یک پدیده اکولوژیکی، بسیار جالب به نظر می‌رسد که در هوموس ایموبلیزه شده، آنزیم‌ها همچنان فعال باقی می‌مانند و قادرند بار دیگر در چرخه‌های عناصر غذایی در درون خاک فعال شوند (۲۰). از این رو می‌توان به نقش مهم مواد آلی در دوباره فعال کردن چرخه‌های عناصر غذایی در خاک‌های تخریب شده، اشاره کرد. دودر و طباطبایی (۱۰) به این نتیجه رسیدند که افزایش مواد آلی به خاک فعالیت آنزیمی خاک را به شدت افزایش می‌دهد. بدیهی است که حضور کرم‌های خاکی به عنوان سنتز کننده و یا تحریک کننده ریزجانداران خاک از طریق افزایش مواد قابل متابولیسم موجود در مواد آلی برای ریزجانداران، و همچنین از طریق حفاظت آنزیم‌های رها شده در خاک (توسط انباشته کردن این آنزیم‌ها در مواد هومیکی و پایدار شدن آنها) می‌توانند نقش مهمی در فعالیت آنزیمی خاک داشته باشند.

فعالیت آنزیم اوره‌آز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که اثر کرم خاکی (W) و مواد آلی (OM) به تنهایی و همچنین اثرات متقابل آنها در هر سه دوره‌ی اندازه‌گیری (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) بر فعالیت آنزیم اوره‌آز که یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های چرخه‌ی نیتروژن می‌باشد، معنی‌دار ($P < 0.001$) بود (جدول ۲). بررسی جدول مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم اوره‌آز طی ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در خاک تلقیح شده با کرم خاکی (تیمارهای +W) به طور معنی‌دار بیشتر از خاک بدون کرم خاکی (تیمارهای -W) بود، به طوری که تلقیح کرم خاکی فعالیت آنزیم اوره‌آز را طی زمان به ترتیب به طور متوسط ۴۵/۷، ۴۹ و ۲۹/۱ درصد در مقایسه با خاک بدون کرم خاکی افزایش داده است. دلایل احتمالی این افزایش را می‌توان مربوط به تأثیر کرم‌های خاکی بر جامعه میکروبی خاک و افزایش تنوع جمعیت میکروبی در حضور کرم‌های خاکی و نیز افزایش سنتز این آنزیم توسط کرم‌های خاکی و میکروب‌ها دانست. کرم‌های خاکی حتی در شرایطی که مواد آلی به خاک اضافه نشده است (تیمار شاهد

کرم خاکی)، در مقایسه با تیمار شاهد خاک سبب افزایش ۳۲/۳، ۳۸/۳ و ۴۷ درصدی فعالیت آنزیم اوره‌آز در زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش شده‌اند و این نشان می‌دهد که کرم‌های خاکی با سنتز آنزیم اوره‌آز و همچنین با ایجاد تغییراتی در جامعه میکروبی خاک حتی در شرایط کمبود مواد آلی نقش بسزایی بر فعالیت این آنزیم دارند. با این وجود نمی‌توان از نقش مثبت مواد آلی بر فعالیت اوره‌آز صرف نظر کرد. همان گونه که داده‌های جدول ۳ نشان می‌دهد مواد آلی مختلف (بدون در نظر گرفتن اثر کرم خاکی) سبب افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز طی دوره آزمایش شده‌اند، بدین صورت که بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه هر یک به ترتیب فعالیت این آنزیم را به طور متوسط در اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش) نسبت به تیمار شاهد (بدون افزودن مواد آلی) ۳۴/۶، ۲۰/۴، ۵۲/۴ و ۴۳/۴ درصد، در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) ۷۴/۴، ۲۹/۳، ۴۹/۰ و ۶۳/۰ درصد و در سومین مرحله اندازه‌گیری (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) ۸۵/۲، ۵۶/۵، ۶۵/۲ و ۷۷/۰ درصد افزایش داده‌اند. به جزء تیمار شاهد خاک (خاک بدون افزودن مواد آلی و کرم خاکی) که در آن فعالیت آنزیم اوره‌آز طی زمان تغییر محسوسی نداشت، فعالیت این آنزیم در مابقی تیمارها طی زمان روند افزایشی نشان داد، که شاید بدین علت است که اوره‌آز در خاک پایدار و مقاوم بوده و فعالیت برون سلولی آن ۵۰ تا ۹۰ درصد کل فعالیت این آنزیم را تشکیل می‌دهد (۱). در خاک تلقیح شده با کرم خاکی (تیمارهای +W) بیشترین افزایش فعالیت آنزیمی ۶۰ روز پس از شروع آزمایش مشاهده شد و در ۳۰ روز بعدی افزایش قابل ملاحظه‌ای در میزان فعالیت این آنزیم دیده نشد، اما در خاک بدون کرم خاکی (تیمارهای -W) میزان افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز در فاصله‌ی زمانی ۶۰ به ۹۰ روز نسبت به خاک تلقیح شده با کرم خاکی بیشتر بود. به طور کلی افزودن مواد آلی سبب افزایش رشد جمعیت میکروبی و در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز می‌شود. نتایج این مطالعه تأثیر کرم خاکی را در حضور بقایای یونجه در افزایش فعالیت این آنزیم به خوبی نشان می‌دهد.

فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز

آنزیم آریل سولفاتاز یکی از آنزیم‌هایی است که در خاک‌ها به وفور یافت می‌شود و این نشان می‌دهد که عملکرد این آنزیم، سولفات آزاد را برای رشد موجودات در محیط‌های دارای کمبود سولفات شامل استرهای آریل سولفات فراهم می‌کند و بیانگر این نکته است که محیط‌های غنی از سولفات می‌توانند از تولید آنزیم آریل سولفاتاز جلوگیری کنند (۲۴). داده‌های جدول ۲ نشان می‌دهد که اثر کرم خاکی در هر سه مرحله‌ی زمانی بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز معنی‌دار

(بدون در نظر گرفتن اثر کرم خاکی) سبب افزایش فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز طی زمان شده‌اند، ولی میزان افزایش به نوع مواد آلی بستگی دارد؛ بدین صورت که بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه هر یک به تنهایی به ترتیب فعالیت این آنزیم را به طور متوسط در اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش) در مقایسه با تیمار شاهد (خاک بدون اضافه نمودن مواد آلی) ۱۰۶، ۱۵/۳، ۲۳/۸ و ۶۱/۵ درصد، در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) ۲۷۵، ۱۶۸، ۲۱۰ و ۲۵۵ درصد و در سومین مرحله اندازه‌گیری (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) ۳۰۵، ۲۰۳، ۲۳۱ و ۲۸۳ درصد افزایش داده‌اند. همان طور که مشاهده می‌گردد افزودن مواد آلی به خاک بر فعالیت این آنزیم تأثیر بسیار مثبت داشته است و همچنین در بین مواد آلی مختلف، بقایای یونجه بیشترین تأثیر را طی ۹۰ روز بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز داشته است. طبق نظر بینتزر و همکاران (۵) افزایش فعالیت آنزیمی در یک دوره‌ی زمانی در حضور کرم‌های خاکی ممکن است به علت رها شدن مواد قابل جذب موجود در مواد آلی برای ریزجانداران توسط فعالیت مستمر این موجودات باشد.

است. تأثیر مواد آلی بر فعالیت این آنزیم در زمان‌های ۳۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش در سطح احتمال ۰/۱ درصد و در زمان ۶۰ روز در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. اثرات متقابل کرم خاکی و مواد آلی نیز در هر سه مرحله‌ی زمانی بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز معنی‌دار ($P < 0.001$) می‌باشد. نتایج جدول ۳ حاکی از آن است که تلقیح کرم خاکی طی زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ (روز) فعالیت این آنزیم را به ترتیب ۳۵، ۴۵ و ۲۴ درصد در مقایسه با خاک بدون کرم خاکی افزایش داد. با این وجود تلقیح کرم خاکی، ۶۰ روز پس از شروع آزمایش، بیشترین تأثیر را بر فعالیت این آنزیم داشت (۴۵ درصد). نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش، در تیمار شاهد کرم خاکی در مقایسه با شاهد خاک ۲۰/۷، ۶۳ و ۴۳/۷ درصد افزایش داشته است، که نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت کرم خاکی به تنهایی (یعنی بدون در نظر گرفتن اثر نوع مواد آلی) بر فعالیت این آنزیم می‌باشد. عدم حضور مواد آلی در تیمار خاک + کرم خاکی باعث شده که تغییر محسوس طی زمان (۹۰ روز) در فعالیت این آنزیم ایجاد نشود. همچنین مشاهده می‌شود (جدول ۳) که مواد آلی مختلف

جدول ۴- اثرات کرم خاکی و مواد آلی مختلف بر فعالیت آنزیم‌های (بتا گلوکوسیداز و فسفاتاز قلیایی) خاک ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش. اعداد جدول میانگین‌ها (n=4) به همراه (SD) هستند.

کرم خاکی	مواد آلی	بتا گلوکوسیداز ($\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$)			فسفاتاز قلیایی ($\mu\text{g PNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$)		
		۳۰	۶۰	۹۰	۳۰	۶۰	۹۰
-W	خاک شاهد	f61/0 (0/781)	g67/6 (2/70)	i60/9 (4/25)	103/5 (5/35) f	g101/7 (7/40)	j95/1 (3/23)
	بقایای یونجه	ef74/4 (4/91)	d123/4 (4/60)	e162/1 (1/03)	e141/4 (4/80)	e159/1 (1/0)	h161/1 (1/40)
	کود گاوی	f12/8 (6/30)	f94/1 (1/61)	h112/1 (1/84)	bc166/4 (4/95)	d171/4 (4/72)	e174/1 (1/07)
	کود کمپوست	cd84/0 (2/85)	d123/0 (0/737)	f152/1 (1/80)	cd158/4 (4/40)	de165/3 (3/20)	f169/2 (2/13)
	کمپوست + یونجه	bc90/0 (2/20)	c128/0 (0/747)	e159/1 (1/20)	d150/4 (4/60)	de163/4 (4/42)	g166/3 (3/00)
	متوسط	78/0 (3/40)	107 (2/07)	129 (2/02)	143 (4/82)	151 (5/94)	153 (2/16)
+W	خاک شاهد	ed79/8 (1/64)	e114/0 (2/51)	g145/3 (3/00)	f111/5 (5/90)	f117/2 (2/61)	i107/1 (1/08)
	بقایای یونجه	a99/3 (5/80)	a178/1 (1/30)	a234/8 (1/50)	cd158/6 (2/0)	a208/1 (2/3)	d230/1 (1/10)
	کود گاوی	b91/6 (9/43)	cd124/2 (2/60)	d176/2 (2/60)	a182/4 (4/08)	a238/5 (5/84)	a247/1 (1/02)
	کود کمپوست	b92/5 (0/189)	b145/2 (2/00)	c216/1 (1/91)	b173/1 (1/6)	b228/1 (1/80)	b242/1 (1/24)
	کمپوست + یونجه	ab95/6 (0/934)	b148/6 (6/52)	b231/5 (5/00)	bc166/5 (2/0)	c217/3 (3/53)	c237/0 (5/05)
	متوسط	91/8 (3/60)	141 (2/53)	203 (2/80)	158 (6/39)	201 (5/21)	212 (0/989)
	$\frac{+W}{-W}$	1/18	1/32	1/57	1/10	1/33	1/39
	LSD (P= 0/05)	6/51	4/25	3/91	6/00	9/30	2/60

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند، براساس آزمون LSD تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ندارند.

یکی دیگر از دلایل احتمالی افزایش شدید این آنزیم در حضور مواد آلی مختلف را می‌توان ناشی از کمبود سولفات برای ریزجانداران ساکن در این خاک و در نتیجه تحریک میکروبه‌ها به تولید این آنزیم و همچنین عدم وجود بازدارنده‌های فعالیت این آنزیم در خاک دانست. از آنجا که تلقیح کرم‌های خاکی تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز داشته است، این احتمال وجود دارد که کرم‌های خاکی قادر به تحریک میکروبه‌های تولید کننده این آنزیم می‌باشند.

فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز

تعیین فعالیت آنزیم‌های گروه گلوکوسیداز از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد، چرا که این گروه از آنزیم‌ها نقش مهمی در تخریب کربن آلی بقایای گیاهی، کود حیوانی و لجن فاضلاب به عنوان منبع مهم کربن و انرژی برای ریزجانداران در خاک‌ها دارند (۱۶). با توجه به نتایج جدول ۲ تأثیر کرم خاکی و مواد آلی هر یک به تنهایی و همچنین اثرات متقابل کرم خاکی و ماده‌ی آلی در سطح احتمال ۰/۱ درصد بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز معنی‌دار می‌باشد. این اثرات در هر سه مرحله‌ی اندازه‌گیری (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش) بر فعالیت این آنزیم معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان می‌دهد که در خاک تلقیح شده با کرم خاکی طی زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز پس از شروع آزمایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز به طور متوسط در مقایسه با خاک بدون کرم خاکی به ترتیب ۱۸، ۳۲ و ۵۷ درصد افزایش داشت و این نتایج بیانگر این نکته است که تلقیح کرم خاکی در حضور مواد آلی مختلف بیشترین تأثیر بر فعالیت این آنزیم را ۹۰ روز پس از اعمال تیمارها داشته است. بنیتز و همکاران (۵) طی تحقیقات ۹ ماهه‌ی خود، حداکثر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را در ماه هفتم مشاهده کردند و پس از آن فعالیت این آنزیم ثابت باقی ماند. افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز می‌تواند به علت تجمع این آنزیم در کمپلکس‌های هومیک و شاید به دلیل مقاومت این کمپلکس‌ها در برابر حمله‌ی میکروبی و کرم‌های خاکی باشد. داده‌های جدول ۴ نشان می‌دهد که کرم‌های خاکی حتی در شرایط عدم افزودن مواد آلی به خاک، قادر هستند فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز را افزایش دهند به طوری که تلقیح کرم خاکی بدون مواد آلی (خاک + کرم خاکی) در مقایسه با تیمار شاهد خاک طی زمان سبب افزایش ۱۵/۶، ۶۸/۶ و ۱۳۸ درصدی در فعالیت این آنزیم شده است. در تیمار شاهد خاک به دلیل عدم حضور مواد آلی و کرم خاکی فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز طی زمان روند نزولی داشته است، ولیکن تلقیح کرم خاکی به این خاک (خاک + کرم خاکی) توانسته است روند افزایشی در فعالیت این آنزیم نشان دهد. با این وجود نمی‌توان نسبت به نقش مواد آلی بر فعالیت این آنزیم بی‌تفاوت بود، زیرا همان طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود مواد آلی مختلف

(بدون در نظر گرفتن اثر کرم خاکی) تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم بتاگلوکوسیداز طی زمان داشته اند، زیرا بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه هر یک به تنهایی به ترتیب فعالیت این آنزیم را به طور متوسط در اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش) در مقایسه با تیمار شاهد (خاک بدون افزودن مواد آلی) ۱۶/۷، ۱۰/۵، ۱۸/۶ و ۲۴/۷ درصد، در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) ۲۰/۰، ۴۷/۶ و ۵۲/۰ درصد و در سومین مرحله اندازه‌گیری (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) ۹۹/۱، ۳۹/۹، ۷۸/۷ و ۸۹/۴ درصد افزایش داده‌اند. این نتایج حاکی از تأیید همبستگی معنی‌دار فعالیت این آنزیم با مواد آلی خاک می‌باشد، زیرا همان طور که عیوضی و طباطبائی (۱۲) عنوان نمودند افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم β -گلوکوسیداز برون سلولی در فرآیند ورمی کمپوست، به سنتز و رها شدن این آنزیم طی این فرآیند اشاره می‌کند و احتمالاً مربوط به افزایش آنزیم β -گلوکوسیداز موجود در موادی است که طی تخریب بیولوژیکی زائدات آلی رها می‌شوند و یا مربوط به افزایش رشد میکروبی می‌باشد که سبب افزایش سنتز این آنزیم می‌شود. با توجه به نتایج این محققان کرم‌های خاکی قادر هستند مواد آلی را به یک فرآورده‌ی هوموس مانند پایدار تبدیل کنند (۵) که این فرآورده‌ها دارای مقادیر نسبتاً بالایی از ترکیبات هومیک مانند، ریزجانداران فعال و آنزیم‌ها می‌باشند و این همان اثر متقابل معنی‌دار کرم خاکی و مواد آلی ($W \times OM$) می‌باشد که در این آزمایش نیز نشان داده شد.

فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

اثر کرم خاکی و ماده‌ی آلی به تنهایی در هر سه مرحله اندازه‌گیری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی معنی‌دار ($P < 0/001$) بود، ولیکن اثر متقابل کرم خاکی و ماده‌ی آلی در اولین مرحله اندازه‌گیری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی غیر معنی‌دار، و در دو مرحله بعدی معنی‌دار ($P < 0/001$) گردیده بود (جدول ۲). جدول ۴ نشان می‌دهد که طی زمان (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز)، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی به طور متوسط در خاک تلقیح شده با کرم خاکی نسبت به خاک بدون کرم خاکی به ترتیب ۱۰، ۳۳ و ۳۹ درصد افزایش داشته است که نشان می‌دهد تلقیح کرم خاکی بیشترین تأثیر را بر فعالیت این آنزیم، ۹۰ روز پس از شروع آزمایش (افزایش ۳۹ درصد) داشته است. تلقیح کرم خاکی اما بدون افزودن مواد آلی (تیمار شاهد کرم خاکی) توانسته است به طور متوسط فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را طی زمان (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) در مقایسه با خاک شاهد به ترتیب ۷/۸۰، ۱۵/۸ و ۱۲/۵ درصد افزایش دهد، که این افزایش ناشی از نقش مستقیم و غیرمستقیم کرم خاکی بر فعالیت این آنزیم می‌باشد. همان طور که مشاهده می‌شود (جدول ۴)، در تیمار شاهد کرم خاکی، طی زمان

اصولاً بین کربن آلی و فعالیت این آنزیم ارتباط قوی و معنی‌دار وجود دارد و این بیانگر این نکته است که افزایش میزان کربن آلی خاک به عنوان منبع انرژی برای فعالیت‌های میکروبی، میزان سنتز این آنزیم را توسط ریزجانداران افزایش داده است. به طور مشابه، دودور و طباطبایی (۱۰) به این نتیجه رسیدند که تولید و فعالیت فسفاتازها نسبت به مواد آلی خاک بسیار حساس می‌باشند.

نتایج جدول ۴ نشان می‌دهد که در خاک شاهد (خاک بدون کرم خاکی و مواد آلی)، فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی طی زمان (۹۰ روز) تغییر محسوسی نداشته است که این خود دال بر این نکته است که در این خاک کاهش منابع کربن آلی (به دلیل عدم افزودن مواد آلی) سبب کاهش منبع انرژی برای ریزجانداران بومی خاک شده و سنتز این آنزیم توسط این ریزجانداران کاهش یافته است. عدم حضور کرم‌های خاکی در تیمار شاهد، سبب کاهش یکی دیگر از منابع سنتز کننده و تحریک‌کننده فعالیت این آنزیم شده است. همچنین کمبود مواد آلی، کاهش جمعیت میکروبی، کمبود فسفات‌های آلی، عدم pH مناسب (pH مناسب ۸-۱۱ می‌باشد، اما pH در خاک شاهد ۷/۷۹ است) از دیگر عوامل کاهش فعالیت این آنزیم در تیمار شاهد (خاک بدون کرم خاکی و مواد آلی) می‌باشند. تلقیح کرم خاکی به این خاک، بدون اضافه نمودن مواد آلی (تیمار شاهد کرم خاکی)، توانسته است فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را طی زمان (۳۰، ۶۰ و ۹۰ روز) نسبت به خاک شاهد (خاک بدون کرم خاکی و مواد آلی) به ترتیب ۱۵/۸، ۷/۸ و ۱۲/۵ درصد افزایش دهد که این افزایش ناشی از نقش مستقیم و غیرمستقیم کرم خاکی بر فعالیت این آنزیم می‌باشد. در هر سه مرحله اندازه‌گیری، بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در خاک تلقیح شده با کرم خاکی (تیمارهای +W) در حضور کود گاوی و کمترین فعالیت این آنزیم در تیمار بقایای یونجه مشاهده شد (جدول ۴). کود گاوی مصرف شده در مقایسه با دیگر مواد آلی دارای pH بالاتر و نیز فسفر کمتر می‌باشد (جدول ۱). در خاک بدون کرم خاکی (تیمارهای -W) نیز بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمار کود گاوی و کمترین آن در تیمار بقایای یونجه مشاهده گردید. به طور کلی از آنجا که آنزیم فسفاتاز قلیایی، یکی از آنزیم‌های ضروری در چرخه فسفر بوده و فعالیت اغلب فسفاتازها وابسته به تغییر و تبدیلات ترکیبات حاوی فسفر آلی و غیر آلی در خاک است، فعالیت آن می‌تواند به عنوان شاخصی از قابلیت دسترسی فسفر برای گیاهان و میکروبیوتا خاک قلمداد گردد. علاوه بر این، و همچنین فعالیت فسفاتازها به عنوان فاکتور مهمی در نگهداری و کنترل سرعت چرخه فسفر در خاک‌های کشاورزی می‌باشد.

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت‌های آنزیمی در خاک

فعالیت این آنزیم تغییر محسوسی نداشته است. مواد آلی مختلف (بدون در نظر گرفتن اثر کرم خاکی) تأثیر مثبت بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی طی زمان داشتند (جدول ۴)، زیرا بقایای یونجه، کود گاوی، کود کمپوست و مخلوط کود کمپوست + بقایای یونجه به طور متوسط، هر یک به تنهایی فعالیت این آنزیم را در اولین مرحله اندازه‌گیری (۳۰ روز پس از شروع آزمایش) در مقایسه با تیمار شاهد (خاک بدون افزودن مواد آلی) به ترتیب ۳۹/۷، ۶۲/۶، ۵۴/۷ و ۴۷/۶ درصد، در دومین مرحله اندازه‌گیری (۶۰ روز پس از شروع آزمایش) ۶۸/۳، ۸۷/۶، ۸۰/۳ و ۷۴/۳ درصد و در سومین مرحله اندازه‌گیری (۹۰ روز پس از شروع آزمایش) ۹۳/۵، ۱۰۸، ۱۰۳ و ۹۹/۴ درصد افزایش داده‌اند. آمادرو و همکاران (۲) نشان دادند که آنزیم فسفاتاز توسط ریزجانداران، ریشه‌ی گیاه و کرم‌های خاکی تولید شده و در همه جای خاک وجود دارد، همچنین **بیتنز و همکاران (۵)** به این نتیجه رسیدند که ریزجانداران و کرم‌های خاکی مواد اصلی قابل متابولیسم چرخه فسفر را مصرف می‌کنند و افزایش در فعالیت آنزیم فسفاتاز شاید به علت غلظت بیشتر ترکیبات فسفات آلی در مواد آلی باشد که ممکن است محرک سنتز آنزیم فسفاتاز باشند. نانپیری و همکاران (۱۷) گزارش کردند که آنزیم‌هایی که در معدنی شدن عناصر غذایی (S و P، N) شرکت می‌کنند، همبستگی خوبی با تجزیه‌ی لاشیرگ و قابلیت دسترسی عناصر غذایی نشان می‌دهند، چرا که برخی از آنزیم‌ها به ویژه فسفاتازها، می‌توانند از ریشه‌ها و یا بخش مربوط به مایکوریزا منشأ بگیرند.

افزایش یا کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی در حضور کرم‌های خاکی بستگی به عوامل بسیار متعددی دارد که pH، فسفر قابل جذب خاک، کربن آلی خاک از موارد حائز اهمیت می‌باشند. به عنوان مثال، نتایج مطالعات **جوما و طباطبائی (۱۴)** نشان داد فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی همبستگی مثبت با pH خاک داشت. pH یکی از مهمترین خصوصیات خاک می‌باشد که قادر است بر سهولت دسترسی عناصر غذایی، کنترل آرایش و تنوع جامعه میکروبی و نیز تغییر تعادل فاز جامد و شدت پاسخ گیاهی تأثیر بگذارد. pH از طریق تأثیر بر غلظت بازدارنده‌ها یا فعال‌سازهای آنزیمی در محلول خاک و نیز غلظت موثر سوبسترا می‌تواند بر فعالیت‌های آنزیمی تأثیر بگذارد (۹). افزایش pH سبب تغییر در قابلیت انحلال بسیاری از ترکیبات شیمیایی، بهبود و گسترش محیط‌های ریشه گیاه، افزایش بیوماس میکروبی شامل دینامیک و تنوع میکروبی و به همین دلیل تغییرات معنی‌دار در فعالیت‌های آنزیمی می‌شود (۴). مناسب‌ترین pH برای فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی ۱۱ می‌باشد. دیک (۸) رابطه‌ی خطی و معنی‌دار بین فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی با کربن آلی در خاک‌های مختلف گزارش کرد. وی اظهار داشت که مواد آلی نقش اساسی در حفظ و نگهداری شکل فعال آنزیم‌های خاک ایفا می‌کنند و از آن جا که منبع ترشح میکروبی، برای آنزیم فسفاتاز قلیایی از سایر منابع محتمل‌تر است،

فعالیت های آنزیمی خاک برای ادامه واکنش های بیوشیمیایی و چرخش عناصر غذایی هم ضروری و هم اجتناب ناپذیر است. در این مطالعه نشان داده شد که با افزودن ۵۰ گرم مواد آلی به ۱۰ کیلوگرم خاک می توان به نتایج مطلوب و قابل قبولی برای افزایش فعالیت آنزیمی خاک دست یافت، به عبارت ساده تر مصرف ۱۵-۱۰ تن مواد آلی در هکتار و حفظ جمعیت کرم های خاکی با تراکم مناسب (۲۰۰ تا ۳۰۰ عدد کرم در متر مربع خاک) برای بهبود و افزایش بهینه باروری، سلامت و کیفیت خاک توصیه می شود. با عنایت به این که در خاک های مناطق خشک و نیمه خشک ایران میزان مواد آلی بسیار پایین می باشد (معمولاً کمتر از ۰/۵ درصد)، مصرف مواد آلی ولو به میزان کم در این خاک ها همراه با مدیریت حفظ و ازدیاد کرم های خاکی برای پایداری آنها ضروری است، و مهم تر این که کاربرد بیوتکنولوژی در کشاورزی مدرن (و آلی) را می توان تجربه و اثبات نمود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از دانشگاه شهرکرد به خاطر حمایت های مالی این پایان نامه قدردانی و تشکر می شود.

تلقیح شده با کرم خاکی در مقایسه با خاک بدون کرم خاکی افزایش می یابد. همچنین فعالیت همه آنزیم ها (اوره آز، فسفاتاز قلیایی، ساکاراز، بتاگلوکوسیداز و آریل سولفاتاز) در تیمارهایی که مواد آلی دریافت کردند در مقایسه با تیمار شاهد (بدون مواد آلی) بیشتر بود. با این حال، مصرف مواد آلی مختلف در حضور کرم خاکی نتایج بسیار مطلوب تری به همراه داشت. متوسط افزایش فعالیت آنزیم ها از مرحله دوم تا مرحله سوم (فاصله زمانی ۶۰ تا ۹۰ روز) در خاک بدون کرم خاکی بیشتر از خاک تلقیح شده با کرم خاکی بود، در حالی که متوسط افزایش فعالیت آنزیم ها در خاک تلقیح شده با کرم خاکی در مرحله اول تا مرحله دوم (فاصله زمانی ۳۰ تا ۶۰ روز) بیشتر از خاک بدون کرم خاکی بود که نشان می دهد کرم های خاکی زمان رسیدن به حداکثر فعالیت آنزیمی خاک را کوتاه تر می نمایند (۶۰ روز پس از شروع آزمایش). به عبارت دیگر، در خاک بدون تلقیح کرم خاکی میزان افزایش فعالیت آنزیمی با گذشت زمان در مقایسه با خاک تلقیح شده با کرم خاکی بیشتر بود. بنابراین، با اضافه کردن مواد آلی مختلف به خاک و فراهم نمودن شرایط لازم برای تغذیه مناسب کرم های خاکی و در نتیجه افزایش فعالیت آنها، بهبود واکنش های آنزیمی خاک های آهکی در مناطق خشک و نیمه خشک و متعاقب آن تقویت نسبی حاصلخیزی خاک را می توان تضمین نمود. زیرا حفظ

منابع

- ۱- نوربخش ف. و حاج عباسی م. ع. ۱۳۷۷. بیولوژی خاک. انتشارات غزل. ۱۹۸ صفحه.
- 2- Amador J.A., Glucksman A.M., Lyons J.B., and Gorres J.H. 1997. Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. *Soil Sci. Soc. Am. J.* (162): 808-823.
- 3- Asmar F., Eiland F., and Nielsen N.E. 1994. Effect of extracellular-enzyme activities on solubilization rate of soil organic nitrogen. *Biol. Fertil Soils.* (17): 32-38.
- 4- Bardgett R.D., and Leemans D.K. 1995. The short-term effects of cessation of fertilizer applications, liming, and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil. *Biol. Fertil. Soils.* (19): 148-154.
- 5- Benitez E., Sainz H., and Nogales R. 2005. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. *Bioresource Technol.* (96): 785-790.
- 6- Boerner R.E.J., Decker K.L.M., and Sutherland E.K. 2000. Prescribed burning effects on soil enzyme activity in a southern Ohio hardwood forest: a landscape-scale analysis. *Soil Biol. Biochem.* (32): 899-908.
- 7- Chen S.K., Edwards C.A., and Subler S. 2003. The influence of two agricultural biostimulants on nitrogen transformations, microbial activity and plant growth in soil microcosms. *Soil Biol. Biochem.* (35): 9-19.
- 8- Dick R.P. 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: Doran, J. W., D. C. Coleman, D. F. Bezdicek, & K. Stewart (eds). *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. Special Publication. Soil Sci. Soc. Am. Madison. WI. pp. 107-124.
- 9- Dick W.A., Chang L., and Wang P. 2000. Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biol. Biochem.* (32): 1915-1919.
- 10- Dodor D.E., and Tabatabai M.A. 2003. Effect of cropping systems on phosphatases in soils. *J. Plant Nutri. Soil Sci.* (166): 7-13.
- 11- Edwards C.A., and Bohlen P.J. 1996. *Biology and ecology of earthworms*, 3rd edition. Chapman and Hall, London. 426 p.
- 12- Eivazi F., and Tabatabai M.A. 1990. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* (22): 891-897.
- 13- Haynes R.J., and Fraser P.M. 1998. A comparison of aggregate stability and biological activity in earthworm casts and uningested soil as affected by amendment with wheat or lucerne straw. *Soil Sci.* (49): 629-636.
- 14- Juma N.G., and Tabatabai M.A. 1977. Distribution of phosphomonoesterases in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* (126): 101-108.

- 15- Ladd J.N., Foster R.C., and Skjemstad J.O. 1993. Soil structure: carbon and nitrogen metabolism. *Geoderma*. (56): 401-434.
- 16- Martinez C.E., and Tabatabai M.A. 1997. Decomposition of biotechnology by-products in soils. *J. Environ. Qual.* (26): 625-632.
- 17- Nannipieri P., Kandeler E., and Ruggiero P. 2002. Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. In: Burns, R. G. & W. A. Dick. (eds). *Enzymes in the environment*. Marcel Dekker, New York. pp. 1-33.
- 18- Nannipieri P., Grego S., and Caccanti B. 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag, S. J. M. & G. Stotzky. (eds). *Soil Biochemistry*. Marcel Dekker, New York. pp. 293-355.
- 19- Oshrain R.L., and Wiebe W.J. 1979. Arylsulphatase activity in salt marsh soils. *Appl. Environ. Microbiol.* (38): 337-340.
- 20- Pascual J.A., Moreno J.L., Hernandez M.T., and Garcia C. 2002. Persistence of immobilized and total urease and phosphatase activities in soil amended with organic wastes. *Bioresource Technol.* (82): 73-78.
- 21- Ross D.J., and Cairns A. 1982. Effects of earthworms and ryegrass on respiratory and enzyme activities of soil. *Soil Biol. Biochem.* (14): 583-587.
- 22- Sardans J., and Penuelas J. 2005. Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean *Quercus ilex* L. forest. *Soil Biol. Biochem.* (37): 455-461.
- 23- Schinner F., and Von Mersi W. 1990. Xylanase, CM-cellulose and invertase activity in soil: an improved method. *Soil Biol. Biochem.* (22): 511-515.
- 24- Tabatabai M.A., and Bremner J.M. 1969. Use of *p*-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* (1): 301-307.
- 25- Tabatabai M.A., and Bremner J.M. 1972. Assay of urease activity in soil. *Soil Biol. Biochem.* (4): 479-487.
- 26- Tabatabai M.A., and Bremner J.M. 1970. Arylsulphatase activity of soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* (34): 225-229.
- 27- Tabatabai M.A. 1982. Soil enzymes. In: Page, A. L., E. M. Miller, & D. R. Keeney. (eds). *Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties*. Am. Soc. Agric. Madison. pp. 903-947.



The Concurrent Effect of Earthworm (*Lumbricus terrestris* L.) Inoculation and Different Organic Materials on Temporal Changes in Enzyme Activities in a Loamy Calcareous Soil

F.S. Mousavi^{1*} - F. Raiesi²

Received: 5-5-2010

Accepted: 12-9-2010

Abstract

Earthworms are an important component of soil fauna, and play a crucial role in the improvement of soil properties. However, very little is known of the interactive influence of earthworms and organic materials on soil enzyme activities, particularly in arid and semi-arid soils. The low organic matter content and the significant role of earthworms in stimulating microbiological and biochemical properties of arid and semi-arid soils may justify researches on the interactive effects of organic materials and earthworms on soil enzymes. Thus, the main objective of this study was to identify the interactive effects of an anecic earthworm (*Lumbricus terrestris* L.) and various organic materials on soil urease, alkaline phosphatase, invertase, β -glucosidase and arylsulphatase activities. The experiment consisted of a 2×5 factorial treatment arranged in a completely randomized design with four replications under controlled greenhouse conditions. The first factor was soils inoculated with and without earthworm, and the second factor was soils amended with alfalfa, compost, cow dung, and a mixture of alfalfa and compost, in addition to a non-amended soil as the control. Potential soil enzyme activities were assayed 30, 60 and 90 days after the initiation of the experiment using the appropriate substrate for each enzyme under standard conditions. Results showed that the activities of most soil enzymes were markedly greater in the presence of earthworms than in the absence of earthworms. The addition of organic materials to soil also resulted in higher enzyme activities compared with the non-amended soils. Nevertheless, the simultaneous effect of earthworm inoculation and organic material additions was much more effective in increasing soil enzyme activities. Yet, the activities of soil enzymes showed fluctuations and varied during the experiment. We found that the averaged increase in soil enzyme activities over 60-90 days in treatments without earthworms was often more remarkable than in treatments with earthworms, indicating that earthworm activity may shorten the time period to attain the maximum enzyme activities (over 30-60 days).

Keywords: Soil enzymes, Earthworm activity, Organic materials, Arid and semi-arid soils

1,2 - Former MSc and Associate Professor of Soil Sciences Department, College of Agriculture., Shahrekord University., Shahrekord, Respectively

(* - Corresponding Author Email: Moosavi_melika@yahoo.com)