بررسی آمونیفیکاسیون ال- گلوتامین، ال-آسپاراجین، ال- هیستیدین، ال- آرجینین و گلیسین در خاک های آهکی

* نجمه سالاری بردسیری [۱] و فرشید نوربخش [۲]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استاد گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

تاریخچه مقاله

دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۲۵

پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۶/۰۴

کلمات کلیدی:

پروتئین،

معدنی شدن نیتروژن،

ال-آرجینین،

ال-هیستیدین

*** عهده دار مکاتبات**

E-mail: ns.64925@gmail.com

چکیده

آمینواسیدها منابع تأمین کننده نیتروژن برای میکروارگانیسم‌های خاک به شمار می‌آیند. با اندازه‌گیری آمونیوم آزاد شده طی تجزیه آمینواسیدها در خاک می‌توان سرعت و میزان آمونیفیکاسیون آن‌ها را در خاک‌ها بررسی کرد. این پژوهش با هدف مقایسه روند تجزیه آمینواسیدها در خاک از طریق اندازه‌گیری نیتروژن معدنی آزاد شده در خاک‌های تیمار شده با آمینواسید صورت گرفت. بدین منظور الگوی زمانی آمونیفیکاسیون و تأثیر غلظت آمینواسید در خاک های تیمار شده با آمینواسیدهای ال-گلوتامین، ال-آسپاراجین، ال-هیستیدین، ال-آرجینین و گلیسین بررسی شد. نتایج نشان داد که افزودن آمینواسیدها در هر دو خاک باعث افزایش معدنی شدن نیتروژن در خاک‌ها می‌گردد. بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در مدت زمان ۲٤ ساعت رخ داد که بیشترین و کمترین آن برای خاک لورک به ترتیب به میزان ۳٤۰/٤۱ و ۲۵۲/۸۱ و برای خاک شرودان به ترتیب ۳۳٤/۱۵ و ۱۲٦/۲۳ میلی گرم برکیلو گرم بود. افزایش غلظت آمینواسید، معدنی شدن نیتروژن را فزونی بخشید به طوری که این روند بجز در مورد ال-هیستیدین تا غلظت ۱۰۰ میلی مولار افزایشی بود. حداکثر آمونیفیکاسیون ال-هیستیدین در هر دو خاک در غلظت ٦۰ میلی مولار رخ داد و پس از آن تغییر قابل توجهی رخ نداد. در بین آمینواسیدهای مورد بررسی، بیشترین سرعت آمونیفیکاسیون برای ال-آرجینین مشاهده گردید، ولی نزدیک‌ترین رفتار به ال-آرجینین مربوط به ال-هیستیدین بود. این تشابه ها به-وسیله پاره ای تشابهات مولکولی و بیوشیمیایی توصیف گردید.

مقدمه

مواد آلی بخش سطحی خاک‌های معدنی معمولاً بین ۰/۵ تا ۵ درصد وزنی می‌باشد. درخاک‌های آلی ممکن است تمام خاک از مواد آلی تشکیل شده باشد. مواد آلی خاک از نظر پیشرفت فرآیند تجزیه و نیز سرعت تجزیه به مواد هوموسی و غیرهوموسی تقسیم می‌شوند. مواد غیرهوموسی، شامل مواد تجزیه نشده و یا تا حدی تجزیه شده هستند. این مواد در برگیرنده کربوهیدرات‌ها، ترکیبات وابسته به پروتئین‌ها و مشتقات آن‌ها، چربی‌ها، لیگنین‌ها و تانن‌ها و برخی فرآورده‌ها با پوسیدگی کم می‌باشند. ترکیبات حاصل از تجزیه مواد غیرهوموسی در اثر فعالیت‌های آنزیمی و شیمیایی به پلیمرهای کلوئیدی

جدیدی به نام هوموس تبدیل می‌شوند. مواد آلی خاک از بافت‌ها و ترشحات گیاهی و لاشه‌ها و فضولات جانوری و تولیدات میکروبی در خاک تولید می‌شود. حدود ۶۰ تا ۹۰ بقایای گیاهی از آب و بقیه آن، وزن خشک است. زمانی که بقایای گیاهی به خاک اضافه می‌شوند، ترکیبات مختلف بقایای گیاهی با سرعت‌های متفاوت در معرض تجزیه قرار می‌گیرند. تجزیه قندها، نشاسته و پروتئین معمولاً سریعتر و تجزیه لیگنین، چربی و سلولز معمولاً کندتر تجزیه می‌شوند (۴).

پروتئین یکی از اجزای تشکیل‌دهنده سلول‌های زنده است. وزن مولکولی پروتئین‌ها بسیار زیاد بوده و از پنج هزار تا یک میلیون دالتون یا حتی بیشتر تغییر می‌کند (۱۸). پروتئین از یک یا چند زنجیره پلی پپتیدی تشکیل شده، که هر یک از این زنجیره‌ها شامل تعداد زیادی آمینواسید است که به وسیله پیوندهای پپتیدی به هم متصل شده‌اند. پیوند پپتیدی در ساختار پروتئین‌ها از ترکیب عامل کربوکسیل یک آمینواسید و گروه آمین آمینواسید دیگر، با از دست دادن یک مولکول آب، به وجود می‌آید (۲۱). همه پروتئین‌ها صرف نظر از عمل یا منشأ آن‌ها از ۲۰ نوع آمینواسید ساخته شده‌اند که با توالی‌های ویژه و گوناگون کنار هم قرار گرفته‌اند. معدنی شدن پروتئین‌ها در دو مرحله متوالی به نام‌های آمینیزاسیون و آمونیفیکاسیون انجام می‌گیرد (۲ و ۷).

آمینواسیدها در خاک به عنوان منبع انرژی و نیتروژن برای میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شوند. بعد از جذب به داخل سلول، آمینواسید می‌تواند به صورت مستقیم و غیرمستقیم در سنتز دیواره سلولی، سنتز پروتئین و یا در فرآیند تنفس شرکت نموده و به صورت CO_2 آزاد شود (۵ و ۲۰). این‌که آمینواسیدها به عنوان منبع انرژی، کربن و یا نیتروژن مورد استفاده قرار بگیرند و یا به صورت واحد سازنده پروتئین جدید باقی بمانند به گروهی از فرآیندهای متابولیکی پیچیده بستگی دارد. چنانچه کربن کربوهیدرات‌ها برای تأمین انرژی و ساخت توده زنده استفاده شود، میکروارگانیسم‌ها آمینواسیدهای جذب شده را صرفاً جهت سنتز پروتئین استفاده نموده و اغلب نیازی به ساخت آمینواسید تازه نخواهد بود

خلیل و همکاران[1] (۱۳) در بررسی اثر آمینواسیدها و عناصر غذایی کم نیاز برای رشد گیاه به این نتیجه رسیدند که گیاهان به آمینواسید جهت رشد، انجام عمل فتوسنتز، تنفس و تکامل بافت‌های مریستمی نیاز دارند که اگر در طول رشد گیاه آمینواسیدهای مورد نیاز آن تأمین شود، عملکرد گیاه فزونی می‌یابد. این پژوهشگران بیان کردند که آمینواسیدها نقش کلات را برای عناصر کم نیاز در گیاه بازی می‌کنند، بنابراین اگر آمینواسیدها همراه با عناصر کم نیاز به گیاه عرضه گردد، قابلیت جذب عناصر کم نیاز افزایش می یابد (۱۳).

بیش از ۹۵٪ از نیتروژن آلی خاک به صورت ترکیب با مواد آلی است و بین ۲۰ تا۴۰٪ از این مقدار نیتروژن را آمینواسیدها تشکیل می‌دهند (۲۱). آمینواسیدها حدود ۱-۰/۱٪ از وزن خشک گیاه را تشکیل می‌دهند (۸). بنابراین آمینواسیدها یکی از مهم‌ترین منابع نیتروژن آلی محلول در خاک هستند، به طوری که غلظت آمینواسیدها در محلول خاک ۰/۱ تا ۵۰ میلی‌مولار است، اما نقش حساس و مهم آن‌ها در چرخه نیتروژن، نسبت به اشکال معدنی نیتروژن (آمونیوم و نیترات)، کمتر مورد توجه قرار گرفته است (۲۵). معدنی شدن آمینواسید در خاک، نسبت به سایر ترکیباتی که به عنوان سوبسترا استفاده می‌شود، مانند سلولز و لیگنین سریع‌تر است (۹ و۲۳). به طور کلی ۰/۰۴ درصد از وزن کل خاک‌های معدنی و ۰/۵ درصد از وزن کل افق‌های آلی خاک را آمینواسیدها تشکیل می‌دهند (۳ و ۱۰).

آمینواسیدهای خاک از تجزیه بقایای گیاهان، حیوانات، میکروارگانیسم‌ها، کودهای حیوانی و ترشحات ریشه گیاه در خاک حاصل شده‌اند (۲۱). از آن‌جا که پروتئین‌ها۴۰-۲۰ درصد و آمینواسیدها ۱-۰/۱ درصد وزن خشک گیاهان را شامل می‌شوند، مهم‌ترین

1- Khalil *et al.*

منبع ورودی آمینواسیدها در اغلب اکوسیستم‌ها، از بین رفتن ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاهان است. غلظت آمینواسیدها در سلول‌های ریشه گیاه نسبت به قسمت‌های دیگر گیاه خیلی بیشتر است، بنابراین پس از مرگ سلول‌های ریشه در محیط ریزوسفر، غلظت آمینواسیدها در محیط ریزوسفر نسبت به خاک غیرریزوسفری بیشتر خواهد بود. مرگ جانوران خاک مانند کرم خاکی نیز به دلیل غنی بودن بدنشان از انواع پروتئین باعث افزایش مقدار آمینواسیدها در خاک می‌شود (۱۱). ریو و همکاران[1] (۱۶) با بررسی آمینواسیدهای آزاد داخل توده زنده میکروبی خاک‌هایی که موادآلی به آن‌ها اضافه شده است به این نتیجه رسیدند که مقدار پروتئین جامعه میکروبی خیلی بیشتر از جامعه گیاهی است. بنابراین آمینواسیدهایی که توسط میکروب‌ها به خاک وارد می‌شوند نسبت به آمینواسیدهایی که در اثر تجزیه بقایای گیاهان به خاک اضافه می‌شوند، نقش مهم‌تری را در چرخه نیتروژن و کربن در خاک دارند (۱۵ و۲۴).

فرآیند تجزیه آمینواسیدها در خاک یک فرآیند بیولوژیکی است که توسط میکروارگانیسم‌های خاک انجام می‌گیرد. بنابراین هر عاملی که بر رشد و عملکرد میکروارگانیسم‌های خاک تأثیر بگذارد، می‌تواند بر تجزیه آمینواسیدها در خاک نیز مؤثر باشد، به طوری که با استریل کردن خاک و از بین بردن جمعیت میکروبی، معدنی شدن آمینواسیدها انجام نمی‌گیرد (۱۱). جونز و هاج (۸) به این نتیجه رسیدند که تجزیه آمینواسیدها اغلب تنها ماهیت بیولوژیک دارد. وقتی آمینواسیدها در خاک تجزیه می‌شود زنجیره کربنی آن‌ها تجزیه و کربن آن‌ها به صورت CO_2 آزاد می‌گردد. همچنین در اثر هیدرولیز گروه آمینی موجود برروی کربن نامتقارن و یا گروه آمینی موجود در گروه R ، نیتروژن نیز به صورت NH_4^+ آزاد می‌شود (۲۳). این مطلب نشان می‌دهد که آمینواسیدها تأمین‌کننده کربن و نیتروژن قابل جذب جهت تولید انرژی برای میکروارگانیسم‌ها می‌باشند که با اندازه‌گیری مقادیرآزاد شده CO_2 یا NH_4^+ طی تجزیه آمینواسیدها می‌توان سرعت و میزان تجزیه آن‌ها را در خاک‌ها بررسی کرد (۱).

معدنی شدن نیتروژن از منبع مواد آلی نیتروژن‌دار خاک مانند نوکلیوتیدها، قندهای آمین‌دار دیواره سلولی مانند ان استیل گلوکز آمین و ان استیل مورامیک اسید و همچنین آمینواسیدهای آزاد و یا حاصل از هیدرولیز پروتئین‌ها، باعث آزاد شدن NH_4^+ می‌شود. به طور معمول دامنه تولید NH_4^+ در حدود ۲۰-۱ میلی گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک در روز است (۲۳)، بنابراین با توجه به اهمیت آمینواسیدها به عنوان منبع مهم تأمین کننده کربن و نیتروژن برای میکروارگانیسم‌های خاک و منبع تأمین کننده نیتروژن گیاهان، بررسی سرعت معدنی شدن نیتروژن از این منابع ضروری است. تفاوت رفتارهای تجزیه‌ای آمینواسیدهای مهم کمتر مورد توجه قرار گرفته است به علاوه تجزیه و آمونیفیکاسیون این ترکیبات در خاکهای آهکی مطالعه نشده است، لذا این تحقیق با هدف بررسی روند زمانی معدنی شدن نیتروژن و غلظت آمینو اسید بر سرعت معدنی شدن نیتروژن، در دو خاک آهکی تیمار شده با برخی آمینواسیدها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها :

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌های خاک

نمونه‌های خاک از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری از دو مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در شرودان و لورک تهیه شدند. در هر یک از مزارع، از ۴ مکان مختلف به کمک آگر نمونه‌برداری به عمل آمد. این چهار مکان در داخل یک کرت به ابعاد ۶×۲۵ متری و در فاصله‌ای تقریباً مساوی از یکدیگر انتخاب شدند. در هر مکان ۱۰ نمونه به وسیله آگر برداشت گردید، به گونه‌ای که این ۱۰ نمونه در دایره‌ای به قطر ۲ متر قرار داشتند. با اختلاط نمونه‌های هر یک از مکان‌ها، یک

1- Reeve *et al.*

نمونه مرکب حاصل گردید. نمونه‌های خاک پس از هوا خشک شدن از الک ۲ میلی متری عبور داده شد و در ظروف پلاستیکی درب بسته نگه‌داری شدند.

اندازه‌گیری خصوصیات خاک

بافت خاک به روش هیدرومتر تعیین شد (۶). مقادیر pH خاک در سوسپانسیون ۱به ۲/۵ با استفاده از pH متر مدل متراهم، اندازه‌گیری شد. جهت تعیین قابلیت هدایت الکتریکی، پس از تهیه عصاره اشباع قابلیت هدایت الکتریکی درعصاره صاف شده با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج متراهم مدل ۶۶۴، تعیین شد (۱۷). کربنات کلسیم معادل خاک به روش تیتراسیون برگشتی با اسید کلریدریک ۲ نرمال اندازه‌گیری گردید (۳).

اندازه‌گیری معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های تیمار شده با آمینواسید

بررسی اثر نوع آمینواسید بر روند زمانی معدنی‌شدن نیتروژن

بدین منظور ۵۰ گرم از هریک از خاک‌های مورد مطالعه به طور جداگانه با ۵ میلی‌لیتراز غلظت ۵۰ میلی‌مولار هریک از آمینواسیدها (ال–گلوتامین، ال–آسپاراجین، ال–هیستیدین، ال–آرجینین و گلیسین) مخلوط گردید، لذا هر تیمار شامل افزودن تنها یک نوع آمینواسید در خاک بود. پس از آن مقدار آب مقطر لازم جهت افزایش رطوبت خاک تا ۵۰ درصد ظرفیت نگه‌داری آب، به تدریج بر روی مخلوط خاک و آمینواسید اسپری شد و مخلوط به خوبی توسط کاردک زیر و رو گردید تا رطوبت به طور یکنواخت در خاک توزیع شود. سپس خاک‌های مرطوب در قوطی‌های پلی اتیلن با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر که قبلاً در کف آن‌ها تعدادی سوراخ کوچک جهت تسهیل تهویه ایجاد شده بود، ریخته شد و به منظور تنظیم رطوبت در طول دوره انکوباسیون توزین گردید. دهانه آن‌ها به وسیله درپوشی جهت کاهش تبخیر از سطح مسدود و جهت تأمین تهویه مناسب و تسهیل تبادلات گازی، بر روی درپوش قوطی‌ها چندین سوراخ ریز ایجاد شد. پس از آن، تمام نمونه‌ها همراه با تیمار شاهد (در تیمار شاهد به جای آمینواسید از آب مقطر استفاده شده است) به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردیدند و در طول این دوره مقدار نیتروژن معدنی در زمان‌های ۰، ۵ ، ۱۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از شروع انکوباسیون اندازه‌گیری شد. این زمان‌ها بر اساس آزمایش‌های مقدماتی به منظور تعیین بازه زمانی بهینه انتخاب گردید. در پایان هر یک از زمان‌های نمونه برداری ، رطوبت از دست رفته اندازه گیری و با افزودن آب مقطر، تأمین گردید. پس از پایان دوره انکوباسیون، نیتروژن معدنی قابل عصاره‌گیری با KCl ۲ مولار با استفاده از روش کینی و نلسون [1] (۱۲) با دستگاه تقطیر با بخار آب، اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۵ گرم خاک مربوط به هر یک از تیمارها، با۵۰ میلی‌لیتر KCl ۲ مولار به مدت یک ساعت تکان داده شده و پس از صاف کردن به کمک کاغذ صافی واتمن ۴۲، مجموع مقدار آمونیوم و نیترات نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید. در فاصله عصاره‌گیری و اندازه‌گیری، عصاره‌ها در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

بررسی اثر غلظت بر روی معدنی‌شدن نیتروژن

بدین منظور ۵۰ گرم از خاک‌های مورد مطالعه با ۶ غلظت (۰، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۱۰۰ میلی‌مولار) از ۵ آمینواسید (ال–گلوتامین، ال–آسپاراجین، ال–هیستیدین، ال–آرجینین، گلیسین) به طور جداگانه مخلوط گردیدند (غلظت صفر تیمار شاهد است که به جای آمینواسید در آن از آب مقطر استفاده شده است). پس از آن، مقدار آب مقطر لازم جهت افزایش رطوبت خاک تا ۵۰ درصد ظرفیت نگه‌داری آب، به تدریج بر روی مخلوط خاک و آمینواسیدها اسپری گردید و مشابه با آنچه در بخش ۳-۱ توضیح داده شد انکوباسیون و در پایان نیتروژن معدنی تولید شده اندازه گیری گردید.

1- Keeney and Nelson

نتایج و بحث :

خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه

برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. بافت خاک لورک لوم رسی و خاک شرودان رسی می‌باشد که هر دو خاک در محدوده خاک های سنگین قرار می‌گیرند. مقدار کربن آلی و نیتروژن کل در خاک شرودان تقریباً ۱/۵ برابر مقادیر آن در خاک لورک می باشد.

معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های تیمار شده با آمینواسید

اثر نوع آمینواسیدها بر روند زمانی معدنی شدن نیتروژن

در این مرحله برای بررسی روند زمانی معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های تیمار شده با هر یک از آمینواسید، محلول ۵۰ میلی‌مولاری از آن آمینواسید تهیه و سپس ۵ میلی‌لیتر از آن روی خاک‌ها افشانده و به مدت (۰، ۵، ۱۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) نمونه‌ها انکوباسیون و بعد از هر زمان مقدار معدنی شدن نیتروژن محاسبه شد. شکل-های (**a** و b ۱). روند معدنی شدن نیتروژن را در زمان‌های مختلف در خاک‌های لورک و شرودان نشان می‌دهند. در هر دو خاک، الگوی تغییرات زمانی معدنی شدن نیتروژن وابسته به نوع آمینواسید می‌باشد. مقادیر pH هردو خاک در محدوده خاک‌های آهکی است و از نظر شوری هر دو خاک در محدوده خاک‌های غیر شور قرار می‌گیرند (۲۲). درخاک لورک (**a** ۱) بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاد و با افزایش زمان کاهش یافت. در این خاک بیشترین میزان معدنی شدن نیتروژن در ۲۴ ساعت، مقدار ۳۴۰/۴۱ میلی‌گرم نیتروژن در کی‌لوگرم خاک بوده که مربوط به تیمار ال–آسپاراجین و کم‌ترین معدنی شدن نیتروژن ۲۵۹/۱۸ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک مربوط به تیمار ال–هیستیدین است.

در خاک شرودان هم مانند خاک لورک بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها در مدت زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاده است، با این تفاوت که شدت کاهش غلظت نیتروژن معدنی پس از زمان ۲۴ ساعت کمتر بوده و چنین به نظر می‌رسد که تقریباً ثابت شده است. بیشترین

جدول (۱) برخی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد مطالعه
Table (1) Physical and chemical characteristics of the studied soils

خاک (Soil)	شن (Sand) ($g\ kg^{-1}$)	سیلت (Silt) ($g\ kg^{-1}$)	رس (Clay) ($g\ kg^{-1}$)	بافت (Texture)	کربن آلی (Organic carbon) ($g\ kg^{-1}$)	شوری (EC_e) (dSm^{-1})	pH	نیتروژن کل (Total Nitrogen) ($g\ kg^{-1}$)	معادل کربنات کلسیم (CCE) ($g\ kg^{-1}$)
لورک Lavark	134	501	365	لوم رسی Clay loam	10.7	2.2	7.7	1.1	572
شرودان Shervedan	60	365	575	رسی Clay	15.8	3.8	8.4	1.7	631

pH در عصاره ۲/۵: ۱ و EC_e در عصاره اشباع اندازه‌گیری شد.

معدنی شدن نیتروژن در خاک شرودان ۳۳۴/۱۵ میلی‌گرم نیتروژن به کیلوگرم خاک مربوط به تیمار ال–آرجینین و کم‌ترین معدنی شدن نیتروژن ۱۲۶/۲۳ مربوط به تیمار ال–آسپاراجین است (شکل b ۱).

افزایش غلظت نیتروژن معدنی در ساعت‌های نخست پس از تیمار نمودن خاک با آمینواسید حاصل انجام فرآیند آمونیفیکاسیون درون سلولی آمینواسیدها در خاک است. چنین اظهار گردیده که در ۴ تا ۶ ساعت نخست، جمعیت میکروبی افزایش نیافته تنها فعالیت آن‌ها فزونی می یابد. لیکن در ساعت‌های پس آن، افزایش جمعیت میکروبی نیز منجر به افزایش سرعت آمونیفیکاسیون آمینواسیدها شده و در نتیجه بر آزاد سازی نیتروژن معدنی از سلول‌های میکروبی می افزاید.چنان که پس از ۹ روز، آمینواسید افزوده شده به خاک تقریباً به طور کامل مصرف می‌گردد (۱۹). این پژوهشگران سعی نمودند به کمک شاخص‌های کمی بین نوع آمینواسید و رفتار زمانی آن پس از ورود به خاک ارتباط برقرار نمایند، ولی با وجود علیرغم وجود ضرایب همبستگی مثبت بین سرعت آمونیفیکاسیون و وزن مولکولی یا نسبت کربن به نیتروژن آن‌ها، این ضرایب معنی دار نبود، لذا نتیجه‌گیری نمودند که برای مقایسه آمینو اسیدها ،نسبت کربن به نیتروژن آن‌ها شاخص ضعیفی برای پیش بینی تفاوت سرعت روند معدنی شدن است.

اثر غلظت آمینواسیدها بر معدنی شدن نیتروژن

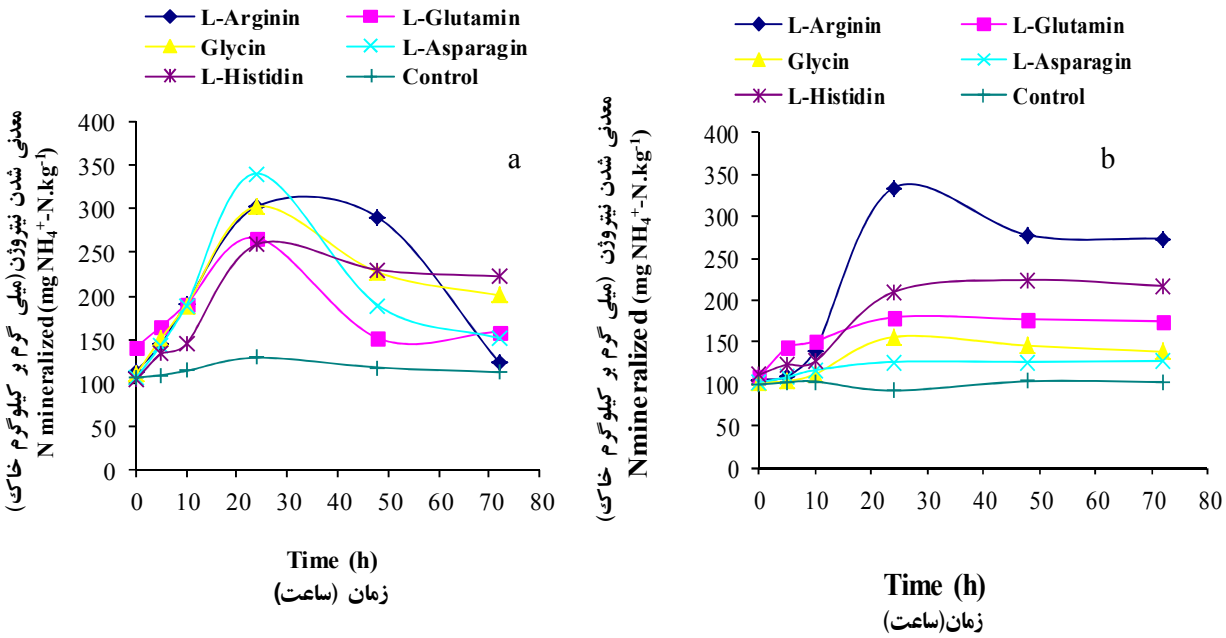
دامنه غلظت ۰ تا ۱۰۰ میلی مولار آمینواسید مورد بررسی قرار گرفت. انتخاب این دامنه غلظت آمینواسید، بر اساس تشابه آن باغلظت‌های طبیعی است که از سلول‌های ریشه به محیط ریزوسفر ترشح می‌شود. بدین منظور ۵۰ گرم از هر دو خاک با ۵ میلی لیتر از محلول آمینواسید با غلظت‌های ۰، ۱۰، ۲۰،۴۰، ۶۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تیمار گردید. نظر به این که یافته‌های بخش ۲-۱ نشان می‌دهند که در زمان ۲۴ ساعت حداکثر معدنی شدن نیتروژن رخ می‌دهد، برای بررسی اثر غلظت آمینو اسید، زمان انکوباسیون برای تمام آمینواسیدها ۲۴ ساعت در نظر گرفته شد. یافته‌ها نشان می‌دهند که در هر دو خاک تولید نیتروژن معدنی متناسب با افزودن غلظت آمینواسید افزوده شده به خاک بوده است، چنان که در هر دو خاک افزایش غلظت آمینواسید باعث افزایش سرعت معدنی شدن نیتروژن شده است (شکل **a** و b ۲). این روند جز در مورد ال–هیستیدین در تمام محدوده ۰ تا ۱۰۰ میلی مولار آمینواسید ها رخ داده و تنها در مورد ال–هیستیدین در غلظت ۶۰ میلی مولار به حداکثر رسیده و پس از آن تا غلظت ۱۰۰ میلی مولار تغییری نداشته است، با وجود این تفاوت ال–هیستیدین با سایر آمینواسیدها، مقدار نیتروژن معدنی تولید شده از این آمینواسید تشابه زیادی به مقادیر تولید شده در خاک تیمار شده با ال–آرجینین دارد، لذا مقادیر نیتروژن معدنی حاصل از آمونیفیکاسیون ال–آرجینین و ال–هیستیدین بسیار نزدیک بوده و بویژه در غلظت‌های بیش از ۵۰ میلی مولار بسیار بیشتر از نیتروژن معدنی حاصل از سایر آمینواسیدها می‌باشند (شکل **a** و b ۲). تشابه رفتاری این دو آمینواسید با برخی دیگر از تشابهات آن‌ها قابل تفسیر است. چنان که هردو آن‌ها جزو آمینواسیدهای بازی بوده که گروه R آن‌ها در pH برابر با ۶ دارای بار مثبت است، در حالی که سایر آمینواسیدهای مورد استفاده در این تحقیق در گروه آمینواسیدهای دارای گروه R قطبی و بدون بار می‌باشند. ضمناً وزن مولکولی ال–آرجینین ۱۷۴ دالتون و ال–هیستیدین ۱۵۵ دالتون می‌باشد که نسبت به سایر آمینواسید-های مورد بررسی در این تحقیق به یکدیگر نزدیک تر است. همچنین تعداد گروه‌های آمینی ال–آرجینین ۴ و این تعداد برای ال–هیستیدین ۳ می‌باشد که در مقایسه با یک گروه آمینی برای گلیسین و ۲ گروه آمینی برای ال–آسپاراجین و ال–گلوتامین، بیشتر بوده است. بنابراین حداقل بخشی از فزونی نیتروژن معدنی تولید شده در خاک‌های تیمار شده با ال–آرجینین و ال–هیستیدین را می‌توان به فزونی گروه‌های آمینی و تشابهات مولکولی آن‌ها نسبت داد، لیکن انتساب این مقادیر به نسبت کربن و نیتروژن ممکن نشد. رابرتس و همکاران (۱۹) نیز به طور مشابه امکان پیش بینی آمونیفیکاسیون نیتروژن در خاکهای تیمار

شده با آمینواسید را از روی نسبت کربن به نیتروژن آمینواسید، تخمینی ضعیف و غیر دقیق دانستند(۱۹).

آمونیفیکاسیون ال–آرجینین به عنوان تخمین نسبتاً دقیقی از اندازه توده زنده میکروبی تلقی شده است (۱۴). اظهار گردیده که این آمینواسید در انتهای مسیر بیوسنتز نیتروژن سلول‌های میکروبی قرار دارد، لذا نیاز جمعیت‌های میکروبی به این آمینواسید بسیار اندک است. به همین دلیل و با توجه به نیاز شدید جمعیت‌های میکروبی به سایر آمینواسیدها، این آمینواسید از طریق چهار مسیر کاتالیتیک آنزیمی تجزیه می گردد. این مسیرها عبارتند از ۱-آرجینین-اوره آمیدولیاز ۲-آرجینین ترانسمیدیناز ۳-آرجینین ترانس دی ایمیناز و ۴- آرجینین دکربوکسیلاز. بجز مسیر سوم در پایان دیگر مسیرهای کاتالیتیکی، آمونیوم به عنوان محصول تولید می‌شود.

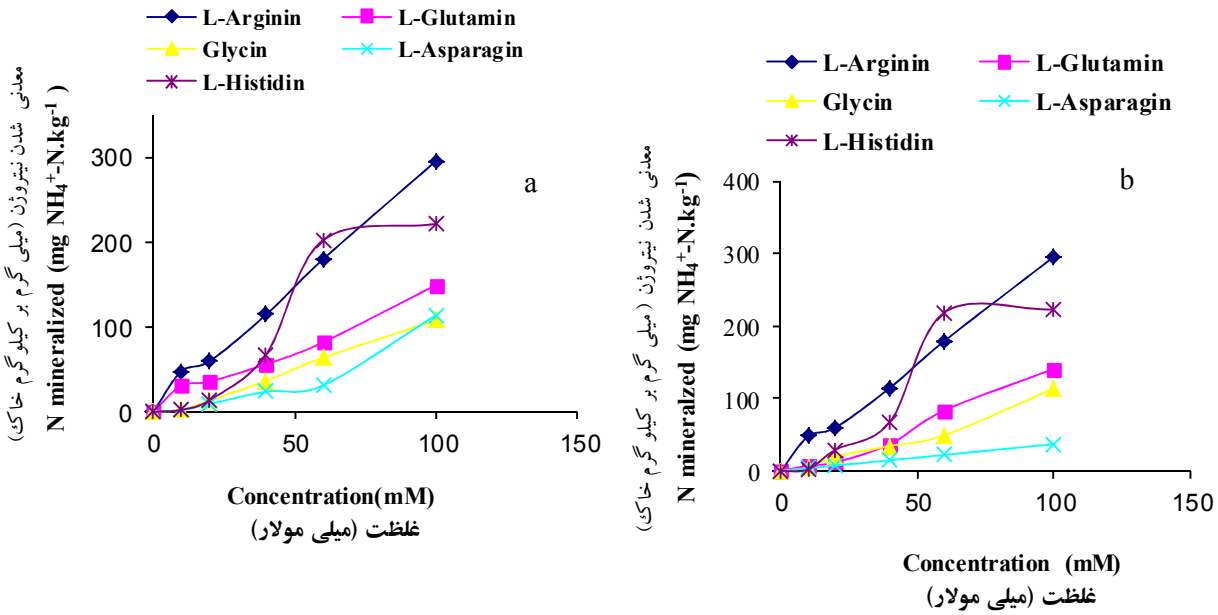
اگر چه سلول‌های میکروبی به منظور استفاده از آمونیوم تولیدی برای سنتز سایر آمینو اسیدها اقدام به آمونیفیکاسیون ال–آرجینین می‌نمایند، ولی بخشی از آمونیوم تولیدی از طریق غشای سلولی میکروب‌ها خارج شده و در خاک از طریق عصاره‌گیری تعیین نیتروژن معدنی قابل اندازه گیری می‌شود (۸)، لذا استنباط عمومی از بیوشیمی ال–آرجینین در سلول های میکروبی خاک آن است که این آمینو اسید کمتر در ساخت پپتیدها به کار رفته و غالباً به سایر آمینواسیدها تغییر می‌یابد. در این رهگذر بخشی از آمونیوم تولیدی به محیط خاک راه می‌یابد.

شدت تولید آمونیوم حاصل از آمونیفیکاسیون ال–آرجینین به اندازه و فعالیت جمعیت‌های میکروبی نسبت داده شده است. (۱۲). گزارشی از آمونیفیکاسیون ال–هیستیدین درمحیط خاک در منابع منتشر شده رویت نگردید. تشابه رفتاری ال–هیستیدین با ال–آرجینین می‌تواند دستمایه پژوهش‌های آتی در این زمینه قرار گیرد. اساساً این فرضیه که می‌توان برای سنجش و تخمین اندازه توده زنده میکروبی خاک به جای آمونیفیکاسیون ال–آرجینین از ال–هیستیدین نیز استفاده نمود، فرضیه ای درخور تأمل بوده و ضرورت دارد بررسی گردد.



شکل (۱) نمودار معدنی شدن نیتروژن در زمان‌های مختلف برای آمینواسیدها در خاک لورک(a)و شروودان(b)

Figure (1) Diagram of nitrogen mineralization of amino acids in Various Times in soil Lavark (a) and Shervedan (b)



شکل (۲) نمودار معدنی شدن نیتروژن در غلظت‌های مختلف برای آمینواسیدها در خاک لورک(a) و شرودان(b)

Figure (2) Diagram of nitrogen mineralization of amino acids in Various Concentrations in soil Lavark (a) and Shervedan (b)

نتیجه گیری

یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهند که:

افزودن آمینواسید به خاک بلا فاصله پس از افزودن در مدت زمانی بسیار کوتاه باعث افزایش معدنی شدن نیتروژن در خاک‌ها می‌گردد. بیشترین معدنی شدن نیتروژن برای تمام تیمارها (آمینواسیدها) در مدت زمان ۲۴ ساعت اتفاق افتاده است و با افزایش زمان بعد از ۲۴ ساعت، معدنی شدن نیتروژن کاهش و یا ثابت شده است. بررسی اثر غلظت برسرعت معدنی شدن نیتروژن از آمینواسیدهای مختلف نشان می‌دهد ال–هیستیدین در غلظت ۶۰ میلی مولار به سرعت حداکثر می‌رسد حال آن‌که سایر آمینواسیدها تا مرز ۱۰۰ میلی مولار نیز باعث افزایش سرعت معدنی شدن گردیدند، با این حال مقدار نیتروژن معدنی حاصل از ال–هیستیدین و ال–آرجینین بسیار نزدیک است. تفاوت‌های رفتاری ال-آرجینین با سایر آمینواسیدها مربوط به صفات مولکولی و بیوشیمی این آمینواسید بوده و از بین آمینواسیدهای مورد بررسی ال–هیستیدین بیشترین تشابه را با آن دارد.

منابع

1. Anderson, J.P.E. and Domsch, K.H. 1975. Measurement of bacterial and fungal contributions to respiration of selected agricultural and forest soils. Canadian Journal of Microbiology, 21: 314-332.

2. Barrett, J.E. and Burke, I.C. 2000. Potential nitrogen immobilization in grassland soils across a soil organic matter gradient. Soil Biology and Biochemistry, 32: 1707-1716.

3. Baruah, T.C. and Barthakur, H.P. 1998. A Textbook of Soil Analysis. Vikas publishing House, PVTLTD., New Delhi.

4. Bohn, H.L., Mcneal, B.L., and Oconnor, G.A. 2001. Soil Chemistry, 3th ed., John Wiley and Sons, INC., USA.

5. Burkovski, A. and Kramer, R. 2004. Bacterial amino acid transport proteins occurrence functions and significance for biotechnological Applications. Applied Microbiology and Biotechnology, 58: 265–274.

6. Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle-size Analysis. PP. 383-411. In: A. Klute (Ed.), Methods of Soil Analysis, Part 1. American Society of Agronomy Madison. Wisconsin., USA.

7. Jan, M.T., Roberts, P., Tonheim, S.K., and Jones, D.L. 2009. Protein breakdown represents a major bottleneck in nitrogen cycling in grassland soils. Soil Biology and Biochemistry, 41: 2272-2282.

8. Jones, D.L. and Hodge, A. 1999. Biodegradation kinetics and sorption reactions of three differently charged amino acids in soil and their effects on plant organic nitrogen availability. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1331-1342.

9. Jones, D.L., Kemmitt, S.J., Wright, D., Cuttle, S.P., Bol, R., and Edwards, A.C. 2005. Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. Soil Biology and Biochemistry, 37: 1267-1275.

10. Jones, D.L., Owen, A.G., and Farrar, J.F. 2002. Simple method to enable the high resolution determination of total free amino acids in soil solutions and soil extracts. Soil Biology and Biochemistry, 34: 1893-1902.

11. Jones, D.L. and Shannon, D. 1999. Mineralization of amino acids applied to soils: impact of soil sieving, storage, and inorganic nitrogen additions. Soil Science Society of America Journal, 63: 1199-1206.

12. Keeney, D.R. and Nelson, D.W. 1982. Nitrogen-inorganic forms. PP. 634-698. In: A. L. Page, R. H. Miller and D. R. Keeney (eds.), Method of Soil Analysis. Part II. American Society of Agronomy Madison. Wisconsin., USA.

13. Khalil, A.A., Osman, E.A. M., and Zahran, F.A.F. 2008. Effect of amino acids and micronutrients foliar application on growth, yield and its components and chemical characteristics. Mansoura University Journal of Agricultural, 33: 3143-3150.

14. Lin, Q. and Brooks, P.C. 1999. Arginine ammonification as a method to estimate soil microbial biomass and microbial community structure. Soil Biology and Biochemistry, 31: 1985-1997.

15. Owen, A.G. and Jones, D.L. 2001. Competition for amino acids between wheat roots and rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. Soil Biology and Biochemistry, 33: 651–657.

16. Reeve, J.R., Smith, J.L., Carpenter-Boggs, L., and Reganold, J.P. 2008. Soil-based cycling and differential uptake of amino acids by three species of strawberry (Fragaria spp.) plants. Soil Biology and Biochemistry, 40: 2547-2552.

17. Rhoads, J.D. 1982. Soluble Salts. PP. 167-169. In: A. L. Page et al (Eds.), Methods of Soil Analysis, Part2. American Society of Agronomy. Madison. Wisconsin.,USA

18. Roberts, P. and Jones, D.L. 2008. Critical evaluation of methods for determining total protein in soil solution. Soil Biology and Biochemistry, 40: 1485-1495.

19. Roberts, P., Stockdale, R., Khalid, M., Iqbal, Z., and Jones, D.L. 2009. Carbon-to-nitrogen ratio is a poor predictor of low molecular weight organic nitrogen mineralization in soil. Soil Biology and Biochemistry, 41: 1750-1752.

20. Rovira, P., Kurz-Besson, C., Hernandez, P., Couteaux, M.M., and Vallejo, V.R. 2008. Searching for an indicator of N evolution during organic matter decomposition based on amino acids behaviour: a study on litter layers of pine forests. Plant and Soil, 307: 149-166.

21. Senwo, Z.N. and Tabatabai, M.A. 1998. Amino acid composition of soil arganic matter. Biology and Fertility of Soils, 26: 235- 242.

22. Siyal, A.A.A.G. and Abro, Z.A. 2002. Salt affected soils their identification and reclamation. Pakistan Journal of Applied Sciences, 2: 537-540.

23. Tate, R.L. 2000. Soil Microbiology. John Wiley and Sons, New York, USA.

24. Wright, D.E. 1962. Amino acid uptake by plant roots. Archives of biochemistry and biophysics, 97: 174-180.

25. Yu, Z., Zhang, Q., Kraus, T.E.C., Dahlgren, R.A., Anastasio, C., and Zasoski, R.J. 2002. Contribution of amino compounds to dissolved organic nitrogen in forest soils. Biogeochemistry, 61: 173–198.