



Biogeochemical Responses of Soil Organic Carbon and Enzymatic Activity to Elevation and Depth: Comparing Fixed Depth and Equivalent Soil Mass Approaches

Elham Jozedaemi¹ | Ahmad Golchin^{2✉} | Mehran Misaghi³

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: e.jozedaemi@znu.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: agolchin2011@yahoo.com

3. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran. E-mail: misaghi.mehran@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Soil organic carbon stocks (SOCs) and enzyme activities are key indicators for assessing ecosystem dynamics in mountainous regions. This study examined variations in SOCs and the activity of major enzymes along an altitudinal gradient (0–2400 m) and a depth gradient (0–100 cm) in mountain forests. Two approaches, fixed depth (FD) and equivalent soil mass (ESM), were applied to estimate SOCs. The results showed that SOCs were significantly influenced by altitude, depth, and their interaction ($P \leq 0.001$). SOCs increased with altitude but decreased with depth; the highest and lowest values up to one meter depth were recorded at altitudes of 1800–2400 m and 0–600 m, respectively, representing a 1.14-fold increase in SOCs at higher elevations. Moreover, mean SOCs in deep layers (80–100 cm) showed about a 70% reduction compared with the surface layer (0–20 cm). The ESM method provided greater accuracy than the fixed-depth method ($CV = 2.61\%$ vs. 3.65%). The activities of β-glucosidase, urease, and arylsulfatase increased with altitude but decreased with depth, whereas cellulase, acid phosphatase, and alkaline phosphatase decreased with both factors. In contrast, dehydrogenase (DHA) activity increased with depth and exhibited a negative correlation with SOCs ($r = -0.92$). Additionally, SOCs were strongly correlated with microbial biomass carbon ($r = 0.99$) and enzyme activities ($r \geq 0.82$), while its depth distribution remained consistent across the entire altitudinal gradient. These findings underscore the importance of jointly considering soil depth and altitude in SOC modeling and the sustainable management of mountain ecosystems.
Article history:	
Received: Aug. 2, 2025	
Revised: Aug. 31, 2025	
Accepted: Sep. 22, 2025	
Published online: Dec. 2025	
Keywords: <i>Soil Organic Carbon Stock (SOCs), Soil Depth, Enzyme Activity, Elevation, Mountain Forest</i>	
Cite this article: Jozedaemi, E., Golchin, A., Misaghi, M., (2025) Biogeochemical Responses of Soil Organic Carbon and Enzymatic Activity to Elevation and Depth: Comparing Fixed Depth and Equivalent Soil Mass Approaches, <i>Iranian Journal of Soil and Water Research</i>, 56 (10), 2767-2790. https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.399910.669990 © The Author(s). Publisher: University of Tehran Press. DOI: https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.399910.669990	
	

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Soil Organic Carbon (SOC) is a critical component of terrestrial carbon pools and plays a key role in soil health, productivity, and climate change mitigation. In mountainous forest ecosystems, SOC stocks and related microbial processes are shaped by topographic variations, particularly elevation and soil depth. These factors jointly influence microclimatic conditions, vegetation dynamics, and organic matter decomposition. Enzyme-mediated biogeochemical processes serve as sensitive indicators of soil microbial activity and are tightly linked to carbon cycling. However, the combined effects of elevation and depth on SOC and enzyme activity have not been comprehensively studied, especially using both fixed-depth and equivalent soil mass (ESM) approaches. This study aimed to evaluate SOC stocks and key enzyme activities along an elevation gradient and across soil profiles in a mountainous forest ecosystem.

Methods

The study was conducted in a mountainous forest region covering an elevation range from 0 to 2400 meters above sea level. Soil samples were collected along this gradient using two methods: the conventional fixed-depth method and the Equivalent Soil Mass (ESM) approach, which accounts for differences in soil bulk density to provide more accurate carbon stock estimations. Samples were taken from five soil depth intervals: 0–20 cm, 20–40 cm, 40–60 cm, 60–80 cm, and 80–100 cm. SOC was measured using standard dry combustion methods. Microbial activity was assessed by analyzing the activity of key soil enzymes: β -glucosidase, urease, arylsulfatase, cellulase, acid phosphatase, alkaline phosphatase, and dehydrogenase. Statistical analyses including ANOVA and Pearson correlation were applied to evaluate the effects of elevation and soil depth on SOC stocks and enzyme activities.

Results

SOC stocks were significantly affected by elevation, soil depth, and their interaction ($P \leq 0.001$). Soil depth had the strongest influence, with SOC stocks decreasing by approximately 70% from the surface layer (0–20 cm) to the deepest layer (80–100 cm). In contrast, SOC stocks increased by 1.14 times from the lowest to the highest elevation. The ESM method provided higher sensitivity and accuracy than the fixed-depth method, with a lower coefficient of variation ($CV = 2.61\%$ vs. 3.65%). It was more effective in detecting significant SOC differences across elevation and precipitation gradients. Enzyme activities responded differently to changes in elevation and depth. Activities of β -glucosidase, urease, and arylsulfatase increased significantly with elevation but declined with increasing soil depth. Conversely, cellulase, acid phosphatase, and alkaline phosphatase activities showed a decreasing trend along both elevation and depth gradients. Dehydrogenase activity exhibited an opposite pattern, increasing up to 49 times with depth and showing a strong negative correlation with SOC ($R^2 = 0.83$), suggesting microbial adaptation to carbon-limited conditions in deeper layers. SOC also showed a strong positive correlation with microbial biomass carbon ($r = 0.99$) and enzyme activity ($r \geq 0.82$). Despite the increase in total SOC stocks with elevation, the relative distribution of carbon with soil depth remained consistent. This suggests structural stability in vegetation cover and root distribution across the elevation gradient.

Conclusions

This study highlights the importance of accounting for both elevation and soil depth when assessing SOC dynamics in mountainous forest ecosystems. The Equivalent Soil Mass (ESM) method proved to be a more accurate and sensitive tool for estimating SOC stocks under varying topographic and climatic conditions. The contrasting enzyme activity patterns underscore the complexity of microbial responses to environmental gradients. While SOC stocks increased with elevation, the vertical distribution of carbon remained stable, likely due to consistent vegetation structure. These findings emphasize the need to integrate both vertical and elevational dimensions in carbon modeling and land management strategies, particularly in topographically complex and climate-sensitive regions.

Author Contributions

Elham Jozedaemi: Writing – original draft, Methodology, Formal analysis, Investigation, Resources.

Ahmad Golchin: Writing – review and editing, Supervision, Methodology, Conceptualization, Resources.

Mehran Misaghi: Writing – review and editing, Investigation, Resources, Software, Formal analysis.

Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the University of Zanjan, Zanjan, Iran, for its financial and technical support, which facilitated the completion of this study.

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

پاسخ‌های زیست‌ژئوشیمیایی کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌ها نسبت به تغییرات ارتفاع و عمق: مقایسه روش‌های عمق ثابت و جرم معادل خاک

الهام جزدائی^۱ | احمد گلچین^۲ | مهران میثاقی^۳^۱. گروه مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: e.jozdaemi@znu.ac.ir^۲. نویسنده مسئول، گروه مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: agolchin2011@yahoo.com^۳. گروه مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: misaghi.mehran@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۵/۱۱	ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) و فعالیت آنزیم‌ها از شاخص‌های کلیدی برای ارزیابی پویایی اکوسیستم در مناطق کوهستانی به شمار می‌روند. این پژوهش تغییرات SOCs و فعالیت آنزیم‌های اصلی را در امتداد یک گرادیان ارتفاعی (۲۴۰۰- متر) و عمقی (۱۰۰- سانتی‌متر) در جنگل‌های کوهستانی بررسی کرد. برای برآورد SOCs دو روش عمق ثابت (FD) و جرم معادل خاک (ESM) به کار گرفته شد. نتایج نشان داد که SOCs به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر ارتفاع، عمق و برهم‌کنش آن‌ها قرار دارد (P ≤ 0.001). مقدار SOCs با افزایش ارتفاع افزایش و با افزایش عمق کاهش یافت؛ به‌طوری که بیشترین و کمترین مقادیر آن تا عمق یک متری به ترتیب در ارتفاع ۱۸۰۰-۲۴۰۰ و ۶۰۰-۱۸۰۰ متر ثبت شد که بیانگر افزایش ۱/۱۴ برابری SOCs در ارتفاعات بالاتر بود. همچنین میانگین SOCs در لایه‌های عمقی (۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر) نسبت به لایه سطحی (۲۰-۰ سانتی‌متر) حدود ۷۰٪ کاهش نشان داد. روش ESM دقت بیشتری نسبت به FD داشت (CV = 2.61٪ در مقابل CV = 3.65٪). (فعالیت آنزیم‌های β-گلوکوزیداز، اوره‌از و آریل سولفاتاز با افزایش ارتفاع بیشتر و با عمق کمتر شدند، در حالی که سلولاز، فسفاتاز اسیدی و قلیایی با افزایش هر دو عامل کاهش یافتند. فعالیت دهیدروژناز (DHA) برخلاف دیگر آنزیم‌ها با عمق افزایش داشت و با SOCs همبستگی منفی (r = -0.92) نشان داد. همچنین، SOCs همبستگی قوی با کربن زیست‌توده میکروبی (r = 0.99) و فعالیت آنزیمی (r ≥ 0.82) داشت، در حالی که الگوی عمقی آن در کل گرادیان ارتفاعی ثابت باقی ماند. این نتایج اهمیت در نظر گرفتن هم‌زمان عمق و ارتفاع را در مدل‌سازی SOCs و مدیریت پایدار اکوسیستم‌های کوهستانی برجسته می‌سازد.
واژه‌های کلیدی: ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) عمق خاک، فعالیت آنزیمی، ارتفاع از سطح دریا، جنگل کوهستانی.	

استناد: جزدائی؛ الهام، گلچین؛ احمد، میثاقی؛ مهران، (۱۴۰۴) پاسخ‌های زیست‌ژئوشیمیایی کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌ها نسبت به تغییرات ارتفاع و عمق: مقایسه روش‌های عمق ثابت و جرم معادل خاک، مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۶ (۱۰)، ۲۷۶۷-۲۷۹۰.

<https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.399910.669990>

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2025.399910.669990>

مقدمه

کربن آلی خاک، بزرگ‌ترین مخزن کربن در اکوسیستم‌های زمینی محسوب می‌شود که تقریباً ۱۵۵۰ میلیارد تن کربن را در خود جای داده است؛ رقمی که حدود سه برابر مقدار موجود در پوشش گیاهی و دو برابر مقدار موجود در جو زمین است (Batjes, 2016). این ماده نقش کلیدی در تنظیم اقلیم، حفظ حاصل‌خیزی خاک و پایداری عملکرد اکوسیستم‌ها دارد (Schmidt et al., 2011). با توجه به تغییرات سریع در اقلیم جهانی و کاربری زمین، شناخت سازوکارهایی که کنترل ذخیره‌سازی و تجزیه‌پذیری کربن آلی خاک را برعهده دارند، از اهمیت بالایی برخوردار است (Crowther et al., 2016). در میان عوامل متعدد، عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا از مهم‌ترین و در عین حال کمتر بررسی‌شده‌ترین مؤلفه‌ها به‌شمار می‌روند که شرایط فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک را تحت تأثیر قرار داده و بر مقدار و شکل کربن ورودی، تثبیت و میزان اتلاف آن مؤثر هستند (Wiesmeier et al., 2024).

اغلب ارزیابی‌ها و مطالعات قبلی تمرکز خود را بر لایه‌های سطحی خاک (۳۰- سانتی‌متر) محدود کرده‌اند که این امر می‌تواند منجر به کم‌برآورد شدن مقدار ذخیره کربن آلی (SOCs) شود؛ چرا که بخش قابل توجهی از کربن آلی خاک ممکن است در لایه‌های زیرسطحی تجمع یافته باشد (Rumpel and Kögel-Knabner, 2011; Batjes, 2016). کربن زیرسطحی از نظر ترکیب شیمیایی، اتصال با مواد معدنی و دسترسی برای میکروب‌ها با کربن سطحی تفاوت دارد و معمولاً دارای مدت ماندگاری بیشتری است، هرچند بخشی از آن در بازه‌های زمانی چند دهه همچنان فعال و تحت تأثیر تغییرات محیطی قرار دارد (Mathieu et al., 2015). به‌عنوان مثال، افزایش دما ممکن است موجب تحریک فعالیت‌های میکروبی در عمق شده و سبب آزاد شدن کربن ذخیره‌شده به جو گردد (Davidson and Conant et al., 2011). به همین دلیل، سنجش دقیق مقدار کربن موجود در اعماق خاک و شناخت میزان آسیب‌پذیری آن در برابر تغییرات محیطی برای پیش‌بینی بازخوردهای اقلیمی و طراحی راهبردهای کاهش‌دهنده این اثرات کاملاً ضروری است.

در برآورد SOCها، دو روش متداول شامل روش عمق ثابت (FD) و روش جرم معادل خاک (ESM) به‌کار می‌روند که هر یک نقاط قوت و ضعف خود را دارند. روش FD به‌دلیل سادگی، سرعت و نیاز کمتر به محاسبات پیچیده، روشی رایج برای بررسی توزیع عمقی کربن در خاک است و به‌ویژه در مطالعاتی که هدف اصلی تعیین الگوی عمقی یا مقایسه بین پروفیل‌های هم‌عمق باشد، مناسب است. با این حال، عدم توجه به تغییرات تراکم خاک و سنگریزه‌ها می‌تواند منجر به خطا در تخمین SOCها و به‌ویژه مقایسه بین مناطق با شرایط فیزیکی متفاوت شود. تحلیل‌ها نشان داده‌اند که در صورت کاهش تراکم خاک، روش FD می‌تواند به کم‌برآورد SOCها و در صورت افزایش تراکم، به بیش‌برآورد SOCها منجر شود (Raffeld et al., 2024). روش ESM با در نظر گرفتن جرم ثابت خاک (معمولاً جرم خاک معدنی)، دقت بیشتری در تخمین SOCها فراهم می‌کند و می‌تواند تأثیر تغییرات در چگالی و حجم خاک را تصحیح کرده و امکان مقایسه‌ای قابل اطمینان بین مکان‌هایی با شرایط متفاوت ایجاد نماید. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که روش ESM نسبت به روش FD خطای کمتری در برآورد تغییرات SOCها دارد (Von Haden et al., 2020). برخی پژوهش‌های اخیر حتی بیش از ۱۰۰ درصد اختلاف بین نتایج حاصل از دو روش FD و ESM را گزارش کرده‌اند که عمدتاً ناشی از تفاوت در چگالی خاک بوده است (Raffeld et al., 2024). راهنمای هیئت بین‌الدولی تغییر اقلیم (IPCC) در سطح یک (Tier-1) نیز به‌طور استاندارد استفاده از عمق ۳۰- سانتی‌متر برای محاسبه SOCها را توصیه می‌کند. در این رویکرد، تغییرات SOCها بر اساس جداول مرجع جهانی و ضرایب مدیریتی برآورد می‌شود که عملاً مشابه یک روش FD عمل می‌کند؛ با این تفاوت که از داده‌ها و ضرایب استاندارد برای مقایسه در مقیاس ملی و بین‌المللی استفاده می‌شود (IPCC, 2006). بنابراین می‌توان گفت که روش IPCC در سطح یک (Tier-1) در عمل، حالت ساده‌شده‌ای از FD است که برای گزارش‌دهی سازگار بین کشورها طراحی شده است. انتخاب روش مناسب به هدف مطالعه بستگی دارد؛ اگر هدف بررسی الگوهای عمقی یا پایش تغییرات توزیع کربن در پروفیل خاک باشد، روش FD ساده و عملی است؛ اگر هدف برآورد دقیق SOCها یا مقایسه مکان‌هایی با تفاوت در تراکم خاک باشد، استفاده از روش ESM توصیه می‌شود؛ هرچند ممکن است نمونه‌برداری و محاسبات زمان‌برتر و پیچیده‌تر باشد. در مطالعات ملی و بین‌المللی که گزارش‌دهی سازگار مدنظر است، استفاده از روش سطح یک IPCC (Tier-1) کاربردی و ضروری است.

گرا دیان‌های ارتفاعی ابزار طبیعی مناسبی برای بررسی هم‌زمان تأثیر دما، بارندگی، پوشش گیاهی و تحول خاک بر پویایی کربن آلی در بازه‌های مکانی کوتاه فراهم می‌آورند (Körner, 2007). در مناطق کوهستانی، با هر هزار متر افزایش ارتفاع، دمای متوسط معمولاً حدود ۶ تا ۱۰ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد. این کاهش دما بر فرآیندهایی مانند تجزیه مواد آلی، فعالیت میکروبی و چرخه عناصر غذایی تأثیرگذار است (Barry, 2008). هم‌زمان، تغییر در ترکیب و تراکم پوشش گیاهی باعث تغییر در مقدار و کیفیت کربن ورودی به خاک

می‌شود (Prescott, 2010). در بسیاری از مطالعات، ذخیره‌سازی بیشتر کربن آلی در ارتفاعات بالا گزارش شده که علت آن را به کاهش تجزیه و تجمع بیشتر مواد آلی نسبت داده‌اند (Gutiérrez-Girón et al., 2015; Kong et al., 2022). البته این روند تحت تأثیر عواملی نظیر تغییر پوشش گیاهی، مدت زمان پوشش برف و عمق نفوذ ریشه‌ها نیز قرار می‌گیرد. در نتیجه، پیش‌بینی دقیق واکنش خاک به تغییرات ارتفاعی، به دلیل پیچیدگی و تعامل این عوامل محیطی، کاری دشوار است (Nogués-Bravo et al., 2007).

فعالیت میکروبی خاک—به‌ویژه تولید آنزیم‌های خارج‌سلولی—نقش تعیین‌کننده‌ای در تجزیه مواد آلی و چرخه عناصر غذایی دارد. آنزیم‌هایی نظیر β -گلوکوزیداز، کیتیناز و فسفاتاز در آزادسازی کربن، نیتروژن و فسفر از ترکیبات آلی پیچیده نقش دارند (Sinsabaugh et al., 2009). سطح فعالیت این آنزیم‌ها بیانگر تقاضای غذایی میکروب‌ها و میزان دسترسی آن‌ها به منابع آلی است. بررسی تغییرات فعالیت آنزیمی در امتداد شیب‌های عمقی و ارتفاعی اطلاعات ارزشمندی درباره عملکرد اکولوژیکی بخش زیرسطحی خاک ارائه می‌کند (Stone et al., 2014). همچنین، راندمان استفاده میکروبی از کربن (نسبت تبدیل کربن جذب‌شده به زیست‌توده نسبت به کربن آزادشده به‌صورت دی‌اکسید کربن) از عوامل مهم در تشکیل و پایداری کربن آلی خاک است (Kallenbach et al., 2015). این ویژگی‌ها تحت تأثیر دما، کیفیت ترکیب آلی و ساختار جامعه میکروبی قرار دارند و به‌صورت قابل توجهی در طول شیب‌های ارتفاعی و عمقی تغییر می‌کنند (Li et al., 2020). به‌طور کلی، فعالیت آنزیمی در لایه‌های سطحی خاک بیشتر بوده و با افزایش عمق کاهش می‌یابد؛ علت این امر کاهش زیست‌توده میکروبی و منابع آلی در بخش‌های زیرین خاک است (Stone et al., 2014). در مقابل، تأثیر ارتفاع از سطح دریا بر فعالیت آنزیمی پیچیده‌تر است و ممکن است بر حسب نوع آنزیم و شرایط محیطی تغییر کند. برخی مطالعات افزایش فعالیت آنزیم‌های جذب‌کننده کربن و نیتروژن را در ارتفاعات بالا نشان داده‌اند، در حالی که آنزیم‌های اکسیدکننده ممکن است کاهش یابند (Sinsabaugh et al., 2009). این الگوها نشان می‌دهند که عملکرد میکروبی در طول شیب‌های محیطی حاصل تعاملات پیچیده میان دسترسی به منابع غذایی، صرفه‌جویی انرژی و محدودیت‌های محیطی است.

با وجود رشد تحقیقات در این زمینه، تعداد کمی از مطالعات به‌طور مستقیم به بررسی تأثیر ارتفاع و عمق خاک بر الگوی فعالیت آنزیمی و توزیع SOCها پرداخته‌اند. نبود این اطلاعات امکان پیش‌بینی تغییرات کربن آلی در اکوسیستم‌های کوهستانی را محدود می‌کند؛ اکوسیستم‌هایی که از حساس‌ترین مناطق در برابر تغییرات اقلیمی هستند و نشانه‌هایی اولیه از تحول زیست‌محیطی را ارائه می‌کنند (Ernakovich et al., 2014). اثرات متقابل بین عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا بر عواملی مانند دما، رطوبت، نوع و مقدار کربن ورودی و جامعه میکروبی تأثیرگذار بوده و ممکن است اثرات غیرخطی و پیچیده‌ای ایجاد کند. به‌عنوان نمونه، خاک‌های عمقی ممکن است نوسانات دمایی را بهتر تحمل کنند، در حالی که ارتفاع تغییراتی در ساختار پوشش گیاهی و تنوع میکروبی ایجاد می‌نماید (Fierer and Jackson, 2006). شناخت این تعاملات برای سه هدف اساسی ضروری است: بهبود برآورد ذخایر SOCها در مناظر ناهمگون و متنوع؛ پیش‌بینی واکنش اکوسیستم‌ها به گرمایش جهانی، تغییر الگوی بارندگی و تحول پوشش گیاهی؛ و تدوین راهبردهای پایدار برای مدیریت زمین و افزایش توان ذخیره‌سازی کربن در مناطق مرتفع (Paustian et al., 2016).

در این پژوهش فرض می‌شود که ارتفاع از سطح دریا و عمق خاک به‌طور تعاملی، الگوی ذخیره‌سازی SOCها و فعالیت آنزیمی را در خاک‌های جنگلی شکل می‌دهند، به‌طوری که رفتار آنزیم‌ها در برابر این تغییرات خاص و قابل پیش‌بینی خواهد بود. فرضیات مورد آزمون شامل موارد زیر هستند:

افزایش مقدار SOCها با افزایش ارتفاع و کاهش آن با افزایش عمق، به دلیل تفاوت در شرایط اقلیمی و در نتیجه مقدار کربن ورودی و سرعت تجزیه مواد آلی؛

کاهش فعالیت اغلب آنزیم‌ها با افزایش عمق به دلیل کاهش منابع غذایی، و تغییر میزان فعالیت آن‌ها با تغییر ارتفاع بسته به نوع آنزیم؛

رفتار متفاوت آنزیم‌هایی مانند DHA در عمق‌های پایین‌تر، که ممکن است بیانگر سازگاری میکروب‌ها با شرایط کم کربن باشد. اهداف اختصاصی مطالعه شامل موارد زیر هستند:

اندازه‌گیری میزان SOCها در ارتفاع و عمق‌های مختلف با استفاده از دو روش: FD و ESM؛

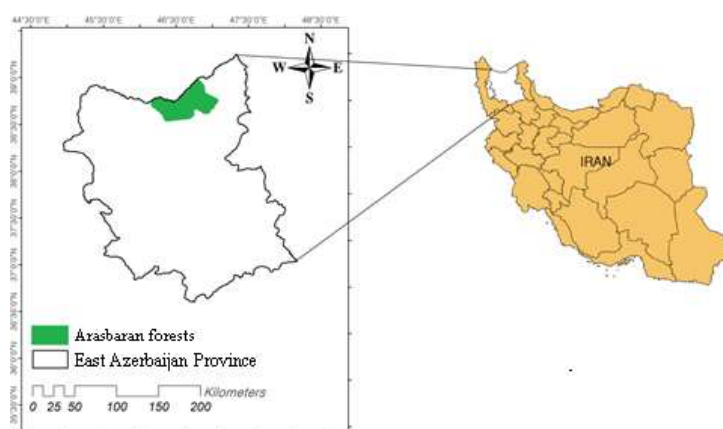
بررسی الگوی فعالیت آنزیم‌های کلیدی در ارتباط با ارتفاع و عمق؛

تحلیل روابط بین SOCها و فعالیت آنزیمی جهت درک دقیق‌تر فرآیندهای زیست‌ژئوشیمیایی خاک.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه

این پژوهش با هدف بررسی اثرات عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا بر میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیمی در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران انجام شد. محل اجرای تحقیق، ایستگاه تحقیقاتی ارسباران در استان آذربایجان شرقی است. حوضه آبریز ارسباران با مساحت ۵۵۸/۲۰۰ هکتار، در محدوده طول‌های جغرافیایی ۴۵ درجه و ۵۱ دقیقه تا ۴۷ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی و عرض‌های جغرافیایی ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه تا ۳۹ درجه و ۲۵ دقیقه شمالی واقع شده است (شکل ۱). خاک‌های منطقه به طور عمده کم‌عمق، سنگلاخی، توسعه‌نیافته و دارای بافت نسبتاً درشت (لوم شنی) هستند. بررسی‌های رده‌بندی خاک نشان می‌دهد که خاک‌های جنگلی و کوهستانی ارسباران در موقعیت‌های مختلف توپوگرافی و شیب عمدتاً به رده‌های انتیسول، اینسپتی‌سول، مولی‌سول و آلفی‌سول تعلق دارند (Rezaei et al., 2017). این ویژگی‌ها بیانگر تأثیر مستقیم عوامل اقلیمی (آب و هوا)، توپوگرافی، سنگ مادر و پوشش گیاهی بر روند تکوین و تحول خاک‌های منطقه ارسباران است. از نظر ترکیب کانی‌شناسی، کانی‌های رسی غالب در این خاک‌ها شامل ایلیت و کائولینیت همراه با مقدار قابل توجهی مونت‌موریلونیت می‌باشند (Gholami, 2019). اقلیم منطقه بر اساس تقسیم‌بندی اقلیمی نیمه‌مرطوب معتدل گزارش شده است (Rezaei et al., 2020) که با بارش‌های نسبتاً کافی و دمای معتدل، شرایط مناسبی را برای رشد و استقرار پوشش گیاهی متنوع فراهم می‌آورد. پوشش گیاهی منطقه در ارتفاعات مختلف شامل گونه‌هایی نظیر بلوط سیاه (*Quercus macranthera*)، بلوط سفید (*Quercus komarovii*)، راش (*Carpinus betulus*)، افرا قرمز (*Acer rubrum*)، سرو کوهی (*Juniperus excelsa*)، کنار مسیح (*Paliurus spina-christi*)، نارون کوهی (*Ulmus glabra*) و سرو معمولی (*Juniperus communis*) است.



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه در ایران.

نمونه‌برداری و آماده‌سازی نمونه‌ها

در ابتدا چهار بازه ارتفاعی از سطح دریا انتخاب شدند: ۶۰۰-۱۲۰۰ متر، ۱۲۰۰-۱۸۰۰ متر، ۱۸۰۰-۲۴۰۰ متر، و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر. ویژگی‌های اقلیمی مربوط به هر بازه ارتفاعی در جدول ۱ خلاصه شده است. در هر کلاس ارتفاعی، سه قطعه جنگلی به مساحت ۵ هکتار انتخاب شدند که جهت آن‌ها عمود بر شیب شمالی بود. نمونه‌های خاک از این قطعات برداشت شده و هر قطعه به‌عنوان یک تکرار در نظر گرفته شد. تکرارهای واقع در کلاس‌های ارتفاعی مختلف، از پایین‌ترین تا بالاترین ارتفاع، یک بلوک آزمایشی را تشکیل دادند. در هر تکرار، سه پروفیل خاک تا عمق ۱/۵ متر حفر شد و نمونه‌های خاک از پنج بازه عمقی: ۰ تا ۲۰ سانتی‌متر، ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر، ۴۰ تا ۶۰ سانتی‌متر، ۶۰ تا ۸۰ سانتی‌متر و ۸۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر برداشت شدند. نمونه‌های مربوط به اعماق مشابه در پروفیل‌های هر تکرار با یکدیگر مخلوط و برای هر عمق، یک نمونه مرکب تشکیل شد. در نتیجه، در هر تکرار پنج نمونه مرکب از اعماق مختلف به‌دست آمد که معادل ۱۵ نمونه مرکب برای هر کلاس ارتفاعی بود. در مجموع، در چهار کلاس ارتفاعی، ۶۰ نمونه مرکب خاک تهیه شد که از ترکیب ۱۸۰ نمونه منفرد بودند. نمونه‌ها در هوای آزاد خشک شده و از آلک با مش ۲ میلی‌متر عبور داده شدند تا برای تحلیل ویژگی‌های شیمیایی و زیستی منتخب آماده شوند. بافت خاک با روش هیدرومتر (Huluka and Miller, 2014)، جرم مخصوص ظاهری با روش کلوخه (Blake, 1965)، درصد کربن آلی خاک با روش واکلی و بلک (Walkley and Black, 1934)، pH خاک در گل اشباع و هدایت الکتریکی در عصاره اشباع خاک (Zhang and Wienhold, 2002) اندازه‌گیری شدند.



جدول ۱. ویژگی‌های اقلیمی نواحی ارتفاعی در منطقه مطالعه شده.

ارتفاع (متر)	میانگین بارش سالانه (میلی‌متر)	دمای سالانه (درجه سلسیوس)	میانگین دمای گرم‌ترین ماه (درجه سلسیوس)	میانگین دمای سردترین ماه (درجه سلسیوس)	حداقل دمای مطلق (درجه سلسیوس)
۰-۶۰۰	۴۰۰	۱۴	۲۱	۱۷	-۲۲
۶۰۰-۱۲۰۰	۵۵۰	۸	۱۵	۱۰	-۲۶
۱۲۰۰-۱۸۰۰	۸۰۰	۸	۱۲	-۱	-۳۱
۱۸۰۰-۲۴۰۰	۹۰۰	۵	۱۱	-۲	-۳۴

محاسبه ذخیره کربن آلی خاک در عمق مشخص

ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) برای هر لایه با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (رابطه ۱):

$$SOCs = BD \times T \times OC \times (1 - CF) \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در آن، SOCس ذخیره کربن آلی خاک (Mg C ha^{-1})، BD چگالی ظاهری خاک (g cm^{-3})، T ضخامت لایه خاک (cm) و OC درصد کربن آلی موجود در بخش ریزدانه است. CF نسبت حجمی ذرات بزرگ‌تر از ۲ میلی‌متر (کسر درشت) در کل نمونه را نشان می‌دهد. این روش اجازه می‌دهد ذرات درشت، که سهم قابل توجهی در ذخیره کربن ندارند، از محاسبات حذف شوند و ذخیره کربن آلی واقعی بخش ریزدانه به دقت تعیین گردد.

محاسبه ذخیره کربن آلی (SOCs) خاک بر اساس روش جرم معادل خاک (ESM)

روش ESM زمانی استفاده می‌شود که ضخامت لایه‌های خاک متفاوت باشد یا لایه‌هایی با ضخامت یکسان، دارای چگالی ظاهری متفاوت باشند. تغییر جرم خاک میان لایه‌ها می‌تواند باعث خطا شده و مقایسه مستقیم ذخیره کربن آلی (SOCs) را غیرقابل اعتماد کند. این روش با محاسبه SOCس بر اساس یک جرم ثابت از خاک در هر لایه مشکل فوق را برطرف می‌کند و اطمینان می‌دهد که نتایج تحت تأثیر تفاوت ضخامت یا چگالی قرار نگیرند. در این روش، سبک‌ترین لایه خاک به عنوان معیار (بنچمارک) انتخاب شده و SOCس برای همان جرم ثابت در سایر لایه‌ها محاسبه می‌شود. مراحل محاسبه:

محاسبه جرم خاک هر لایه (SM) (رابطه ۲):

$$SM = BD \times T \times A \times 10 \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در آن، SM جرم خاک هر لایه (kg m^{-2})، BD چگالی ظاهری خاک (g cm^{-3})، T ضخامت لایه خاک (cm)، A سطح زمین (m^2) است.

انتخاب لایه معیار (رابطه ۳): لایه‌ای که کمترین جرم خاک را دارد، به عنوان جرم مرجع (SM_{ref}) در نظر گرفته می‌شود. محاسبه ضخامت معادل برای سایر لایه‌ها بر حسب سانتی‌متر (T_{eq}):

$$T_{eq} = \frac{SM_{ref}}{BD \times A \times 10} \quad \text{(رابطه ۳)}$$

محاسبه ذخیره کربن آلی (SOCs) برای جرم یکسانی از خاک در هر لایه (رابطه ۴):

$$SOCs = BD \times T_{eq} \times OC \times (1 - CF) \quad \text{(رابطه ۴)}$$

با این روش، SOCس در تمامی لایه‌ها بر اساس جرم معادل قابل مقایسه است و نتایج تحت تأثیر تفاوت ضخامت یا چگالی قرار نمی‌گیرند (Wendt and Hauser, 2013).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم β -گلوکوزیداز

۲۰ میلی‌لیتر بافر استات و ۱۰ میلی‌لیتر محلول بستر سالی‌ژنین- β -D-گلوکوزید به ۵ گرم خاک تازه و مرطوب افزوده شد. برای نمونه‌ی شاهد، به جای محلول بستر، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به ۵ گرم خاک تازه و مرطوب اضافه شد. هر دو نمونه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت خوابانده و صاف شدند. ۳ میلی‌لیتر محلول صاف شده، به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شد. به هر لوله، ۵ میلی‌لیتر محلول

بورات و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف رنگ‌زا افزوده شد. محلول‌ها به مدت یک ساعت در دمای محیط نگهداری شدند تا رنگ مورد نظر تشکیل شود (Schinner et al., 1996). شدت رنگ ایجادشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۸ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم β -گلوکوزیداز با استفاده از رابطه‌ی زیر محاسبه شد (رابطه ۵):

$$\text{Beta-glucosidase enzyme } (\mu\text{g saligenin} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{(S - C) \times 30 \times 40}{(3 \times 5)} \quad (\text{رابطه ۵})$$

که در آن، S جرم نمونه آزمایشی (بر حسب میکروگرم سالی‌ژنین، $\mu\text{g saligenin}$)، C جرم نمونه کنترل ($\mu\text{g saligenin}$)، ۳۰ حجم محلول خوابانده شده (ml)، ۴۰ دمای دوره خوابانیدن ($^{\circ}\text{C}$)، ۳ حجم عصاره صاف‌شده (ml) و ۵ جرم اولیه خاک (g) است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سلولاز

۱۰ گرم خاک تازه با ۱۵ میلی‌لیتر محلول بستر (سلوبیوز به‌عنوان منبع سوپسترای سلولاز) و ۱۵ میلی‌لیتر بافر استات (با pH برابر ۵/۵) ترکیب شدند. برای نمونه‌ی شاهد، ۱۵ میلی‌لیتر بافر استات به ۱۰ گرم خاک تازه و مرطوب افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خوابانده شدند. پس از پایان دوره خوابانیدن، به نمونه شاهد نیز ۱۵ میلی‌لیتر محلول بستر افزوده شد. هر دو نمونه صاف و مقدار ۱ میلی‌لیتر از هر کدام به لوله‌های سانتریفیوژ منتقل شدند. به هر لوله ۱ میلی‌لیتر محلول فنل (Phenol solution، معرف A) و ۱ میلی‌لیتر محلول آلکیل بنزن سولفونات (Alkylbenzene sulfonate، معرف B) افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از آن، ۵ میلی‌لیتر محلول فسفات قلیایی (Alkaline phosphate buffer، معرف C) به هر لوله افزوده شد و نمونه‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در دمای محیط باقی ماندند تا رنگ لازم تشکیل شود (Schinner et al., 1996). شدت رنگ ایجادشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم سلولاز با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (رابطه ۶):

$$\text{Cellulase activity } (\mu\text{g GE} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24\text{h}^{-1}) = \frac{(S - C) \times 30 \times 40}{10} \quad (\text{رابطه ۶})$$

که در آن، S جرم نمونه (بر حسب میکروگرم معادل گلوکز، $\mu\text{g GE}$)، C جرم نمونه کنترل ($\mu\text{g GE}$)، ۳۰ حجم محلول خوابانده شده (ml)، ۴۰ ضریب رقیق‌سازی و ۱۰ وزن اولیه خاک (g) است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی

۱ گرم خاک با یک میلی‌لیتر محلول پارا-نیتروفنیل فسفات (p-nitrophenyl phosphate) به‌عنوان بستر ترکیب شد. چهار میلی‌لیتر از محلول بافر به مخلوط افزوده شد؛ برای آنزیم فسفاتاز قلیایی، از بافر بورات-بیکربنات با pH برابر با ۱۱ و برای آنزیم فسفاتاز اسیدی، از بافر استات با pH برابر با ۶/۵ استفاده شد. پس از افزودن بافر، مخلوط‌ها به‌خوبی هم زده شدند تا ترکیب یکنواختی حاصل گردد. برای نمونه شاهد، چهار میلی‌لیتر محلول بافر به یک گرم خاک تازه و مرطوب افزوده شد. هر دو نمونه به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانده شدند. پس از دوره خوابانیدن، یک میلی‌لیتر محلول کلرید کلسیم (CaCl_2) و چهار میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) به هر لوله اضافه شد. مخلوط‌ها به‌خوبی هم زده شدند و شدت رنگ ایجادشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Öhlinger and Von Mersi, 1996). غلظت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (رابطه ۷):

$$\text{Phosphatase activity } (\mu\text{g NP} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = (S - C) \times 10 \quad (\text{رابطه ۷})$$

که در آن، S جرم نمونه (بر حسب میکروگرم پارا-نیتروفنول، $\mu\text{g NP}$)، C جرم نمونه کنترل ($\mu\text{g NP}$) و ۱۰ حجم کل محلول (ml) است.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اوره‌آز

فعالیت آنزیم اوره‌آز با استفاده از روش تقطیر و بر اساس دستورالعمل هوفمان اندازه‌گیری شد (Hofmann, 1965). مقدار ۹ میلی‌لیتر بافر تریس به همراه ۱ میلی‌لیتر محلول اوره با ۵ گرم خاک تازه مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانده شدند. پس از دوره خوابانیدن، به هر نمونه ۳۵ میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم افزوده شده و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه به‌خوبی هم‌زده شد. حجم نهایی با استفاده از آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از صاف‌سازی، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده به بالن تقطیر منتقل



و ۰/۲ گرم اکسید منگنز به آن اضافه شد. نیتروژن آمونیومی آزاد شده به مدت ۳ تا ۴ دقیقه در محلول شاخص اسید بوریک تقطیر شد. تغییر رنگ محلول از بنفش به سبز، وجود آمونیوم را نشان داد. در نهایت، میزان نیتروژن آمونیومی از طریق تیتراسیون با اسید سولفوریک اندازه گیری شد.

آزمایش فعالیت آنزیم آریل سولفاتاز

۴ میلی لیتر بافر استات (pH=۵/۵) به همراه ۱ میلی لیتر محلول بستر پارا-نیتروفنیل سولفات (PNP-S) با ۱ گرم خاک تازه مخلوط شدند. نمونه شاهد نیز همزمان و بدون افزودن بستر، شامل ۴ میلی لیتر بافر و ۱ گرم خاک تهیه شد. هر دو نمونه به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس خوابانده شدند. پس از دوره خوابانیدن، ۱ میلی لیتر بستر به نمونه شاهد افزوده شد و حجم نهایی همه نمونه ها با آب مقطر به ۲۵ میلی لیتر رسانده شد. مخلوط ها صاف شده و ۶ میلی لیتر از عصاره حاصل به لوله های سانتی فیوژ منتقل شدند. به هر لوله، ۴ میلی لیتر محلول هیدروکسید سدیم افزوده و جذب نوری محلول ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (Schinner et al., 1996). فعالیت آنزیم با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (رابطه ۸):

$$\text{Arylsulfatase activity } (\mu\text{g PNP} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{(S - C) \times 30}{6} \quad \text{(رابطه ۸)}$$

که در آن، S جرم نمونه (بر حسب میکروگرم پارا-نیتروفنول، $\mu\text{g PNP}$)، C جرم نمونه کنترل ($\mu\text{g PNP}$)، ۳۰ حجم کل نمونه (ml) و ۶ حجم عصاره استفاده شده (ml) است.

اندازه گیری فعالیت آنزیم دهیدروژناز

۵ گرم خاک مرطوب و تازه، به ۵ میلی لیتر محلول بستر کلرید تترازولیوم (TTC) و ۵ میلی لیتر بافر تریس (pH=۷/۶) افزوده شد. نمونه شاهد حاوی بافر تریس و خاک بود. نمونه ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس خوابانده شدند. پس از دوره خوابانیدن، ۲۵ میلی لیتر استون به هر نمونه افزوده و به مدت ۲ ساعت در شرایط تاریک نگهداری شد. مخلوط ها صاف شدند و جذب نوری عصاره ها در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه گیری شد (Öhlinger and Von Mersi, 1996). فعالیت آنزیم با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (رابطه ۹):

$$\text{Dehydrogenase activity } (\mu\text{g TPF} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 16\text{h}^{-1}) = \frac{(S - C)}{5} \quad \text{(رابطه ۹)}$$

که در آن، S جرم نمونه (بر حسب میکروگرم تترازولیوم فرمازان، $\mu\text{g TPF}$)، C جرم نمونه کنترل ($\mu\text{g TPF}$) و ۵ وزن اولیه خاک (g) است.

تحلیل آماری

تحلیل آماری داده ها بر اساس طرح فاکتوریل در قالب بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفت. پردازش داده ها با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. به منظور بررسی روابط بین ویژگی های زیستی خاک و مقدار کربن آلی، ضریب همبستگی پیرسون در نرم افزار SPSS نسخه ۲۷ محاسبه شد. همچنین مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۰/۰۵ انجام گرفت. ترسیم نمودارها و طراحی جداول با بهره گیری از نرم افزارهای Excel و Microsoft Word صورت پذیرفت.

نتایج

تأثیر عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا بر ذخیره کربن آلی خاک

نتایج تحلیل واریانس نشان داد که در روش عمق ثابت (FD)، ذخایر کربن آلی خاک به طور معنی داری تحت تأثیر بلوک ($P \leq 0.05$)، ارتفاع از سطح دریا ($P \leq 0.001$)، عمق خاک ($P \leq 0.001$) و برهم کنش های آن ها ($P \leq 0.05$) قرار گرفتند (جدول ۲ الف). ضریب تغییرات (CV) در این روش برابر با ۳/۶۵ درصد بود. در روش جرم معادل خاک (ESM) نیز، اثر بلوک ($P \leq 0.01$)، ارتفاع ($P \leq 0.001$)، عمق خاک ($P \leq 0.001$) و برهم کنش های آن ها ($P \leq 0.001$) همگی معنی دار بودند (جدول ۲ ب). ضریب تغییرات در این روش برابر با ۲/۶۱ درصد به دست آمد. با توجه به این که CV کوچکتر نشان دهنده پراکندگی کمتر داده ها و دقت بالاتر برآورد است، می توان نتیجه گرفت که روش ESM نسبت به روش FD حدود ۲۸/۵ درصد دقت بیشتری در برآورد ذخایر کربن آلی خاک دارد. به طور کلی، هر دو روش نشان دادند که عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا عوامل کلیدی مؤثر بر ذخایر کربن آلی خاک هستند. همچنین، اثر معنی دار بلوک در هر دو روش اهمیت توجه به ناهمگنی مکانی و ضرورت کنترل تغییرپذیری محیطی را در مطالعات مربوط به برآورد ذخایر کربن آلی خاک برجسته می کند.

جدول ۲. نتایج آنالیز واریانس برای بررسی اثر بلوک، عمق خاک، ارتفاع و تعاملات آن‌ها بر میزان ذخیره کربن آلی خاک.

الف) محاسبه با روش عمق ثابت خاک

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
بلوک	۲	۴۰/۸۷*
ارتفاع	۳	۶۹۴/۳۴*
عمق خاک	۴	۲۹۸۵۹/۹۰***
ارتفاع × عمق خاک	۱۲	۵۴۶/۹۹*
خطا (Error)	۳۸	۱۴/۹۹
ضریب تغییرات (CV%)		۳/۶۵

ب) محاسبه با روش جرم معادل خاک

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
بلوک	۲	۳۷/۲۲**
ارتفاع	۳	۶۷۶/۷۴***
عمق خاک	۴	۳۲۴۶۱/۴۱***
ارتفاع × عمق خاک	۱۲	۶۸۱/۳۶***
خطا (Error)	۳۸	۱۱/۱۴
ضریب تغییرات (CV%)		۲/۶۱

علامت‌های **، *** و * به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطوح احتمال ۱/۰ درصد، ۱ درصد و ۵ درصد هستند. علامت "ns" به معنی عدم تفاوت معنادار است.

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس دوطرفه: اثر عوامل بلوک، عمق خاک، ارتفاع و تعامل آن‌ها بر فعالیت آنزیم‌های مختلف خاک.

متغیرها	بلوک	ارتفاع	عمق خاک	ارتفاع × عمق خاک
β-گلوکوزیداز	ns	***	***	ns
سلولاز	ns	***	***	ns
فسفاتاز اسیدی	ns	*	***	ns
فسفاتاز قلیایی	ns	***	***	ns
اوره‌آز	ns	***	***	ns
آریل سولفاتاز	ns	***	***	ns
دهیدروژناز	ns	ns	***	***

علامت‌های **، *** و * به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطوح احتمال ۱/۰ درصد، ۱ درصد و ۵ درصد هستند. علامت "ns" به معنی عدم تفاوت معنادار است.

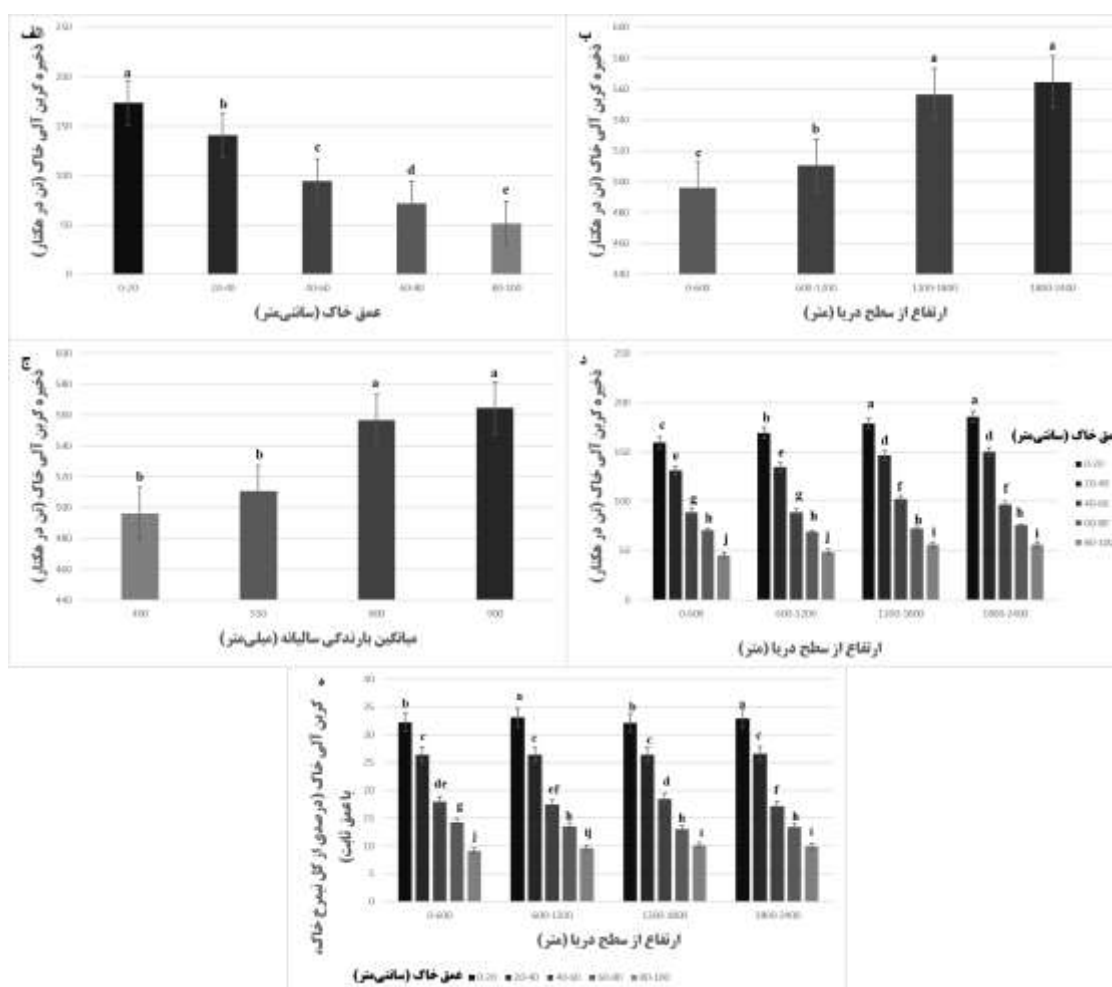
جدول ۴. ضریب همبستگی پیرسون (r) بین ذخیره کربن آلی خاک (SOCs)، کربن زیست‌توده میکروبی خاک (MBC) و فعالیت آنزیم‌های مختلف در منطقه مطالعه شده.

SOCs	MBC	β-گلوکوزیداز	سلولاز	فسفاتاز اسیدی	فسفاتاز قلیایی	اوره‌آز	آریل سولفاتاز	دهیدروژناز
۱								
MBC	۰/۹۹**							
β-گلوکوزیداز	۰/۹۶**	۱						
سلولاز	۰/۸۲**	۰/۸۸**	۱					
فسفاتاز اسیدی	۰/۹۰**	۰/۸۹**	۰/۶۶**	۱				
فسفاتاز قلیایی	۰/۹۱**	۰/۹۰**	۰/۹۲**	۰/۹۰**	۱			
اوره‌آز	۰/۹۷**	۰/۹۷**	۰/۹۶**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۱		
آریل سولفاتاز	۰/۹۶**	۰/۹۵**	۰/۹۱**	۰/۸۶**	۰/۸۴**	۰/۹۴**	۱	
دهیدروژناز	۰/۹۲**	۰/۹۱**	۰/۹۲**	۰/۹۳**	۰/۹۲**	۰/۹۱**	۰/۹۱**	۱

علامت‌های **، *** و * به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت معنادار در سطوح احتمال ۱/۰ درصد، ۱ درصد و ۵ درصد هستند.

روش عمق ثابت خاک

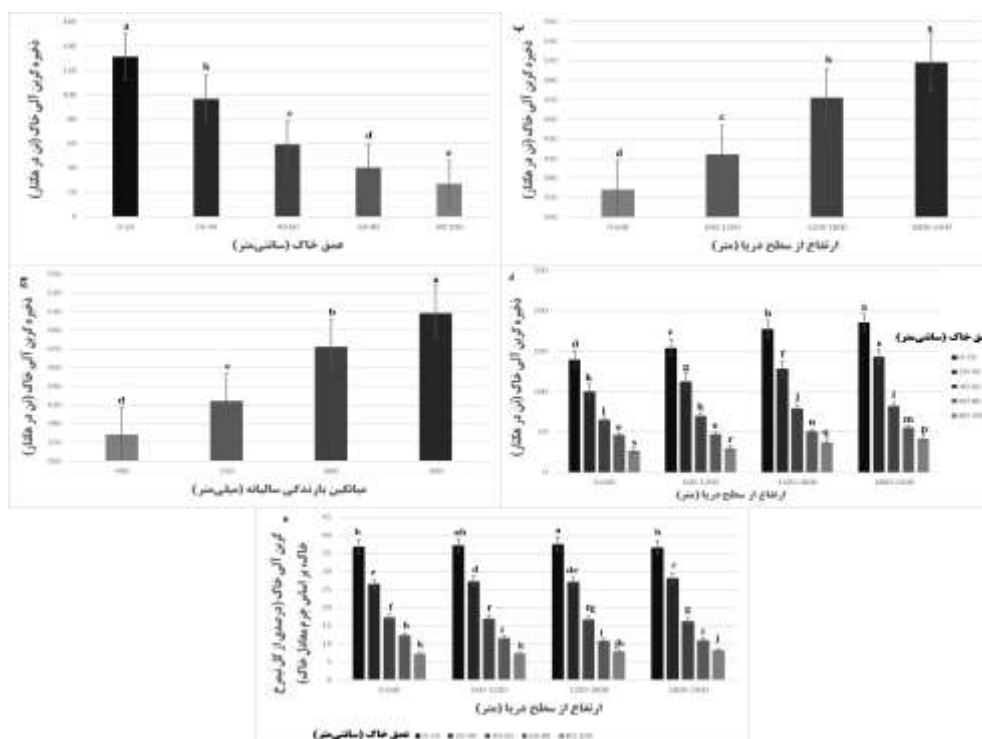
شکل ۲ تغییرات ذخایر کربن آلی خاک را با عمق در کلاس‌های ارتفاعی مختلف با استفاده از روش FD خاک نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهند که با افزایش عمق خاک، مقدار ذخایر کربن آلی خاک به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که بیشترین مقادیر ذخایر کربن آلی خاک در تمامی ارتفاعات به‌طور مداوم در لایه سطحی ۰-۲۰ سانتی‌متر مشاهده شدند. این لایه سطحی به‌تنهایی به‌طور میانگین ۳۳ درصد از کل ذخایر کربن آلی خاک را در چهار کلاس ارتفاعی تشکیل می‌دهد. در مقابل، مقادیر ذخایر کربن آلی خاک در عمیق‌ترین لایه (۸۰-۱۰۰ سانتی‌متر) حدود ۷۰ درصد کاهش یافت که بیانگر تأثیر شدید عمق بر توزیع ذخایر کربن آلی خاک است. اگرچه میانگین مقادیر ذخایر کربن آلی خاک در تمامی اعماق تمایل به افزایش با ارتفاع داشتند، اما این افزایش‌ها در برخی از اعماق از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند (شکل ۲ د). تحلیل‌های تکمیلی نیز کاهش کلی ذخایر کربن آلی خاک با افزایش عمق خاک تا عمق یک‌متری را نشان دادند (شکل ۲ الف). با این حال، ذخایر کربن آلی خاک در عمق یک‌متری همبستگی مثبتی با ارتفاع داشت (شکل ۲ ب). به‌طور مشخص، کمترین و بیشترین مقادیر ذخایر کربن آلی خاک در این عمق به‌ترتیب در ارتفاع‌های ۶۰۰-۰ متر و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر ثبت شدند که از ۴۹۴/۳۵ به ۵۶۳/۴۸ تن در هکتار افزایش یافتند — یعنی حدود ۱/۱۴ برابر افزایش. بیشترین افزایش محسوس ذخایر کربن آلی خاک در بین کلاس‌های ارتفاعی ۱۲۰۰-۶۰۰ متر و ۱۸۰۰-۱۲۰۰ متر رخ داد، جایی که ذخایر کربن آلی خاک به میزان ۱/۱ برابر افزایش یافت. این روند با بیشترین افزایش بارندگی که بین این دو بازه ارتفاعی مشاهده شد (شکل ۲ ج) تطبیق داشت و این موضوع احتمال وجود یک رابطه بین بارندگی و انباشت ذخایر کربن آلی خاک در ارتفاعات بالاتر را نشان می‌دهد.



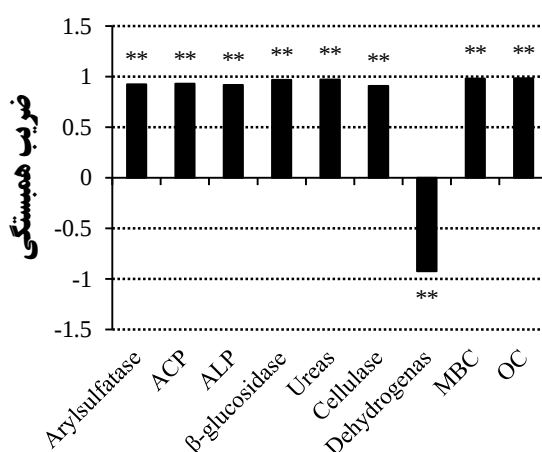
شکل ۲. تغییرات ذخایر کربن آلی خاک (SOCs) در طول گرادیان‌های ارتفاعی و عمق خاک بر اساس روش عمق ثابت. (الف) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش عمق خاک؛ (ب) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش ارتفاع از سطح دریا؛ (ج) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش میانگین بارندگی سالیانه؛ (د) توزیع ذخایر کربن آلی خاک در پنج لایه عمقی (۰-۱۰۰ سانتی‌متر) و چهار کلاس ارتفاعی؛ (ه) سهم نسبی هر لایه خاک از کل کربن آلی نیم‌رخ خاک در عمق‌ها و طبقات ارتفاعی مختلف. حروف متفاوت بالای ستون‌ها بیانگر تفاوت‌های آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند و خطوط عمودی خطای استاندارد میانگین را نشان می‌دهند.

روش جرم معادل خاک

تغییرات ذخایر کربن آلی خاک نسبت به عمق، ارتفاع و بارندگی — به همراه توزیع آن‌ها در بازه‌های مختلف عمقی و کلاس‌های ارتفاعی — در شکل‌های ۳ (الف تا د) ارائه شده‌اند. الگوهای مشاهده‌شده با استفاده از روش ESM، تا حد زیادی با نتایج حاصل از روش FD خاک (شکل‌های ۲ الف تا د) همخوانی دارند؛ با این حال، روش ESM، نمایش دقیق‌تر و جزئی‌تری از تغییرات ذخایر کربن آلی خاک ارائه می‌دهد. قابل توجه است که ESM، افزایش آماری معنی‌داری را در ذخایر کربن آلی خاک با افزایش ارتفاع و بارندگی در کلاس‌های ارتفاعی متوالی ثبت می‌کند (شکل‌های ۳ ب و ۳ ج). در مقابل، روش FD قادر به شناسایی تفاوت‌های معنی‌دار در ذخایر کربن آلی خاک میان کلاس‌های ارتفاعی ۱۸۰۰-۱۲۰۰ متر و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر، یا بین سطوح بارندگی ۸۰۰ و ۹۰۰ میلی‌متر در این بازه‌های ارتفاعی نیست (شکل‌های ۲ ب و ۲ ج). روش ESM همچنین تأثیرات متقابل عمق خاک و ارتفاع را بر توزیع ذخایر کربن آلی خاک با وضوح بیشتری نمایش می‌دهد (شکل ۳ د). در هر کلاس ارتفاعی، ذخایر کربن آلی خاک به صورت پیوسته و معنی‌داری با افزایش عمق کاهش می‌یابد. علاوه بر این، در ارتفاعات بالاتر، مقادیر ذخایر کربن آلی خاک در تمام بازه‌های عمقی به طور پیوسته و معنی‌داری بیشتر از ارتفاعات پایین‌تر است — به جز در عمق ۸۰-۶۰ سانتی‌متر در کلاس‌های ارتفاعی ۶۰۰-۰ و ۱۲۰۰-۶۰۰ متر (شکل ۳ د). در مقابل، روش FD حساسیت کمتری به اثرات ارتفاع در اعماق بیشتر (۸۰-۱۰۰ و ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر) نشان می‌دهد؛ به طوری که ذخایر کربن آلی خاک در این اعماق در تمام کلاس‌های ارتفاعی نسبتاً یکنواخت باقی مانده و تغییرات آماری معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (شکل ۲ د). تحلیل همبستگی پیرسون بین ذخایر کربن آلی خاک و شاخص‌های مختلف زیستی خاک، رابطه‌ای مثبت و قوی میان ذخایر کربن آلی خاک و فعالیت میکروبی خاک نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است، کربن زیست‌توده میکروبی ($r = 0.99$) و تنفس میکروبی ($r = 0.95$) دارای همبستگی مثبت قوی با ذخایر کربن آلی خاک هستند. افزون بر این، ذخایر کربن آلی خاک تأثیر مثبتی بر فعالیت چندین آنزیم خاک دارد؛ از جمله: β -گلوکوزیداز ($r = 0.96$)، سلولاز ($r = 0.82$)، فسفاتاز اسیدی ($r = 0.90$)، فسفاتاز قلیایی ($r = 0.91$)، اوره‌آز ($r = 0.97$) و آریل سولفاتاز ($r = 0.96$). در مقابل، فعالیت دهیدروژناز (DHA)، همبستگی منفی و معنی‌داری با ذخایر کربن آلی خاک دارد ($r = -0.92$).



شکل ۳. تغییرات ذخایر کربن آلی خاک (SOCs) در طول گرادیان‌های ارتفاعی و عمق خاک بر اساس روش جرم معادل خاک. (الف) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش عمق خاک؛ (ب) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش ارتفاع از سطح دریا؛ (ج) تغییرات ذخایر کربن آلی خاک در ارتباط با افزایش میانگین بارندگی سالیانه؛ (د) توزیع ذخایر کربن آلی خاک در پنج لایه عمقی (۱۰۰-۰ سانتی‌متر) و چهار کلاس ارتفاعی؛ (ه) سهم نسبی هر لایه خاک از کل کربن آلی نیمرخ خاک در عمق‌های مختلف و در طول گرادیان‌های ارتفاعی. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند و خطوط عمودی خطای استاندارد میانگین را نمایش می‌دهند.



ویژگی‌های زیستی و فعالیت‌های آنزیمی

شکل ۴. ضریب همبستگی پیرسون بین ذخایر کربن آلی خاک (SOCs) و شاخص‌های زیستی و فعالیت‌های آنزیمی منتخب. نتایج نشان داد که SOCها با کربن بیومس میکروبی (MBC)، تنفس میکروبی و فعالیت آنزیم‌های β -گلوکوزیداز، سلولاز، فسفاتازها، اورئاز و آریل سولفاتاز دارای همبستگی مثبت و قوی است. در مقابل، فعالیت دهیدروژناز همبستگی منفی و معناداری با SOCها نشان داد. تمامی این روابط در سطح احتمال ۱ درصد ($P \leq 0.01$) از نظر آماری معنی‌دار بودند.

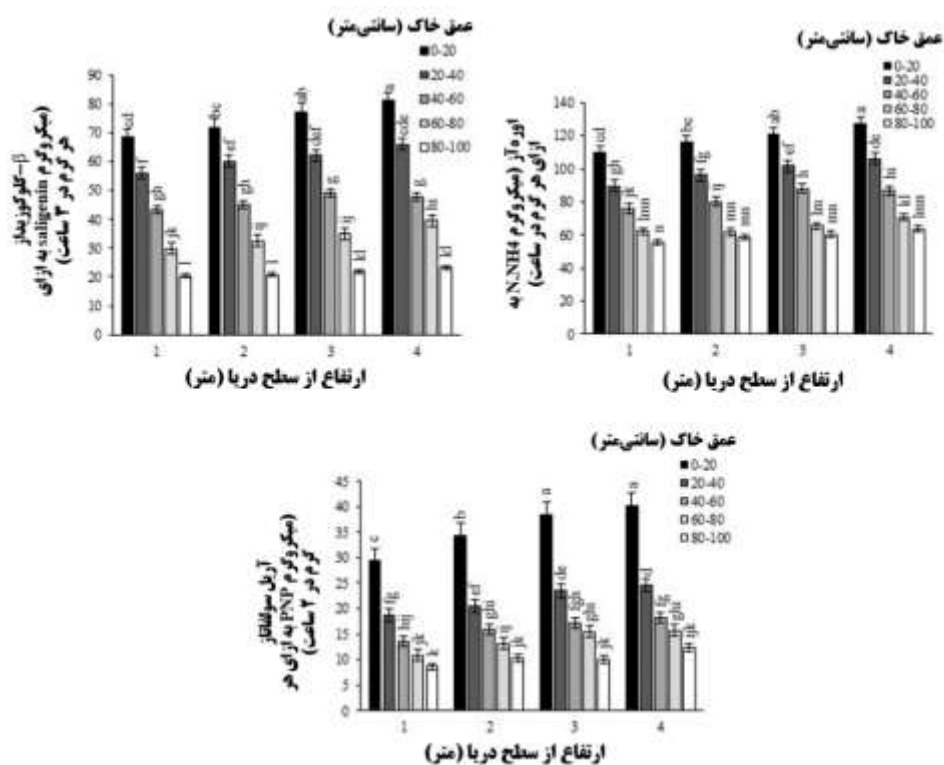
الگوی توزیع عمقی کربن آلی خاک در پروفیل‌های خاکی در امتداد گرادیان ارتفاعی

ذخایر کربن آلی در پروفیل‌های خاکی تا عمق ۱۰۰ سانتی‌متری (بر حسب تن در هکتار) روند افزایشی مشخصی را با افزایش ارتفاع از سطح دریا نشان دادند (شکل‌های ۲ و ۳ ب). علی‌رغم افزایش کلی ذخایر کربن آلی با ارتفاع، الگوی توزیع عمقی کربن آلی در پنج بازه عمقی ۲۰ سانتی‌متری به صورت درصدی از کل کربن پروفیل، در تمامی ارتفاعات، چه با روش ESM و چه با روش FD، نسبتاً یکنواخت باقی ماند (شکل‌های ۲ و ۳ ه). این ثبات در تقسیم‌بندی عمودی کربن احتمالاً به دلیل پوشش گیاهی مشابه و ساختار سیستم ریشه‌ای همسان در امتداد شیب ارتفاعی است که نشان می‌دهد صرف‌نظر از مقدار کلی تجمع کربن، ساختار پوشش گیاهی نقش کلیدی در تنظیم تخصیص ذخیره کربن آلی در درون پروفیل خاک ایفا می‌کند. اگرچه میزان مطلق ذخایر کربن با ارتفاع تغییر می‌کند، پایداری توزیع نسبی آن در عمق‌ها دلالت بر آن دارد که فرآیندهای اساسی کنترل‌کننده دینامیک کربن در عمق — مانند ورودی‌های ریشه، نرخ تجزیه و اختلاط خاک — در سراسر شیب ارتفاعی به طور مشابه عمل می‌کنند. با این حال، تفاوت قابل توجهی بین دو روش اندازه‌گیری مشاهده می‌شود: در روش FD، لایه‌های سطحی سهم کمتری از کل ذخیره کربن آلی پروفیل خاک را به خود اختصاص می‌دهند، در حالی که لایه‌های عمیق‌تر سهم نسبتاً بیشتری دارند؛ اما در روش ESM، اختلاف بین ذخیره کربن آلی در لایه‌های سطحی و زیرسطحی کاهش می‌یابد.

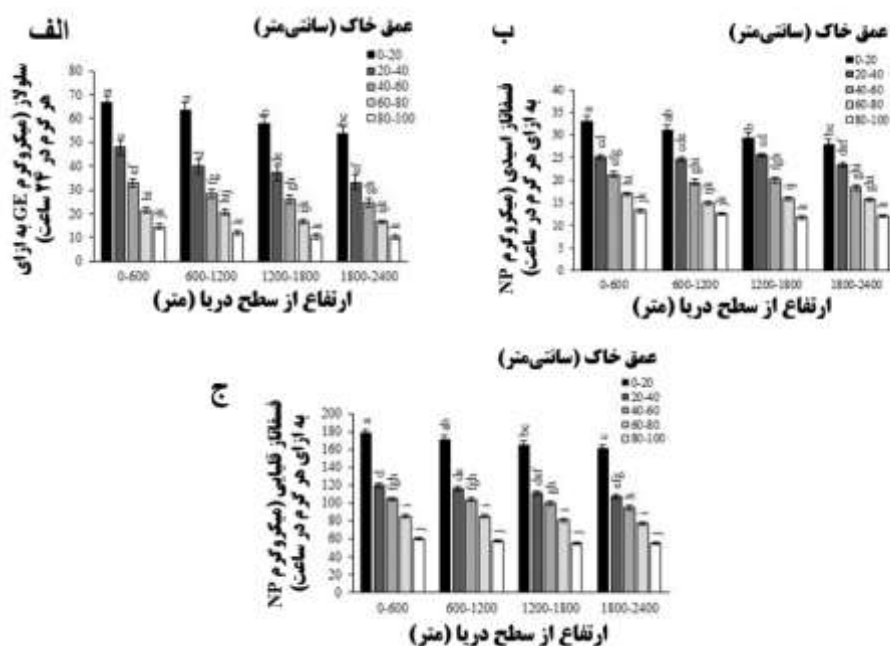
تأثیر عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا بر فعالیت آنزیم‌های خاک

نتایج تجزیه واریانس دوطرفه برای بررسی تأثیر بلوک، عمق خاک، ارتفاع از سطح دریا و برهم‌کنش‌های آنها بر فعالیت آنزیم‌های مختلف خاک در جدول ۳ ارائه شده است. عامل بلوک تأثیر معنی‌داری بر هیچ‌یک از پارامترهای مورد بررسی نداشت. با این حال، هر دو عامل ارتفاع و عمق خاک تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های β -گلوکوزیداز، سلولاز، فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز و آریل سولفاتاز در سطح احتمال ۰/۰۰۱ ($P \leq 0.001$) داشتند. برهم‌کنش ارتفاع و عمق خاک نیز تأثیر معنی‌داری بر فعالیت هیچ‌یک از آنزیم‌ها نداشت، به جز DHA (جدول ۳). این مطالعه تغییرات معنی‌داری را در فعالیت آنزیم‌ها در اعماق مختلف خاک و ارتفاعات نشان داد. فعالیت آنزیم‌های β -گلوکوزیداز (A)، اوره‌آز (B) و آریل سولفاتاز (C) در تمامی ارتفاعات با افزایش عمق خاک کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیمی به طور مداوم در لایه ۰-۲۰ سانتی‌متری خاک مشاهده شد، در حالی که کمترین میزان فعالیت در لایه ۸۰-۱۰۰ سانتی‌متری ثبت شد. به طور میانگین، فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش عمق به ترتیب ۷۱ درصد برای β -گلوکوزیداز، ۵۰ درصد برای اوره‌آز و ۷۱ درصد برای آریل سولفاتاز کاهش یافت (شکل ۵). در مقابل، ارتفاع از سطح دریا با فعالیت آنزیمی همبستگی مثبت داشت. در تمامی عمق‌های خاک، فعالیت آنزیم‌های β -گلوکوزیداز (A)، اوره‌آز (B) و آریل سولفاتاز (C) با افزایش ارتفاع افزایش یافت. به طور خاص، فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب حدود ۱۹/۱ درصد، ۱۵/۱ درصد و ۴/۱ درصد با افزایش ارتفاع از ۶۰۰-۰ متر به ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر افزایش یافت (شکل ۵). تأثیر عمق خاک بر فعالیت

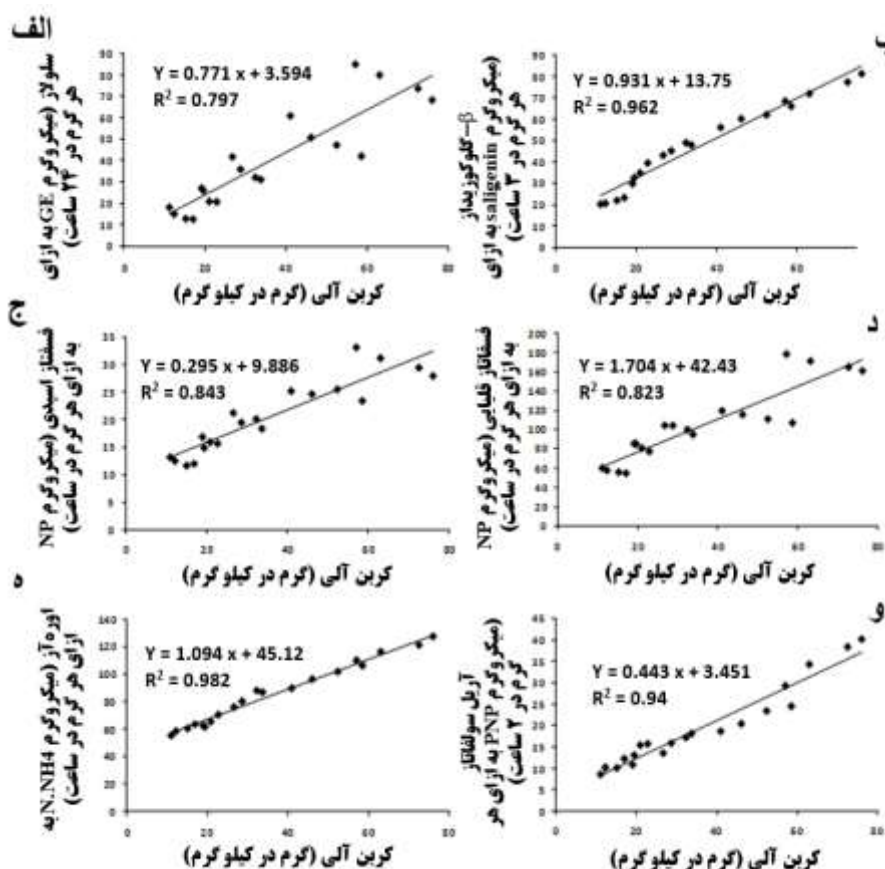
آنزیم‌های سلولاز (A)، فسفاتاز اسیدی (B) و فسفاتاز قلیایی (C) کاهشی بود و با افزایش عمق در تمامی طبقات ارتفاعی مورد مطالعه، فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیمی در لایه ۰-۲۰ سانتی‌متری مشاهده شد و با افزایش عمق به‌طور پیوسته کاهش یافت و کمترین مقدار در لایه ۸۰-۱۰۰ سانتی‌متری ثبت شد (شکل ۶). به‌طور مشخص، فعالیت آنزیم‌های سلولاز، فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی به ترتیب ۸۱ درصد، ۵۹ درصد و ۶۶ درصد کاهش یافت که این کاهش احتمالاً ناشی از کاهش ماده آلی در لایه‌های عمیق‌تر خاک است. همان‌طور که در شکل ۶ نشان داده شده است، فعالیت آنزیم‌های سلولاز (A)، فسفاتاز اسیدی (B) و فسفاتاز قلیایی (C) با افزایش ارتفاع نیز کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیمی در ارتفاع ۰-۶۰۰ متر ثبت شد و با افزایش ارتفاع به ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر، فعالیت این آنزیم‌ها به ترتیب ۲۶ درصد، ۱۰/۴ درصد و ۶/۹ درصد کاهش یافت. تحلیل رگرسیون، یک همبستگی خطی مثبت و قوی بین محتوای ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) و فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی را نشان می‌دهد. مقادیر R^2 برای β -گلوکوزیداز، سلولاز، فسفاتاز اسیدی، فسفاتاز قلیایی، اوره‌آز و آریل سولفاتاز به ترتیب برابر با ۰/۹۶، ۰/۸۰، ۰/۸۴، ۰/۸۲، ۰/۹۸ و ۰/۹۴ بودند (شکل ۷). شکل ۸ تغییرات فعالیت آنزیم DHA را در چهار عمق خاک نشان می‌دهد. برخلاف سایر آنزیم‌های بررسی‌شده، فعالیت DHA در تمامی ارتفاعات با افزایش عمق خاک به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۸ الف). با افزایش عمق از ۰-۲۰ سانتی‌متر به ۸۰-۱۰۰ سانتی‌متر، فعالیت DHA به ترتیب در طبقات ارتفاعی ۰-۶۰۰ متر، ۶۰۰-۱۲۰۰ متر، ۱۲۰۰-۱۸۰۰ متر و ۱۸۰۰-۲۴۰۰ متر، حدوداً ۴۹ برابر، ۲۹ برابر، ۱۷ برابر و ۱۵ برابر افزایش یافت. این الگو با آنچه برای محتوای SOCها و فعالیت DHA را نشان داد ($R^2 = 0.83$) (شکل ۸ ب). نتایج این مطالعه همچنین همبستگی مثبت، منفی و معنی‌داری بین محتوای SOCها و فعالیت DHA را نشان داد ($R^2 = 0.83$) (شکل ۸ ب). نتایج این مطالعه همچنین همبستگی مثبت، قوی و از نظر آماری معنی‌دار در سطح ۱ درصد ($P \leq 0.01$) بین کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت بیشتر آنزیم‌های مورد بررسی را نشان داد. این آنزیم‌ها شامل β -گلوکوزیداز ($r = 0.96$)، سلولاز ($r = 0.88$)، فسفاتاز اسیدی ($r = 0.89$)، فسفاتاز قلیایی ($r = 0.90$)، اوره‌آز ($r = 0.97$) و آریل سولفاتاز ($r = 0.95$) بودند (جدول ۴). در مقابل، همبستگی منفی و معنی‌داری بین کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم DHA مشاهده شد ($r = -0.91$, $P \leq 0.01$).



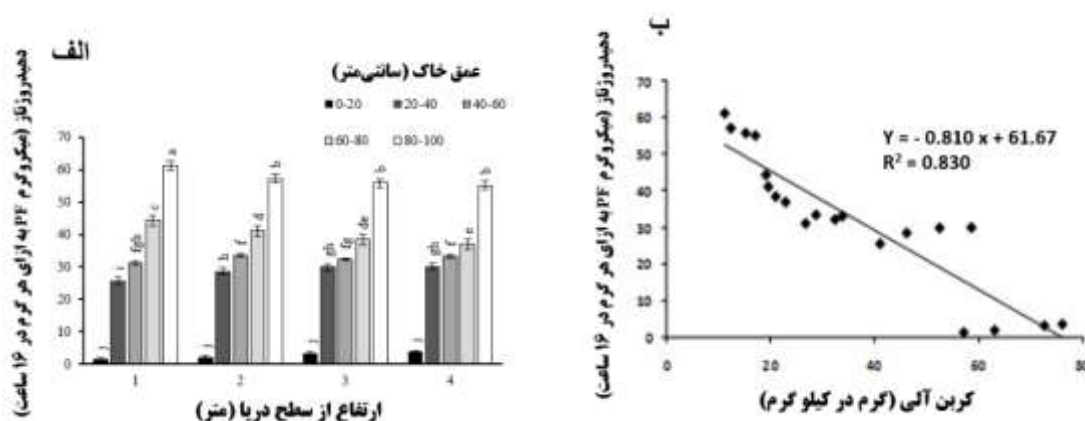
شکل ۵. فعالیت آنزیم‌های (الف) β -گلوکوزیداز، (ب) اوره‌آز و (ج) آریل سولفاتاز در پنج لایه عمقی خاک (۰-۱۰۰ سانتی‌متر) و چهار کلاس ارتفاعی (۰-۲۴۰۰ متر). نتایج نشان داد که فعالیت تمامی آنزیم‌ها با افزایش عمق خاک کاهش یافته، اما با افزایش ارتفاع از سطح دریا افزایش می‌یابد. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنادار بین عمق‌ها در هر کلاس ارتفاعی در سطح احتمال ۵ درصد هستند. خطوط عمودی، خطای استاندارد میانگین را نمایش می‌دهند.



شکل ۶. فعالیت آنزیم‌های (الف) سلولاز، (ب) فسفاتاز اسیدی و (ج) فسفاتاز قلیایی در پنج لایه عمقی خاک (۱۰۰-۰ سانتی‌متر) و چهار کلاس ارتفاعی. نتایج نشان داد که فعالیت تمامی آنزیم‌ها به‌طور کلی با افزایش عمق و افزایش ارتفاع از سطح دریا کاهش می‌یابد. حروف متفاوت بالای ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت‌های آماری معنادار بین عمق‌ها در هر کلاس ارتفاعی در سطح احتمال ۵ درصد هستند. خطوط عمودی، خطای استاندارد میانگین را نمایش می‌دهند.



شکل ۷. روابط رگرسیون خطی بین محتوای کربن آلی خاک و فعالیت شش آنزیم خارج سلولی: (الف) سلولاز، (ب) β -گلوکوزیداز، (ج) فسفاتاز اسیدی، (د) فسفاتاز قلیایی، (ه) اوره‌از و (و) آریل سولفاتاز. نتایج نشان داد که تمامی آنزیم‌ها دارای همبستگی مثبت و قوی با محتوای کربن آلی خاک هستند، به طوری که ضرایب تعیین (R^2) بین 0.80 تا 0.98 متغیر بودند.



شکل ۸. الف) فعالیت آنزیم دهیدروژناز در پنج لایه عمقی خاک (۱۰۰-۰ سانتی‌متر) و چهار کلاس ارتفاعی. نتایج نشان داد که برخلاف سایر آنزیم‌ها، فعالیت دهیدروژناز در تمامی طبقات ارتفاعی با افزایش عمق به‌طور معناداری افزایش یافت. ب) رابطه رگرسیون خطی بین محتوای کربن آلی خاک و فعالیت دهیدروژناز، که نشان‌دهنده پاسخ متفاوت میکروب‌ها به شرایط زیرسطحی خاک با دسترسی محدود به کربن آلی است. حروف متفاوت بالای ستون‌ها بیانگر تفاوت‌های آماری معنادار بین عمق‌ها در سطح احتمال ۵ درصد هستند. خطوط عمودی، خطای استاندارد میانگین را نمایش می‌دهند.

بحث و بررسی

پیامدهای روش‌شناختی استفاده از روش جرم معادل خاک در برابر روش عمق ثابت

مقایسه‌ی روش عمق ثابت (FD) با روش جرم معادل خاک (ESM) در این مطالعه، دیدگاه‌های مهمی را درباره‌ی دقت و صحت ارزیابی ذخایر کربن آلی خاک در امتداد گرادیان ارتفاعی ارائه می‌دهد. روش ESM دقت بیشتری نشان داد، به‌طوری‌که ضریب تغییرات (CV) برای این روش برابر با ۲/۶۱ درصد و برای روش FD ۳/۶۵ درصد بود (جدول‌های ۲ الف و ۲ ب). این موضوع، برتری روش‌شناختی مبتنی بر جرم را تأیید می‌کند؛ اصلاحاتی که به‌طور فزاینده‌ای در پژوهش‌های خاک‌شناسی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Wendt and Hauser, 2013). این افزایش دقت، به‌ویژه از آن جهت اهمیت دارد که چگالی ظاهری خاک معمولاً با عمق و شرایط محیطی تغییر می‌کند و محاسبات مبتنی بر حجم را مستعد خطاهای سیستماتیک می‌سازد (Martin et al., 2017). حساسیت و دقت بیشتر روش ESM در توانایی آن برای شناسایی تفاوت‌های معنادار آماری در ذخایر کربن آلی میان کلاس‌های ارتفاعی مشهود بود؛ تفاوت‌هایی که با استفاده از روش FD قابل شناسایی نبودند (شکل‌های ۳ ب و ۳ ج در مقایسه با شکل‌های ۲ ب و ۲ ج). به‌طور خاص، ESM موفق شد تفاوت‌های معناداری را در ذخایر کربن آلی خاک میان کلاس‌های ارتفاعی ۱۸۰۰ تا ۱۲۰۰ متر و ۲۴۰۰ تا ۱۸۰۰ متر و نیز بین سطوح بارندگی ۸۰۰ و ۹۰۰ میلی‌متر آشکار سازد. این حساسیت بالاتر احتمالاً ناشی از توانایی روش ESM در نظر گرفتن تغییرات طبیعی در فشردگی و چگالی ظاهری خاک در سراسر گرادیان‌های محیطی است؛ قابلیت‌هایی که تصویری دقیق‌تر از ظرفیت واقعی ذخیره‌سازی کربن فراهم می‌سازد (VandenBygaert and Angers, 2006).

الگوی تجمع کربن آلی خاک با افزایش ارتفاع

رابطه مثبت بین ارتفاع و ذخایر کربن آلی خاک که در این مطالعه مشاهده شد، با یافته‌های پیشین در اکوسیستم‌های کوهستانی مطابقت دارد؛ جایی که دماهای پایین‌تر و بارندگی بیشتر در ارتفاعات بالاتر، شرایط مساعدی را برای تجمع ماده آلی ایجاد می‌کنند (Garcia-Pausas and Körner, 2007; Djukic et al., 2010). افزایش ۱/۱۴ برابری در ذخایر کربن آلی خاک، از ۴۹۴/۳۵ به ۵۶۳/۴۸ تن در هکتار، بین پایین‌ترین (۶۰۰-۰ متر) و بالاترین (۱۸۰۰-۲۴۰۰ متر) کلاس‌های ارتفاعی، بیانگر گرادیانی قابل توجه در ذخیره‌سازی کربن است که پیامدهای مهمی برای پتانسیل جذب کربن اکوسیستم در امتداد ترانسکت مورد مطالعه دارد (Djukic et al., 2010). بیشترین افزایش در ذخایر کربن آلی خاک، بین کلاس‌های ارتفاعی ۱۲۰۰-۶۰۰ متر و ۱۸۰۰-۱۲۰۰ متر مشاهده شد؛ یک افزایش ۱/۱ برابری در ذخیره کربن آلی که با بیشترین افزایش بارندگی در امتداد این گرادیان همراه بود (شکل ۲ ج). این هماهنگی نشان می‌دهد که در دسترس بودن رطوبت، نقشی حیاتی در ایجاد تفاوت‌های ذخیره‌سازی کربن مرتبط با ارتفاع ایفا می‌کند (Souza et al., 2023). بارندگی بیشتر، نه تنها موجب افزایش تولید اولیه و ورودی ماده آلی به خاک می‌شود، بلکه شرایط خاکی را نیز به گونه‌ای تغییر می‌دهد که با کاهش دسترسی

اکسیژن و کاهش دما، سرعت تجزیه را کند می‌کند؛ هر دو عامل به حفظ ماده آلی کمک می‌کنند (Afreen et al., 2019). برهم‌کنش دما و بارندگی در ارتفاعات بالاتر، به احتمال زیاد شرایطی بهینه برای جذب کربن از طریق چندین مکانیسم ایجاد می‌کند (Leifeld and Fuhrer, 2005). دماهای پایین‌تر، نرخ تجزیه میکروبی را کاهش می‌دهند، در حالی که رطوبت بیشتر خاک باعث افزایش تولید زی‌توده گیاهی و ریشه‌ای می‌شود که منجر به ورودی بیشتر کربن به خاک می‌گردد (Raich and Lloyd and Taylor, 1994). علاوه بر این، ترکیب رطوبت بالا و دمای پایین ممکن است باعث شکل‌گیری کمپلکس‌های آلی-معدنی شود که کربن آلی را در برابر تجزیه تثبیت می‌کنند (Kleber et al., 2007).

توزیع کربن آلی با عمق و اهمیت بوم‌شناختی آن

الگوی ثابت کاهش ذخایر کربن آلی خاک با افزایش عمق در تمامی کلاس‌های ارتفاعی، بازتابی از این اصل بنیادین است که عمده ورودی‌های کربن آلی به خاک، در نزدیکی سطح و از طریق ریزش برگ، ترشحات ریشه‌ای و مرگ ریشه‌ها رخ می‌دهد (Rumpel and Kögel-Knabner, 2011). لایه سطحی (۲۰-۰ سانتی‌متر) که ۳۳ درصد از کل ذخایر کربن آلی پروفیل خاک را شامل می‌شود، بر اهمیت حیاتی حفاظت از خاک‌های سطحی برای حفظ کربن تأکید می‌ورزد (Stockmann et al., 2013). این تمرکز کربن در سطح، پیامدهای مدیریتی مهمی دارد، زیرا بخشی از مخزن کربن را تشکیل می‌دهد که بیشترین آسیب‌پذیری را نسبت به تخریب و فرسایش داراست. کاهش ۷۰ درصدی ذخایر کربن آلی خاک در عمیق‌ترین لایه (۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر) در مقایسه با لایه‌های سطحی، ماهیت نامی توزیع کربن با عمق را نشان می‌دهد که مشخصه بیشتر سامانه‌های خاکی است (Rumpel and Kögel-Knabner, 2011). با این حال، وجود مقادیر قابل‌توجهی از کربن در اعماق خاک، حاکی از فرایندهای مداوم انتقال و تثبیت کربن است؛ احتمالاً از طریق حرکت کربن آلی محلول، زیست‌مخلوط‌سازی، و ورودی‌های ریشه‌ای عمیق (Don et al., 2013). اثر متقابل عمق و ارتفاع که توسط روش ESM آشکار شد (شکل ۳ د)، نشان می‌دهد که افزایش ذخایر کربن آلی خاک ناشی از ارتفاع، نه فقط در لایه سطحی، بلکه در سراسر پروفیل خاک پدیدار باقی می‌ماند. این موضوع نشانگر آن است که عوامل محیطی مؤثر بر تجمع کربن در ارتفاعات بالاتر — که عمدتاً شامل رژیم‌های دما و رطوبت می‌باشند — بر پویایی کربن در کل ستون خاک اثر می‌گذارند؛ تأثیری که احتمالاً از طریق سامانه‌های ریشه‌ای عمیق‌تر و افزایش انتقال عمودی کربن در خاک‌های مرطوب‌تر صورت می‌پذیرد (Hagedorn et al., 2010).

رابطه شاخص‌های زیستی با چرخه کربن

همبستگی‌های قوی بین ذخایر کربن آلی خاک و شاخص‌های زیستی، بینشی کلیدی درباره پویایی کربن زیرزمینی ارائه می‌دهد. همبستگی بالا بین ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) و کربن زیست‌توده میکروبی ($r = 0.99$) نشان‌دهنده وجود رابطه‌ای متقابل است؛ به گونه‌ای که ذخایر کربن آلی خاک از اجتماعات میکروبی حمایت می‌کنند و این اجتماعات نیز، پس از مرگ، از طریق گردش زیست‌توده و برهم‌کنش‌های آلی-معدنی، به تثبیت کربن کمک می‌نمایند (Cotrufo et al., 2013). به طور مشابه، همبستگی مثبت با تنفس میکروبی ($r = 0.95$) بیانگر افزایش فعالیت میکروبی در خاک‌های غنی از کربن است؛ جایی که دسترسی بیشتر به بستر کربنی موجب رشد زیست‌توده و افزایش تنفس می‌گردد (Anderson and Domsch, 1978). فعالیت‌های آنزیمی نیز همبستگی‌های مثبت معناداری با ذخایر کربن آلی خاک نشان دادند — β -گلوکوزیداز ($r = 0.96$)، سلولاز ($r = 0.82$)، فسفاتاز اسیدی ($r = 0.90$)، فسفاتاز قلیایی ($r = 0.91$)، اوره‌آز ($r = 0.97$) و آریل سولفاتاز ($r = 0.96$) — که این همبستگی‌ها بیانگر ارتباط تنگاتنگ میان در دسترس بودن کربن آلی خاک و توانایی میکروارگانیسم‌ها در کسب عناصر غذایی است (Sinsabaugh et al., 2009). همبستگی منفی با فعالیت دهیدروژناز (DHA) ($r = -0.92$) ممکن است منعکس‌کننده تغییری در جهت مسیرهای متابولیکی تخصصی یا بی‌هوازی در خاک‌های عمیق، مرطوب و غنی از کربن باشد (Luo et al., 2017). اگرچه زیست‌توده میکروبی و آنزیم‌ها تنها بخش کوچکی از SOCها را تشکیل می‌دهند، همبستگی قوی آن‌ها با ذخایر کربن آلی خاک صرفاً ناشی از منابع کربنی مشترک نیست، بلکه بازتابی از یک رابطه عملکردی است؛ به گونه‌ای که فعالیت میکروبی و تولید آنزیم، فرایند تجزیه و چرخه عناصر غذایی را مستقیماً کنترل می‌کنند. این امر، فعالیت آنزیمی را به عنوان شاخص حساس برای بررسی گردش کربن در گرایان‌های عمقی و ارتفاعی معرفی می‌نماید. در مجموع، این یافته‌ها نقش محوری فرایندهای میکروبی در تنظیم ذخیره‌سازی و پایداری کربن آلی خاک در اکوسیستم‌های کوهستانی را برجسته می‌سازند.

پیامدهای یکنواختی ذخیره کربن در امتداد گرادیان ارتفاعی

توزیع نسبی یکنواخت کربن با عمق، صرف‌نظر از ارتفاع، یکی از مهم‌ترین یافته‌های این مطالعه است. این یکنواختی نشان می‌دهد که

عوامل کنترل‌کننده تخصیص کربن در پروفیل خاک — مانند معماری ریشه، الگوهای ورودی لاشبرگ، و زیست‌مخلوط‌سازی — در سراسر گرادیان ارتفاعی به‌طور مشابه عمل می‌کنند. این در حالی است که مقدار کل تجمع کربن در ارتفاعات مختلف متفاوت است (Guo et al., 2022). این یافته برای مدل‌سازی کربن اهمیت دارد، زیرا نشان می‌دهد توابع توزیع عمقی کربن که در یک ارتفاع خاص توسعه یافته‌اند، ممکن است در ارتفاعات گسترده‌تر و در اکوسیستم‌های مشابه نیز کاربرد داشته باشند (Batjes, 1996). ساختار گیاهی مشابه در ارتفاعات مختلف احتمالاً به یکنواختی توزیع عمقی کربن کمک می‌کند. اگر نسبت ریشه به اندام هوایی (root:shoot) و الگوی عمقی ریشه در امتداد گرادیان مشابه باشند، تخصیص نسبی ورودی‌های کربن در اعماق مختلف ثابت باقی می‌ماند؛ حتی اگر مقدار کل ورودی‌ها تغییر کند (Canadell et al., 1996). این موضوع با مشاهداتی پشتیبانی می‌شود که نشان می‌دهد مقادیر مطلق ذخایر کربن با ارتفاع تغییر می‌کند، اما توزیع نسبی آن با عمق ثابت است. تفاوت بین روش FD و روش ESM در تعیین نسبت کربن سطحی به کربن زیرسطحی، پیامدهای روش‌شناختی مهمی دارد. روش FD معمولاً سهم لایه سطحی را کمتر برآورد می‌کند. این موضوع ممکن است باعث شود اهمیت اقدامات مدیریتی برای حفاظت از خاک سطحی دست‌کم گرفته شود (Powlson et al., 2011). از آنجا که خاک‌های سطحی نسبت به فرسایش و تخریب آسیب‌پذیرتر هستند، ارزیابی دقیق ذخیره‌سازی کربن آن‌ها برای تدوین راهبردهای حفاظتی ضروری است (Montgomery, 2007).

کنترل‌کننده‌های محیطی و یکپارچه‌سازی عملکرد اکوسیستم

ادغام عوامل مؤثر مانند عمق خاک، ارتفاع، و روش برآورد ذخیره کربن آلی در این مطالعه، چارچوبی جامع برای درک الگوهای ذخیره‌سازی کربن در اکوسیستم‌های کوهستانی فراهم کرده است. شناسایی مکرر عمق خاک و ارتفاع به‌عنوان عوامل اصلی تعیین‌کننده ذخایر کربن آلی، در هر دو روش اندازه‌گیری، نشان‌دهنده پایداری و اعتبار این کنترل‌کننده‌های محیطی است (Tashi et al., 2016). با این حال، دقت بیشتر روش ESM در شناسایی تأثیر ارتفاع، اهمیت انتخاب روش مناسب را در مطالعات مربوط به گرادیان‌های محیطی برجسته می‌کند (Guo and Gifford, 2002). اثر معنادار "بلوک" که در هر دو روش برآورد مشاهده شده، نشان می‌دهد که ذخایر کربن آلی خاک در مقیاس مکانی کوچک نیز به‌طور محسوسی متغیر هستند. این تغییرپذیری مکانی احتمالاً ناشی از تفاوت‌های محلی در توپوگرافی، زهکشی، پوشش گیاهی و ویژگی‌های خاک است که همگی بر دینامیک کربن تأثیر می‌گذارند (Yoo et al., 2006). بنابراین، درک این ناهمگنی فضایی نشان می‌دهد که طراحی نمونه‌برداری باید با دقت مکانی بالا و با توجه به تنوع محیطی در مقیاس‌های مختلف انجام شود (Mishra et al., 2010). رابطه‌ی مشاهده‌شده بین میزان بارندگی و ذخایر کربن آلی خاک نیز پیامدهای مهمی دارد. این رابطه نشان می‌دهد که تغییرات اقلیمی می‌توانند ذخیره‌سازی کربن را در اکوسیستم‌های کوهستانی تحت تأثیر قرار دهند (Schoor et al., 2008). در صورت تغییر الگوهای بارندگی، مناطق ارتفاعی که بیشترین تجمع کربن را دارند نیز ممکن است جابه‌جا شوند. این جابه‌جایی می‌تواند ظرفیت کلی ذخیره‌سازی کربن در اکوسیستم‌های کوهستانی را دگرگون سازد (Rustad et al., 2001). درک این روابط برای پیش‌بینی واکنش اکوسیستم به تغییرات محیطی و همچنین برای تدوین راهبردهای مدیریتی سازگار با شرایط جدید، ضروری است (Smith, 2008).

تأثیر عمق و ارتفاع بر فعالیت آنزیمی خاک‌های جنگلی منطقه مورد مطالعه

تأثیر عمق خاک بر فعالیت آنزیمی

نتایج نشان داد که فعالیت اغلب آنزیم‌های برون‌سلولی خاک، از جمله سلولاز، فسفاتاز اسیدی و قلیایی، β -گلوکوزیداز، اوره‌آز و آریل سولفاتاز، با افزایش عمق به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد. این کاهش عمدتاً به دلیل کاهش ورودی مواد آلی تازه، افت زیست‌توده میکروبی و محدودیت در تهویه لایه‌های عمیق‌تر خاک است (Stone et al., 2014). بر اساس نتایج کمی، فعالیت β -گلوکوزیداز و آریل سولفاتاز از سطح تا عمق ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر حدود ۷۱٪، سلولاز ۸۱٪، فسفاتاز اسیدی ۵۹٪، فسفاتاز قلیایی ۶۶٪ و اوره‌آز ۵۰٪ کاهش یافت. این روند نشان می‌دهد که تمرکز اصلی فعالیت آنزیمی در افق‌های سطحی خاک است؛ جایی که تجمع ماده آلی، ترشحات ریشه‌ای و حضور میکروارگانیسم‌ها بیشینه است (Sinsabaugh et al., 2009). در مقابل، فعالیت DHA — که یک آنزیم درون‌سلولی مرتبط با فرایندهای تنفسی میکروب‌ها و انتقال الکترون است — با افزایش عمق افزایش نشان داد. این افزایش در طبقات ارتفاعی پایین‌تر برجسته‌تر بود؛ به‌گونه‌ای که در طبقه ارتفاعی ۶۰۰-۰ متر ۴۹ برابر، در ۱۲۰۰-۶۰۰ متر ۲۹ برابر، در ۱۸۰۰-۱۲۰۰ متر ۱۷ برابر و در ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر ۱۵ برابر بیشتر از سطح خاک ثبت شد. این نتایج نشان می‌دهد که علی‌رغم کاهش کربن آلی خاک (SOC) در لایه‌های عمیق، میکروارگانیسم‌ها به دلیل محدودیت اکسیژن و شرایط تهویه نامطلوب، مسیرهای متابولیکی جایگزین را فعال کرده و از این رو فعالیت DHA افزایش می‌یابد. بنابراین، همبستگی منفی میان DHA و SOC حاصل اثر عمق خاک است و لزوماً نشانگر رابطه علت و معلولی

مستقیم نمی‌باشد (Tunlid and White, 2021).

تأثیر ارتفاع بر فعالیت آنزیمی

بررسی تغییرات فعالیت آنزیمی در گرادیان ارتفاعی نشان داد که بسته به نوع آنزیم الگوها متفاوت هستند. فعالیت سلولاز و فسفاتازها با افزایش ارتفاع به‌طور پیوسته کاهش یافت. این کاهش احتمالاً ناشی از دمای پایین‌تر، کاهش نرخ تجزیه بقایای گیاهی پیچیده و محدودیت انرژی میکروبی در ارتفاعات بالا است (Stone et al., 2014). در مقابل، فعالیت β -گلوکوزیداز، اوره‌از و آریل سولفاتاز با افزایش ارتفاع افزایش نشان داد. این افزایش می‌تواند نتیجه‌ی شستشوی بیشتر نیتروژن و گوگرد به شکل یون‌های نیترات و سولفات در اثر بارندگی بالاتر، افزایش نیاز میکروبی به این عناصر و دسترسی بهتر به کربن محلول و نیمه‌محلول در ارتفاعات باشد (Sinsabaugh et al., 2008; Margalef et al., 2017). به طور کلی، این نتایج نشان می‌دهد که آنزیم‌های حساس به دما و انرژی مانند سلولاز و فسفاتاز در ارتفاعات کاهش می‌یابند، در حالی که آنزیم‌های مرتبط با چرخه عناصر غذایی S و N و کربن محلول افزایش پیدا می‌کنند. بنابراین، گروه‌های آنزیمی مختلف حساسیت‌های متفاوتی نسبت به تغییرات اقلیمی و گرادیان‌های محیطی نشان می‌دهند (Koch et al., 2007).

پیامدهای بوم‌شناختی و کاربردی

یافته‌های این مطالعه بیانگر آن است که افق‌های سطحی خاک نقشی کلیدی در پویایی بیوشیمیایی دارند و حفاظت از آن‌ها در برابر فرسایش و تخریب برای حفظ کارکرد اکوسیستم‌های جنگلی ضروری است (Sinsabaugh et al., 2009). علاوه بر این، تغییرات ارتفاعی فعالیت آنزیم‌ها نشان‌دهنده‌ی اثر چندبعدی عوامل محیطی مانند دما، بارندگی و پوشش گیاهی است که می‌تواند برخی مسیرهای آنزیمی را تقویت و برخی دیگر را مهار کند (Steinweg et al., 2013). از دیدگاه کاربردی، این نتایج تأکید می‌کند که برای پایش دقیق فعالیت زیستی و سلامت خاک باید در پروتکل‌های نمونه‌برداری، عمق و ارتفاع به‌طور همزمان لحاظ شود (Egamberdieva et al., 2010). افزون بر این، به دلیل ارتباط قوی میان فعالیت آنزیمی و ذخایر کربن آلی خاک، می‌توان از آزمون‌های آنزیمی به‌عنوان شاخص‌های مطمئن برای بررسی سلامت خاک و پویایی ماده آلی بهره برد (Merino et al., 2016). رفتار متمایز DHA نیز نشان می‌دهد که برای ارزیابی جامع‌تر فرآیندهای بیوشیمیایی باید از طیف متنوعی از آزمون‌های آنزیمی استفاده شود (Pan et al., 2023). در مجموع، فعالیت‌های آنزیمی خاک را می‌توان شاخص‌هایی حساس، یکپارچه و کاربردی دانست که تعاملات پیچیده میان ویژگی‌های خاک، شرایط محیطی و دینامیک میکروبی را بازتاب می‌دهند و نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای بیوشیمیایی و پایداری عملکرد اکوسیستم‌های زمینی دارند (Schimel and Schaeffer, 2012).

نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد که هر دو عامل عمق خاک و ارتفاع از سطح دریا به‌طور متقابل و معناداری بر ذخیره کربن آلی خاک (SOCs) و فرآیندهای بیوشیمیایی در جنگل‌های کوهستانی مؤثر هستند. مقایسه دو روش عمق ثابت (FD) و جرم معادل خاک (ESM) نشان داد که گرچه هر دو روش روند مشابهی از تغییرات SOCها را آشکار می‌سازند، روش ESM از دقت بالاتری برخوردار است ($CV = 2.61\%$ در مقابل $CV = 3.65\%$). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، مقدار SOCها با افزایش ارتفاع ۱/۱۴ برابر افزایش یافت؛ به‌طوری‌که از ۴۹۴/۳۵ تن در هکتار در پایین‌ترین طبقه ارتفاعی (۰-۶۰۰ متر) به ۵۶۳/۴۸ تن در هکتار در بالاترین طبقه ارتفاعی (۲۴۰-۱۸۰۰ متر) رسید. در مقابل، افزایش عمق خاک موجب کاهش قابل‌توجه SOCها شد؛ به‌گونه‌ای که در روش FD، مقدار SOCها از لایه سطحی (۰-۲۰ سانتی‌متر) به لایه عمقی (۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر) حدود ۷۰٪ کاهش نشان داد. فعالیت آنزیمی نیز تغییرات معناداری در واکنش به عمق و ارتفاع داشت. فعالیت β -گلوکوزیداز، اوره‌از و آریل سولفاتاز با افزایش عمق به‌ترتیب ۷۱٪، ۵۰٪ و ۷۱٪ کاهش و هم‌زمان با افزایش ارتفاع به‌ترتیب ۱۹٪، ۱۵٪ و ۴٪ افزایش یافت. در مقابل، فعالیت سلولاز، فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی با افزایش هر دو عامل عمق و ارتفاع کاهش یافت (به‌ترتیب ۸۱٪، ۵۹٪ و ۶۶٪ کاهش با عمق). فعالیت متمایز دهیدروژناز (DHA) که برخلاف سایر آنزیم‌ها با افزایش عمق - به‌ویژه در طبقات ارتفاعی پایین - تا ۴۹ برابر افزایش نشان داد، بیانگر وجود سازوکارهای متابولیکی ویژه میکروبی در لایه‌های زیرسطحی خاک با محدودیت اکسیژن و کربن است. تحلیل همبستگی پیرسون نیز تأیید کرد که SOCها با β -گلوکوزیداز ($r = 0.96$)، اوره‌از ($r = 0.97$) و کربن زیست‌توده میکروبی ($r = 0.99$) رابطه مثبت و معناداری دارد، در حالی که این رابطه با DHA منفی ($r = -0.92$ ، $R^2 = 0.83$) بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که تغییرات فعالیت آنزیمی به‌طور مستقیم با تغییرپذیری SOCها در ارتباط است و الگوهای مشاهده‌شده در عمق و

ارتفاع را پشتیبانی می‌کند. به‌رغم تغییرات مطلق SOCها در امتداد گرادیان ارتفاعی، سهم نسبی لایه سطحی (۲۰-۰ سانتی‌متر) از کربن آلی کل پروفیل خاک، در تمامی طبقات ارتفاعی، پایدار و حدود ۳۳٪ باقی ماند. این پایداری احتمالاً ناشی از نقش پوشش گیاهی و توسعه ریشه در کنترل و تخصیص کربن در پروفیل خاک است. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در ارزیابی SOCها و مدل‌سازی چرخه کربن باید اثرات هم‌زمان ارتفاع و عمق خاک در نظر گرفته شوند. افزون بر این، روش ESM و پروفایل‌برداری آنزیمی ابزارهایی حساس و کارآمد برای پایش تغییرپذیری کربن و واکنش عملکردی خاک به گرادیان‌های محیطی هستند؛ موضوعی که باید در مدل‌های ذخیره‌سازی کربن و راهبردهای مدیریت پایدار اکوسیستم‌های کوهستانی، به‌ویژه در شرایط تغییر اقلیم، مد نظر قرار گیرد.

REFERENCES

- Afreen, T., Singh, H., & Singh, J. S. (2019). Influence of changing patterns of precipitation and temperature on tropical soil ecosystem. *Tropical ecosystems: Structure, functions and challenges in the face of global change*, 11-26. https://doi.org/10.1007/978-981-13-8249-9_2
- Anderson, J. P., & Domsch, K. H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil biology and biochemistry*, 10 (3), 215-221. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)
- Barry, R. G. (2008). *Mountain weather and climate* (pp. xxiv+-506). <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20093032476>
- Batjes, N. H. (1996). Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European journal of soil science*, 47(2), 151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.1996.tb01386.x>
- Batjes, N. H. (2014). Total carbon and nitrogen in the soils of the world. *European journal of soil science*, 65 (1), 10-21. https://doi.org/10.1111/ejss.12114_2
- Bell, C. W., Fricks, B. E., Rocca, J. D., Steinweg, J. M., McMahon, S. K., & Wallenstein, M. D. (2013). High-throughput fluorometric measurement of potential soil extracellular enzyme activities. *Journal of visualized experiments: JoVE*, (81), 50961. <https://doi.org/10.3791/50961>
- Blake, G. R. (1965). Bulk density. *Methods of soil analysis: Part 1 physical and mineralogical properties, including statistics of measurement and sampling*, 9, 374-390. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.1.c30>
- Canadell, J., Jackson, R. B., Ehleringer, J. B., Mooney, H. A., Sala, O. E., & Schulze, E. D. (1996). Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. *Oecologia*, 108, 583-595. <https://doi.org/10.1007/BF00329030>
- Conant, R. T., Ryan, M. G., Ågren, G. I., Birge, H. E., Davidson, E. A., Eliasson, P. E., ... & Bradford, M. A. (2011). Temperature and soil organic matter decomposition rates—synthesis of current knowledge and a way forward. *Global change biology*, 17 (11), 3392-3404. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02496.x>
- Cotrufo, M. F., Wallenstein, M. D., Boot, C. M., Denef, K., & Paul, E. (2013). The Microbial Efficiency-Matrix Stabilization (MEMS) framework integrates plant litter decomposition with soil organic matter stabilization: do labile plant inputs form stable soil organic matter?. *Global change biology*, 19 (4), 988-995. <https://doi.org/10.1111/gcb.12113>
- Crowther, T. W., Todd-Brown, K. E., Rowe, C. W., Wieder, W. R., Carey, J. C., Machmuller, M. B., ... & Bradford, M. A. (2016). Quantifying global soil carbon losses in response to warming. *Nature*, 540 (7631), 104-108. <https://doi.org/10.1038/nature20150>
- Djukic, I., Zehetner, F., Tatzber, M., & Gerzabek, M. H. (2010). Soil organic-matter stocks and characteristics along an Alpine elevation gradient. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 173 (1), 30-38. <https://doi.org/10.1002/jpln.200900027>
- Don, A., Rödenbeck, C., & Gleixner, G. (2013). Unexpected control of soil carbon turnover by soil carbon concentration. *Environmental Chemistry Letters*, 11, 407-413. <https://doi.org/10.1007/s10311-013-0433-3>
- Egamberdieva, D., Renella, G., Wirth, S., & Islam, R. (2010). Enzyme activities in the rhizosphere of plants. In *Soil enzymology* (pp. 149-166). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-14225-3_8
- Fierer, N., & Jackson, R. B. (2006). The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103 (3), 626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>
- Garcia, C., Hernandez, T., & Costa, F. (1997). Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communications in soil science and plant analysis*, 28 (1-2), 123-134. <https://doi.org/10.1080/00103629709369777>
- Garcia-Pausas, J., Casals, P., Camarero, L., Hugué, C., Sebastia, M. T., Thompson, R., & Romanya, J. (2007). Soil organic carbon storage in mountain grasslands of the Pyrenees: effects of climate and topography. *Biogeochemistry*, 82, 279-289. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9071-9>



- García-Palacios, P., Vandegehuchte, M. L., Shaw, E. A., Dam, M., Post, K. H., Ramirez, K. S., ... & Wall, D. H. (2015). Are there links between responses of soil microbes and ecosystem functioning to elevated CO₂, N deposition and warming? A global perspective. *Global Change Biology*, 21 (4), 1590-1600. <https://doi.org/10.1111/gcb.12788>
- Gholami, R. (2019). Mineralogical evolution of Inceptisols and Alfisols at two elevation levels in Arasbaran forests [Master's thesis, University of Tabriz].
- Goidts, E., Van Wesemael, B., & Crucifix, M. (2009). Magnitude and sources of uncertainties in soil organic carbon (SOC) stock assessments at various scales. *European Journal of Soil Science*, 60 (5), 723-739. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2009.01157.x>
- Guo, M., Zhao, B., Wen, Y., Hu, J., Dou, A., Zhang, Z., ... & Zhu, J. (2022). Elevational pattern of soil organic carbon release in a Tibetan alpine grassland: Consequence of quality but not quantity of initial soil organic carbon. *Geoderma*, 428, 116148. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2022.116148>
- Guo, L. B., & Gifford, R. M. (2002). Soil carbon stocks and land use change: a meta analysis. *Global change biology*, 8 (4), 345-360. <https://doi.org/10.1046/j.1354-1013.2002.00486.x>
- Gutiérrez-Girón, A., Díaz-Pinés, E., Rubio, A., & Gavilán, R. G. (2015). Both altitude and vegetation affect temperature sensitivity of soil organic matter decomposition in Mediterranean high mountain soils. *Geoderma*, 237, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.08.005>
- Hagedorn, F., Moeri, A., Walthert, L., & Zimmermann, S. (2010). Kohlenstoff in Schweizer Waldböden—bei Klimaerwärmung eine potenzielle CO₂-Quelle| Soil organic carbon in Swiss forest soils—a potential CO₂ source in a warming climate. *Schweizerische Zeitschrift für Forstwesen*, 161 (12), 530-535. <https://doi.org/10.3188/szf.2010.0530>
- Hofmann, E. (1965). Urease. In *Methods of enzymatic analysis* (pp. 913-916). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50163-8>
- Huluka, G., & Miller, R. (2014). Particle size determination by hydrometer method. *Southern Cooperative Series Bulletin*, 419, 180-184. <https://aesl.ces.uga.edu/sera6/PUB/MethodsManualFinalSERA6.pdf#page=188>
- Ippc, I. P. C. C. (2006). Guidelines for national greenhouse gas inventories. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. Eggleston HS, Buendia L, Miwa K, Ngara T, Tanabe K, editors. Published: IGES, Japan. https://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/meeting/pdfiles/Washington_Report.pdf
- Jackson, R. B., Lajtha, K., Crow, S. E., Hugelius, G., Kramer, M. G., & Piñeiro, G. (2017). The ecology of soil carbon: pools, vulnerabilities, and biotic and abiotic controls. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 48 (1), 419-445. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054234>
- Kallenbach, C. M., Grandy, A. S., Frey, S. D., & Diefendorf, A. F. (2015). Microbial physiology and necromass regulate agricultural soil carbon accumulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 91, 279-290. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.09.005>
- Kleber, M., Sollins, P., & Sutton, R. (2007). A conceptual model of organo-mineral interactions in soils: self-assembly of organic molecular fragments into zonal structures on mineral surfaces. *Biogeochemistry*, 85, 9-24. <https://doi.org/10.1007/s10533-007-9103-5>
- Koch, O., Tschirko, D., & Kandeler, E. (2007). Temperature sensitivity of microbial respiration, nitrogen mineralization, and potential soil enzyme activities in organic alpine soils. *Global Biogeochemical Cycles*, 21 (4). <https://doi.org/10.1029/2007GB002983>
- Kong, J., He, Z., Chen, L., Zhang, S., Yang, R., & Du, J. (2022). Elevational variability in and controls on the temperature sensitivity of soil organic matter decomposition in alpine forests. *Ecosphere*, 13 (4), e4010. <https://doi.org/10.1002/ecs2.4010>
- Kögel-Knabner, I., Guggenberger, G., Kleber, M., Kandeler, E., Kalbitz, K., Scheu, S., ... & Leinweber, P. (2008). Organo-mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 171 (1), 61-82. <https://doi.org/10.1002/jpln.200700048>
- Körner, C. (2007). The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in ecology & evolution*, 22 (11), 569-574. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.09.006>
- Lehmann, J., & Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528 (7580), 60-68. <https://doi.org/10.1038/nature16069>
- Leifeld, J., & Fuhrer, J. (2005). The temperature response of CO₂ production from bulk soils and soil fractions is related to soil organic matter quality. *Biogeochemistry*, 75, 433-453. <https://doi.org/10.1007/s10533-005-2237-4>
- Li, X., Xie, J., Zhang, Q., Lyu, M., Xiong, X., Liu, X., ... & Yang, Y. (2020). Substrate availability and soil microbes drive temperature sensitivity of soil organic carbon mineralization to warming along an elevation gradient in subtropical Asia. *Geoderma*, 364, 114198.

- <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114198>
- Lloyd, J., & Taylor, J. A. (1994). On the temperature dependence of soil respiration. *Functional ecology*, 315-323. <https://doi.org/10.2307/2389824>
- Luo, Z., Feng, W., Luo, Y., Baldock, J., & Wang, E. (2017). Soil organic carbon dynamics jointly controlled by climate, carbon inputs, soil properties and soil carbon fractions. *Global change biology*, 23 (10), 4430-4439. <https://doi.org/10.1111/gcb.13767>
- Mathieu, J. A., Hatté, C., Balesdent, J., & Parent, É. (2015). Deep soil carbon dynamics are driven more by soil type than by climate: a worldwide meta-analysis of radiocarbon profiles. *Global change biology*, 21 (11), 4278-4292. <https://doi.org/10.1111/gcb.13012>
- Margalef, O., Sardans, J., Fernández-Martínez, M., Molowny-Horas, R., Janssens, I. A., Ciais, P., ... & Penuelas, J. (2017). Global patterns of phosphatase activity in natural soils. *Scientific reports*, 7 (1), 1337. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01418-8>
- Martín, M. Á., Reyes, M., & Taguas, F. J. (2017). Estimating soil bulk density with information metrics of soil texture. *Geoderma*, 287, 66-70. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2016.09.008>
- Merino, C., Godoy, R., & Matus, F. (2016). Soil enzymes and biological activity at different levels of organic matter stability. *Journal of soil science and plant nutrition*, 16 (1), 14-30. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000002>
- Mishra, U., Ussiri, D. A., & Lal, R. (2010). Tillage effects on soil organic carbon storage and dynamics in Corn Belt of Ohio USA. *Soil and Tillage Research*, 107 (2), 88-96. <https://doi.org/10.1016/j.still.2010.02.005>
- Montgomery, D. R. (2007). Soil erosion and agricultural sustainability. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104 (33), 13268-13272. <https://doi.org/10.1073/pnas.0611508104>
- Nogués-Bravo, D., Araújo, M. B., Errea, M. P., & Martínez-Rica, J. P. (2007). Exposure of global mountain systems to climate warming during the 21st Century. *Global environmental change*, 17 (3-4), 420-428. <https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2006.11.007>
- Öhlinger, H., & Von Mersi, W. (1996). Enzymes involved in intracellular metabolism. In *Methods in soil biology* (pp. 235-245). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-60966-4_15
- Pan, Y., Yu, S. S., Xiao, Z. C., Min, Y., Tian, T., Zheng, Y. M., ... & Yu, H. Q. (2023). Re-evaluation and modification of dehydrogenase activity tests in assessing microbial activity for wastewater treatment plant operation. *Water Research*, 246, 120737. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120737>
- Paustian, K., Lehmann, J., Ogle, S., Reay, D., Robertson, G. P., & Smith, P. (2016). Climate-smart soils. *Nature*, 532 (7597), 49-57. <https://doi.org/10.1038/nature17174>
- Powlson, D. S., Whitmore, A. P., & Goulding, K. W. (2011). Soil carbon sequestration to mitigate climate change: a critical re-examination to identify the true and the false. *European journal of soil science*, 62 (1), 42-55. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2389.2010.01342.x>
- Prescott, C. E. (2010). Litter decomposition: what controls it and how can we alter it to sequester more carbon in forest soils?. *Biogeochemistry*, 101, 133-149. <https://doi.org/10.1007/s10533-010-9439-0>
- Raffeld, A. M., Bradford, M. A., Jackson, R. D., Rath, D., Sanford, G. R., Tautges, N., & Oldfield, E. E. (2024). The importance of accounting method and sampling depth to estimate changes in soil carbon stocks. *Carbon Balance and Management*, 19 (1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13021-024-00249-1>
- Rezaei, H., Jsfarzadeh, A. A., Alijanpour, A., Shahbazi, F., & Valizadeh Kamran, K. (2017). Genetically evolution of Arasbaran forests soils along altitudinal transects of Kaleybar Chai Sofla Sub-Basin. *Water and Soil Science*, 26 (4.1), 151-166. https://water-soil.tabrizu.ac.ir/article_5864.html?lang=en
- Rezaei, H., Jafarzadeh, A. A., Alijanpour, A., Shahbazi, F., & Valizadeh Kamran, K. (2020). Soil Organic Matter Condition in Forest Stands of Arasbaran. *Water and Soil*, 34 (1), 115-127. <https://doi.org/10.22067/jsw.v34i1.80633>
- Rumpel, C., & Kögel-Knabner, I. (2011). Deep soil organic matter—a key but poorly understood component of terrestrial C cycle. *Plant and soil*, 338, 143-158. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0391-5>
- Rustad, L. E. J. L., Campbell, J., Marion, G., Norby, R., Mitchell, M., Hartley, A., ... & Gcte-News. (2001). A meta-analysis of the response of soil respiration, net nitrogen mineralization, and aboveground plant growth to experimental ecosystem warming. *Oecologia*, 126, 543-562. <https://doi.org/10.1007/s004420000544>
- Schimel, J. P., & Schaeffer, S. M. (2012). Microbial control over carbon cycling in soil. *Frontiers in microbiology*, 3, 348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00348>
- Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., & Margesin, R. (1996). Enzymes involved in carbon metabolism. In *Methods in Soil Biology* (pp. 185-207). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-60966-4_12



- Schmidt, M. W., Torn, M. S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I. A., ... & Trumbore, S. E. (2011). Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 478 (7367), 49-56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Schuur, E. A., Bockheim, J., Canadell, J. G., Euskirchen, E., Field, C. B., Goryachkin, S. V., ... & Zimov, S. A. (2008). Vulnerability of permafrost carbon to climate change: Implications for the global carbon cycle. *BioScience*, 58 (8), 701-714. <https://doi.org/10.1641/B580807>
- Sinsabaugh, R. L., Lauber, C. L., Weintraub, M. N., Ahmed, B., Allison, S. D., Crenshaw, C., ... & Zeglin, L. H. (2008). Stoichiometry of soil enzyme activity at global scale. *Ecology letters*, 11 (11), 1252-1264. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01245.x>
- Sinsabaugh, R. L., Hill, B. H., & Follstad Shah, J. J. (2009). Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature*, 462 (7274), 795-798. <https://doi.org/10.1038/nature08632>
- Smith, P. (2008). Land use change and soil organic carbon dynamics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 81, 169-178. <https://doi.org/10.1007/s10705-007-9138-y>
- Souza, C. R., Mariano, R. F., Maia, V. A., Pompeu, P. V., Dos Santos, R. M., & Fontes, M. A. L. (2023). Carbon stock and uptake in the high-elevation tropical montane forests of the threatened Atlantic Forest hotspot: Ecosystem function and effects of elevation variation. *Science of The Total Environment*, 882, 163503. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.163503>
- Steinweg, J. M., Dukes, J. S., Paul, E. A., & Wallenstein, M. D. (2013). Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. *Frontiers in microbiology*, 4, 146. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00146>
- Stockmann, U., Adams, M. A., Crawford, J. W., Field, D. J., Henakaarchchi, N., Jenkins, M., ... & Zimmermann, M. (2013). The knowns, known unknowns and unknowns of sequestration of soil organic carbon. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 164, 80-99. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.10.001>
- Stone, M. M., DeForest, J. L., & Plante, A. F. (2014). Changes in extracellular enzyme activity and microbial community structure with soil depth at the Luquillo Critical Zone Observatory. *Soil Biology and Biochemistry*, 75, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.04.017>
- Sundqvist, M. K., Sanders, N. J., & Wardle, D. A. (2013). Community and ecosystem responses to elevational gradients: processes, mechanisms, and insights for global change. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 44 (1), 261-280. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110512-135750>
- Tashi, S., Singh, B., Keitel, C., & Adams, M. (2016). Soil carbon and nitrogen stocks in forests along an altitudinal gradient in the eastern Himalayas and a meta-analysis of global data. *Global change biology*, 22 (6), 2255-2268. <https://doi.org/10.1111/gcb.13234>
- Tunlid, A., & White, D. C. (2021). Biochemical analysis of biomass, community structure, nutritional status, and metabolic activity of microbial communities in soil. In *Soil biochemistry* (pp. 229-262). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003210207>
- VandenBygaart, A. J., & Angers, D. A. (2006). Towards accurate measurements of soil organic carbon stock change in agroecosystems. *Canadian Journal of Soil Science*, 86 (3), 465-471. <https://doi.org/10.4141/S05-106>
- Von Haden, A. C., Yang, W. H., & DeLucia, E. H. (2020). Soils' dirty little secret: Depth-based comparisons can be inadequate for quantifying changes in soil organic carbon and other mineral soil properties. *Global Change Biology*, 26 (7), 3759-3770. <https://doi.org/10.1111/gcb.15124>
- Walkley, A., & 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 (1), 29-38. <https://journals.lww.com/soilsci/toc/1934/01000>
- Wendt, J. W., & Hauser, S. (2013). An equivalent soil mass procedure for monitoring soil organic carbon in multiple soil layers. *European Journal of Soil Science*, 64 (1), 58-65. <https://doi.org/10.1111/ejss.12002>
- Wiesmeier, M., Burmeister, J., Garcia-Franco, N., & Süßmerer, M. (2024). Soil Organic Carbon and Nitrogen Changes in Agricultural Soils of Bavaria Between 1986 and 2016 as Driven by Management and Climate Change. Available at SSRN 4901937. <https://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4901937>
- Yoo, K., Amundson, R., Heimsath, A. M., & Dietrich, W. E. (2006). Spatial patterns of soil organic carbon on hillslopes: Integrating geomorphic processes and the biological C cycle. *Geoderma*, 130 (1-2), 47-65. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2005.01.008>
- Zhang, R., & Wienhold, B. J. (2002). The effect of soil moisture on mineral nitrogen, soil electrical conductivity, and pH. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, 63, 251-254. <https://doi.org/10.1023/A:1021115227884>