تحقیقات آب و خاک ایران | دوره ۵۲ | شماره ۱۲ | اسفند ۱۴۰۰ (ص ۳۱۲۳-۳۱۰۹)

https://dx.doi.org/10.22059/ijswr.2022.335043.669151

(مقاله علمی - پژوهشی)

Effect of Soil Depth and Altitude on the Activity of Different Enzymes in Forest Soils of Arasbaran Region

ELHAM JOZDAEMI[1*], AHMAD GOLCHIN[1]

1. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran.

(Received: Dec. 4, 2021- Revised: Jan. 2, 2022- Accepted: Jan. 4, 2022)

ABSTRACT

Soil enzymes are considered as the effective indicators of soil quality. In the present study, the activity of some soil enzymes, including β-glucosidase, urease, cellulase, arylsulfatase, dehydrogenase, and acidic and alkaline phosphatase was investigated in Arasbaran forest soils affected by two factors of altitude and soil depth. For this purpose, a factorial experiment was conducted using a randomized complete block design and three replications. Enzyme activity was measured in soil samples taken from different soil depths (0–20, 20–40, 40–60, 60–80, and 80–100 cm) at various altitudes (0–600, 600–1200, 1200–1800, and 1800–2400 m) on a northern aspect. The results showed significant effects of soil depth, and altitude on the activity of the enzymes studied, but the reaction of different enzymes to these factors was not the same. The highest activity of urease, β-glucosidase, cellulase, arylsulfatase, and acidic and alkaline phosphatases was measured at the surface layer (0–20 cm) of the soils, which on average decreased by 50, 81, 71, 71, 59, and 66% as soil depth increased, respectively. However, dehydrogenase activity increased by 15 to 43 times with increasing soil depth. Additionally, with the increase in altitude from 0–600 to 1800–2400 m, while the activity of urease, arylsulfatase, and β-glucosidase increased on average by 1.15, 1.4, and 1.19 times, the activity of cellulase, and acidic and alkaline phosphatases decreased by 26, 10.4, and 9.6%, respectively. But, the effect of altitude on the dehydrogenase activity was not significant. The results also showed a significant positive correlation ($P \leq 0.01$) between organic carbon and microbial biomass carbon, and the activity of all studied enzymes except dehydrogenase. Findings of this study reveal how the activity of different soil enzymes changes with two factors of soil depth and altitude.

Keywords: Soil Enzymes, Climate Factors, Organic Carbon, Microbial Biomass Carbon.

*Corresponding Author's Email: E.jozdaemi@znu.ac.ir

اثر عمق خاک و ارتفاع منطقه بر فعالیت آنزیم‌های مختلف در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران

الهام جزدائمی[1*]، احمد گلچین[1]

۱. گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۹/۱۳- تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۱۰/۱۲- تاریخ تصویب: ۱۴۰۰/۱۰/۱۴)

چکیده

آنزیم‌های خاک شاخص‌های مؤثری از کیفیت خاک محسوب می‌شوند. در پژوهش حاضر، فعالیت برخی آنزیم‌های خاک شامل اوره‌آز، بتاگلوکوزیداز، سلولاز، آریل‌سولفاتاز، دهیدروژناز و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران تحت‌تأثیر دو عامل ارتفاع منطقه و عمق خاک مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فعالیت آنزیم‌های خاک در نمونه‌های برداشت‌شده از عمق‌های مختلف خاک (۲۰-۰، ۴۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۶۰ و ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متری) در ارتفاعات مختلف (۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری) و در شیب شمالی منطقه اندازه‌گیری شد. نتایج نشان‌دهنده اثر معنی‌دار عمق خاک و ارتفاع بر فعالیت آنزیم‌های موردمطالعه بود؛ هرچند، عکس‌العمل آنزیم‌های مختلف به این عوامل یکسان نبود. بیشترین فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، بتاگلوکوزیداز، سلولاز، آریل‌سولفاتاز و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در لایه سطحی خاک (۲۰-۰ سانتی‌متری) اندازه‌گیری شد که به ترتیب با افزایش عمق به طور میانگین ۵۰، ۷۱، ۸۱، ۷۱، ۵۹ و ۶۶ درصد کاهش یافت. اما، فعالیت آنزیم دهیدروژناز با افزایش عمق ۱۵ تا ۴۳ برابر افزایش یافت. بعلاوه، با افزایش ارتفاع از ۶۰۰-۰ تا ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری، درحالی‌که به طور متوسط فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، آریل‌سولفاتاز و بتاگلوکوزیداز به ترتیب ۱/۱۵، ۱/۴ و ۱/۱۹ برابر افزایش یافت، فعالیت آنزیم‌های سلولاز و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی به ترتیب ۲۶، ۱۰/۴ و ۹/۶ درصد کاهش یافت. اما، اثر ارتفاع بر فعالیت دهیدروژناز معنی‌دار نبود. نتایج همچنین حاکی از همبستگی مثبت و معنی‌دار ($P \leq 0.01$) کربن آلی و کربن زیست‌توده میکروبی با فعالیت تمام آنزیم‌های بررسی‌شده به‌جز دهیدروژناز بود. یافته‌های این پژوهش چگونگی تغییرات فعالیت آنزیم‌های مختلف با دو عامل عمق خاک و ارتفاع را آشکار می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های خاک، عوامل اقلیمی، کربن آلی، کربن زیست‌توده میکروبی.

مقدمه

فعالیت آنزیم‌های خاک بر عملکردهای میکروبی و بیوشیمیایی خاک تأثیرگذار هستند زیرا در تجزیه مواد آلی، ترسیب کربن، و فراهمی و چرخه مواد مغذی مشارکت دارند (Ou *et al.*, 2019; Mani *et al.*, 2021). عکس‌العمل سریع آنها به تغییر در مدیریت خاک سبب شده است تا آنزیم‌های خاک به‌عنوان شاخص‌های بالقوه ارزیابی کیفیت خاک به کار گرفته شوند (Jin *et al.*, 2009). به‌طورکلی، اندازه‌گیری فعالیت‌های آنزیمی اطلاعات جامعی درباره فرآیندهای بیوشیمیایی در خاک فراهم می‌کنند (Raiesi & Beheshti, 2014).

مهم‌ترین آنزیم‌های خاک، آنزیم‌هایی هستند که در چرخه‌های کربن، نیتروژن، فسفر و گوگرد مشارکت دارند. در این راستا، آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز، اوره‌آز و فسفاتاز اسیدی آنزیم‌های مهم در تجزیه مواد آلی و چرخه‌های کربن و نیتروژن هستند (Song *et al.*, 2019). در واقع، معدنی شدن و تغییر شکل مواد مغذی به‌وسیله آنزیم‌های میکروبی انجام می‌شود که ممکن است آنزیم‌های برون سلولی یا آنزیم‌های درون‌سلولی میکروبی باشند. آنزیم‌های برون سلولی به محیط خاک ترشح می‌شوند که در آنجا مواد مغذی آلی یا غیرآلی را تجزیه کرده و یا تغییر شکل داده تا به شکل قابل‌دسترس تبدیل شوند (Dotaniya et al., 2017). این آنزیم‌ها به‌طورکلی آنزیم‌های فعال خاک نامیده می‌شوند که برای نگهداشت حاصلخیزی و سلامت خاک و همچنین حفظ محیط‌زیست از طریق تخریب مولکول‌های آلاینده ضروری می‌باشند (Stirling *et al.*, 2016). ترکیب و مقدار آنزیم‌های فعال خاک و همچنین خود جامعه میکروبی در یک زمان مشخص، وضعیت فراهمی مواد مغذی و بنابراین سلامت خاک را تعیین می‌کند (Dotaniya *et al.*, 2019).

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که فعالیت آنزیمی خاک به تغییر در غلظت مواد آلی خاک در اکوسیستم‌های مختلف زمینی وابسته می‌باشد (Wallenius *et al.*, 2011) و افزایش مواد آلی

* نویسنده مسئول: E.jozdaemi@znu.ac.ir

خاک سبب افزایش فعالیت آنزیم‌ها می‌شود (Dotaniya et al., 2019). تجمع زیاد مواد آلی می‌تواند به‌آسانی از طریق فراهم نمودن طیف گسترده‌ای از بسترهای کربن و نیتروژن که قابل‌استفاده و جذب برای انواع مختلفی از گروه‌های میکروبی خاک باشد، سبب افزایش در فعالیت آنزیم‌های خاک شود (Cenini et al., 2016). بر اساس نتایج گزارش شده توسط بسیاری از محققان، بین میزان فعالیت آنزیم‌های مختلف و مقدار مواد آلی خاک ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود دارد. در این راستا، نتایج Błońska et al. (2017) نشان داد که از میان سه کاربری جنگل، اراضی کشاورزی و مرتع، میزان فعالیت آنزیم‌های دهیدروژناز و اوره‌آز در خاک‌های جنگل بیشترین مقدار بود که دلیل آن میزان بالای مواد آلی در این خاک‌ها نسبت به سایر کاربری‌ها بود. همچنین، مطالعات زیادی ارتباط مثبت و معنی‌دار بین کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های مختلف همچون اوره‌آز، فسفاتاز اسیدی، قلیایی و آریل‌سولفاتاز را گزارش کرده‌اند (Dick, 1994; Waldrop et al., 2000; Acosta-Martínez et al., 2003; Shi et al., 2008). در حقیقت، تمام این یافته‌ها بیانگر اهمیت کربن آلی در حفظ و نگهداری فعالیت آنزیمی خاک می‌باشند.

یکی از عوامل مؤثر بر جوامع میکروبی و در نتیجه فعالیت‌های آنزیمی خاک عمق خاک است (Liu et al., 2018). اغلب محققان رابطه معکوس بین فعالیت آنزیمی و عمق خاک را گزارش کرده‌اند (Zhang et al., 2015). در این راستا، یافته‌های Beheshti Al-Agha et al. (2011) حاکی از آن بود که عمق خاک اثر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و فسفاتاز قلیایی دارد؛ به‌طوری‌که با افزایش عمق، میزان فعالیت این آنزیم‌ها کاهش پیدا کرد. علاوه بر این، Acosta-Martínez et al. (2003) نیز کاهش فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با عمق خاک را گزارش کردند. دلیل کاهش فعالیت آنزیمی با افزایش عمق خاک عمدتاً به کاهش فعالیت بیولوژیکی در همه افق‌های خاک به سمت پایین نسبت‌داده‌شده است (Abbasian et al., 2015).

از دیگر عوامل مؤثر بر میزان فعالیت آنزیم‌های خاک، ارتفاع منطقه می‌باشد (Liu et al., 2008). اما، نتایج گزارش‌شده در مورد اثر ارتفاع منطقه بر میزان فعالیت آنزیم‌های خاک متفاوت می‌باشد. در واقع، بر اساس تحقیقات انجام‌شده، عامل ارتفاع منطقه می‌تواند از طریق تأثیر بر عواملی همچون دما، رطوبت خاک و pH هم سبب افزایش (Jang and Kang, 2010) و هم کاهش (Margesin et al., 2009) فعالیت آنزیم‌های خاک شود.

از سوی دیگر، مطالعات نشان می‌دهند که بین زیست‌توده میکروبی خاک و فعالیت آنزیم‌های خاک مانند بتاگلوکوزیداز، دهیدروژناز و فسفاتازهای اسیدی و قلیایی رابطه مستقیم وجود دارد (Chander et al., 1998; Salazar et al., 2011). در حقیقت، ارتباط مستقیمی بین مواد آلی خاک و میزان زیست‌توده میکروبی خاک گزارش شده است؛ به‌طوری‌که با افزایش کربن آلی خاک میزان کربن زیست‌توده میکروبی خاک و در نتیجه فعالیت آنزیمی آن افزایش می‌یابد (Bhople et al., 2019).

به‌طورکلی، ازآنجاکه آنزیم‌های خاک به‌عنوان شاخص‌های بالقوه برای ارزیابی فعالیت میکروبی و کیفیت خاک‌های جنگلی در نظر گرفته می‌شوند، شناخت هرچه بیشتر فعالیتشان در ارتفاعات و عمق‌های مختلف خاک می‌تواند به بهبود کیفیت و حاصلخیزی خاک کمک شایانی نماید؛ لذا، این پژوهش با هدف بررسی تغییرات فعالیت برخی آنزیم‌های مهم خاک تحت‌تأثیر دو عامل عمق خاک و ارتفاع منطقه در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه موردمطالعه

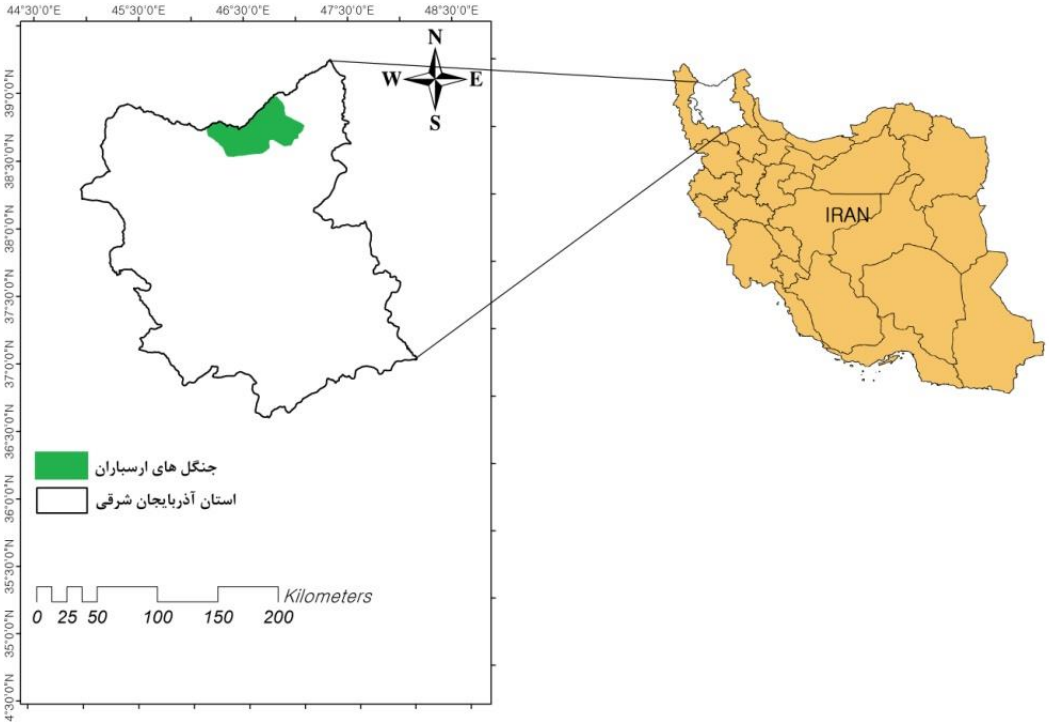
این پژوهش در جنگل‌های ناحیه ارسباران واقع در استان آذربایجان شرقی انجام شد. حوزه آبخیز ارسباران شمالی ۵۵۸۲۰۰ هکتار وسعت داشته و در موقعیت جغرافیایی ۴۵ درجه، ۵۱ دقیقه تا ۴۷ درجه، ۲۵ دقیقه طول شرقی و ۳۸ درجه، ۲۷ دقیقه تا ۳۹ درجه، ۲۵ دقیقه عرض شمالی واقع شده است (شکل ۱). به‌طورکلی، خاک‌های منطقه ارسباران کم‌عمق، سنگلاخی و با تحول کم هستند و از بافت متوسط (لوم شنی) تشکیل شده‌اند. بعلاوه، اقلیم این منطقه نیمه‌مرطوب معتدل گزارش شده است (Rezaei et al., 2020).

نمونه‌برداری خاک و اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی

برای بررسی تأثیر ارتفاع منطقه از سطح دریا و عمق خاک بر فعالیت آنزیم‌های مختلف در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران، در مرحله نمونه‌برداری، ابتدا از یک شیب شمالی در منطقه موردمطالعه چهار ارتفاع مختلف از سطح دریا شامل ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متر انتخاب شد. ویژگی‌های اقلیمی مربوط به هر دامنه ارتفاعی موردمطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش ارتفاع منطقه، دو عامل متوسط بارندگی و درجه حرارت سالیانه به ترتیب افزایش و کاهش‌یافته است؛ بنابراین، ارتفاعات بالاتر منطقه از دمای کمتر و میزان بارندگی بیشتری نسبت به ارتفاع‌های پایین‌تر برخوردار می‌باشند. سپس، در هر ارتفاع حدود ۱۵ هکتار از زمین را انتخاب و آن را به سه قسمت پنج هکتاری تقسیم کرده و هر قسمت به‌عنوان یک تکرار

در نظر گرفته شد. سپس در هر تکرار دو پروفیل حفر شد. در هر پروفیل از پنج عمق مختلف خاک شامل ۲۰-۰، ۴۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۶۰ و ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری انجام شد. سپس، خاک به‌دست‌آمده از اعماق مشابه پروفیل‌های یک تکرار با هم ترکیب شد و به‌عنوان نمونه‌های مرکب اعماق مختلف خاک در آن تکرار در نظر گرفته شد. براین‌اساس، جامعه آماری مورد بررسی در این پژوهش با احتساب چهار سطح ارتفاع منطقه و پنج سطح عمق نمونه‌برداری و سه تکرار، شامل ۶۰ تیمار بود.

پس از اتمام مرحله نمونه‌برداری، نمونه‌های خاک جمع‌آوری‌شده به آزمایشگاه منتقل شد. در آزمایشگاه، نمونه‌های خاک پس از هوا خشک‌شدن، از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و به‌منظور تعیین برخی ویژگی‌های شیمیایی، بیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های مختلف خاک مورداستفاده قرار گرفت. در آزمایشگاه، ویژگی‌های کربن آلی خاک به روش Walkley and Black (1934)، واکنش خاک (pH) طبق روش شرح داده شده توسط Carter and Gregorich (2008) و کربن زیست‌توده میکروبی به روش انکوباسیون نمونه تدخین‌شده با کلروفرم (Horwath and Paul, 1994) اندازه‌گیری شدند.



شکل ۱- موقعیت منطقه موردمطالعه در کشور و استان آذربایجان شرقی

جدول ۱- ویژگی‌های اقلیمی مربوط به ارتفاعات مورد بررسی در منطقه موردمطالعه

ارتفاع (متر)	متوسط بارندگی سالیانه (میلی‌متر)	درجه حرارت سالیانه	متوسط دمای گرم‌ترین ماه سال	متوسط دمای سردترین ماه سال	مینیمم مطلق دما
		(درجه سانتی‌گراد)			
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

اندازه‌گیری فعالیت مطلق آنزیمی

آنزیم بتاگلوکوزیداز

فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز به روش Strobl and Traunmuller (2012) تعیین شد. بدین منظور، ابتدا برای تهیه نمونه اصلی، حدود ۲۰ میلی‌لیتر بافر استات و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سوبسترا به پنج گرم از نمونه خاک اضافه گردید. سپس، برای تهیه نمونه شاهد، ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به پنج گرم از نمونه خاک افزوده شد. هر دو ترکیب به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند. سپس، پس از عبور از کاغذ صافی، سه میلی‌لیتر از ترکیب‌ها به داخل لوله سانتریفیوژ ریخته شد و به هر یک پنج میلی‌لیتر محلول بورات و ۰/۵ میلی‌لیتر عامل رنگی اضافه گردید. پس از آن، سوسپانسیون‌ها به مدت یک ساعت در دمای اتاق برای تولید رنگ نگه‌داری شدند. آن‌گاه شدت رنگ تولیدشده به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۷۸

نانومتر قرائت گردید. در نهایت، فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز از رابطه ۱ محاسبه شد:

(رابطه ۱)

$$\frac{(S-C)\times 30\times 40}{3\times 5}=\mu g\ saligenin.\ g^{-1}.3h^{-1}$$

که در آن، S: میانگین سالیجنین نمونه‌ها (میکروگرم)، C: میانگین سالیجنین شاهد (میکروگرم)، ۳۰: حجم محلول خوابانیده شده (میلی‌لیتر)، ۴۰: درجه رقت، ۳: حجم عصاره صاف شده (میلی‌لیتر)، و ۵: وزن خاک اولیه (گرم) است.

آنزیم سلولاز

به‌منظور تعیین فعالیت آنزیم سلولاز از روش Schinner and Von Mersi (1990) استفاده شد. در این روش برای تهیه نمونه اصلی، ابتدا حدود ۱۵ میلی‌لیتر محلول سوبسترا و ۱۵ میلی‌لیتر بافر استات با ۱۰ گرم از نمونه خاک مخلوط شد. سپس برای تهیه نمونه شاهد، حدود ۱۵ میلی‌لیتر بافر استات به ۱۰ گرم از نمونه خاک افزوده شد. ترکیب‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند. سپس، به نمونه شاهد ۱۵ میلی‌لیتر سوبسترا اضافه گردید. آن‌گاه هر دو سوسپانسیون صاف شده و یک میلی‌لیتر از هرکدام به‌صورت جداگانه به داخل لوله سانتریفیوژ ریخته شد و به هر یک به میزان یک میلی‌لیتر عامل A و یک میلی‌لیتر عامل B اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آبی قرار داده شدند. سپس، به آن‌ها پنج میلی‌لیتر عامل C اضافه گردید و ۶۰ دقیقه در دمای اتاق برای تولید رنگ نگه‌داری شدند. سرانجام، شدت رنگ تولیدشده با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۹۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم سلولاز از رابطه ۲ محاسبه گردید:

(رابطه ۲)

$$\frac{(S-C)\times 30\times 40}{10}=\mu g\ GE.\ g^{-1}.24h^{-1}$$

که در آن، S: میانگین گلوکز نمونه‌ها (میکروگرم)، C: میانگین گلوکز شاهد (میکروگرم)، ۳۰: حجم محلول خوابانیده‌شده (میلی‌لیتر)، ۴۰: درجه رقت، ۱۰: وزن خاک اولیه (گرم) است.

آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی

فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی به روش گزارش‌شده توسط Margesin (2012) اندازه‌گیری شد. در این روش ابتدا به‌منظور تهیه نمونه اصلی، یک میلی‌لیتر محلول نیتروفنیل فسفات به‌عنوان سوبسترا به یک گرم از نمونه خاک اضافه گردید. سپس، میزان چهار میلی‌لیتر محلول بافر (محلول بافر pH = 11 برای فسفاتازهای قلیایی و محلول بافر pH = 6.5 برای فسفاتازهای اسیدی) به آن اضافه و مخلوط شد. برای تهیه نمونه شاهد، حدود چهار میلی‌لیتر محلول بافر به یک گرم از نمونه خاک افزوده شد. سپس، هر دو ترکیب به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند. آن‌گاه به ترکیب‌ها حدود یک میلی-لیتر محلول کلرید کلسیم و چهار میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم اضافه و بعد از مخلوط شدن، شدت رنگ تولید شده با اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۰۰ نانومتر قرائت گردید. میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی از رابطه ۳ تعیین شد:

(رابطه ۳)

$$(S-C)\times 10=\mu g\ NP.g^{-1}.h^{-1}$$

که در آن، S: میانگین مقدار نیتروفنل در نمونه‌ها (میکروگرم)، C: میانگین مقدار نیتروفنل شاهد (میکروگرم)، ۱۰: حجم کل محلول (میلی‌لیتر) است.

آنزیم اوره‌آز

فعالیت آنزیم اوره‌آز به روش تقطیر تعیین شد (Ali Asgharzad, 2006). بدین منظور، حدود نه میلی‌لیتر بافر تریس و یک میلی-لیتر محلول اوره به پنج گرم از نمونه خاک تازه اضافه گردید. ترکیب به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شد. سپس، به آن ۳۵ میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. آن‌گاه ترکیب با کمک آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، ترکیب از کاغذ صافی عبور داده شد و حدود ۲۰ میلی‌لیتر از آن به بالن تقطیر اضافه شد و با ۰/۲ گرم اکسید منگنز ترکیب گردید. نیتروژن آمونیومی حاصله بر روی شناساگر اسید بوریک تقطیر شد. عمل تقطیر ۳/۳ دقیقه ادامه یافت و بعد از تغییر رنگ از ارغوانی به سبز، نیتروژن آمونیومی در محصولات تقطیر با کمک اسیدسولفوریک تعیین گردید. سپس، فعالیت آنزیم اوره‌آز از رابطه ۴ تعیین شد:

(رابطه ۴)

$$\frac{ml\times 0.07\times 50\times 1000\times 100}{20\times 5\times \%\ dm}=\mu g\ N.g^{-1}dm.2h^{-1}$$

که در آن، ml: حجم اسیدسولفوریک مصرفی (میلی‌لیتر)، ۰/۰۷: فاکتور تبدیل (یک میلی‌لیتر اسیدسولفوریک ۲/۵ میلی‌مولار معادل ۰/۰۷ میلی‌گرم می‌باشد)، ۵۰: حجم عصاره (میلی‌لیتر)، ۱۰۰۰: فاکتور تبدیل، ۲۰: حجم عصاره مورد اندازه‌گیری (میلی‌لیتر)، ۵: وزن اولیه خاک (گرم) و نسبت ۱۰۰ به dm% فاکتور تبدیل به جرم خاک خشک است.

آنزیم آریل‌سولفاتاز

فعالیت آنزیم آریل‌سولفاتاز با روش گزارش‌شده توسط Strobl and Traunmuller (2012) تعیین شد. بدین منظور، ابتدا محلول

بافر استات تهیه شد که برای آن، ۶۴ گرم استات سدیم دارای سه مولکول آب در ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و با افزودن حدود دو میلی‌لیتر اسید استیک خالص، pH آن روی ۵/۸ تنظیم گردید و سرانجام، با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده شد. سپس، برای تهیه نمونه اصلی حدود چهار میلی‌لیتر بافر استات و یک میلی‌لیتر محلول سوبسترا به یک گرم از نمونه خاک اضافه گردید. همچنین، برای تهیه نمونه شاهد یک گرم از نمونه خاک با حدود چهار میلی‌لیتر بافر استات ترکیب شد. هر دو ترکیب به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند. پس از آن به نمونه شاهد یک میلی‌لیتر محلول سوبسترا اضافه گردید. سپس با استفاده از آب مقطر، حجم نمونه‌ها به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. آن‌گاه سوسپانسیون‌ها صاف شده و شش میلی‌لیتر از هر یک به داخل لوله سانتریفیوژهای جداگانه ریخته شد و به هر یک چهار میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم اضافه گردید. سپس، با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۲۰ نانومتر قرائت گردید. فعالیت آنزیم آریل‌سولفاتاز با استفاده از رابطه ۵ محاسبه شد:

$$\frac{(S-C)\times 30}{6} = \mu g\ PNP.g^{-1}.h^{-1}$$ (رابطه ۵)

که در آن، S: میانگین مقدار پارانیتروفنل در نمونه‌ها (میکروگرم)، C: میانگین مقدار پارانیتروفنل شاهد (میکروگرم)، ۳۰: حجم کل نمونه (میلی‌لیتر)، ۶: حجم عصاره مورد آزمایش (میلی‌لیتر) است.

آنزیم دهیدروژناز

برای تعیین فعالیت آنزیم دهیدروژناز، ابتدا نمونه اصلی تهیه شد. بدین منظور، حدود پنج میلی‌لیتر محلول سوبسترا و پنج میلی‌لیتر بافر تریس به پنج گرم از نمونه خاک اضافه گردید. برای تهیه نمونه شاهد حدود پنج میلی‌لیتر بافر تریس به پنج گرم از نمونه خاک اضافه گردید. هر دو ترکیب به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خوابانیده شدند و سپس، به هرکدام ۲۵ میلی‌لیتر استون اضافه شد و برای دو ساعت در تاریکی تکان داده شدند. آن‌گاه هر دو ترکیب در اتاق نیمه‌تاریک صاف شدند و به‌وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر قرائت گردیدند (Ohlinger, 2012). میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز از رابطه ۶ تعیین شد:

$$\frac{(S-C)}{5} = \mu g\ TPF.g^{-1}.16h^{-1}$$ (رابطه ۶)

که در آن، S: میانگین مقدار تری فنیل فورمازان نمونه (میکروگرم)، C: میانگین مقدار تری فنیل فورمازان شاهد (میکروگرم)، ۵: وزن خاک اولیه (گرم) است.

آنالیزهای آماری

در این پژوهش برای مقایسه میانگین داده‌ها، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد مورداستفاده قرار گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. همچنین، با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶)، همبستگی خطی بین ویژگی‌های خاک و فعالیت آنزیم‌های مختلف با استفاده از آزمون ضریب همبستگی پیرسون بررسی شد و روابط رگرسیونی بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های مختلف مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. سرانجام، نمودارهای مربوطه با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس تأثیر عوامل ارتفاع منطقه، عمق خاک و اثرات متقابل آنها بر فعالیت آنزیم‌های مختلف خاک و میزان کربن آلی خاک در جدول ۲ ارائه شده است. به‌طورکلی، همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، هر دو عامل عمق خاک و ارتفاع منطقه اثر معنی‌داری بر فعالیت تقریباً تمام آنزیم‌های موردمطالعه داشتند؛ بااین‌وجود، اثر متقابلشان بر فعالیت آنزیم‌ها به‌استثنای آنزیم دهیدروژناز معنی‌دار نبود. بعلاوه، هر دو عامل ارتفاع منطقه و عمق خاک و اثرات متقابلشان اثرات معنی‌داری ($P \leq 0.001$) بر غلظت کربن آلی خاک در منطقه موردمطالعه داشتند (جدول ۲).

باتوجه‌به نقش مهم مواد آلی بر فعالیت آنزیم‌های مختلف خاک، ابتدا روند تغییرات کربن آلی خاک با دو عامل ارتفاع منطقه و عمق خاک مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۲ (الف) تغییرات غلظت کربن آلی خاک در عمق‌های مورد بررسی و ارتفاعات مختلف منطقه شامل ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری را نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۲ (الف) مشاهده می‌شود، میزان کربن آلی خاک در هر چهار دامنه ارتفاعی با افزایش عمق به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. علاوه بر این، با افزایش ارتفاع منطقه نیز میزان کربن آلی خاک در تمام عمق‌های مورد بررسی افزایش یافت، هرچند که این افزایش برای بعضی عمق‌ها معنی‌دار نبود. این روند تغییرات کربن آلی با عمق خاک و ارتفاع منطقه توسط بسیاری از پژوهشگران گزارش شده است (Dieleman et Banday et al., 2019; Zhang et al., 2021 .al., 2013;

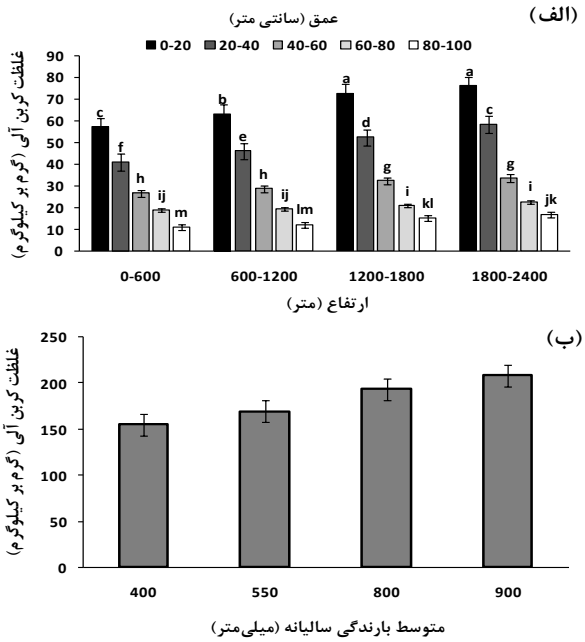
از سوی دیگر، Smith et al. (2002) دلیل افزایش کربن آلی خاک در ارتفاعات بالاتر را افزایش زیست‌توده گیاهی ناشی از بارش‌های بیشتر در ارتفاعات بیان کرده‌اند. در شکل ۲ (ب) رابطه بین متوسط بارندگی سالیانه منطقه در ارتفاعات مورد بررسی و مجموع غلظت کربن آلی خاک (تا عمق یک متری) بررسی شده است. به‌طورکلی با افزایش ارتفاع منطقه، میزان بارندگی (جدول ۱) و در نتیجه غلظت کربن آلی خاک‌های موردمطالعه افزایش یافته است (شکل ۲، ب). در واقع، افزایش غلظت کربن آلی خاک با افزایش ارتفاع منطقه می‌تواند ناشی از بارندگی بیشتر و در نتیجه افزایش رطوبت خاک باشد. در این زمینه، نتایج Qin et al.

(2016) نشان داد که بین میزان رطوبت خاک و غلظت کربن آلی رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس دوطرفه، تأثیر ارتفاع منطقه، عمق خاک و اثرات متقابل آنها بر فعالیت آنزیمی و کربن آلی خاک

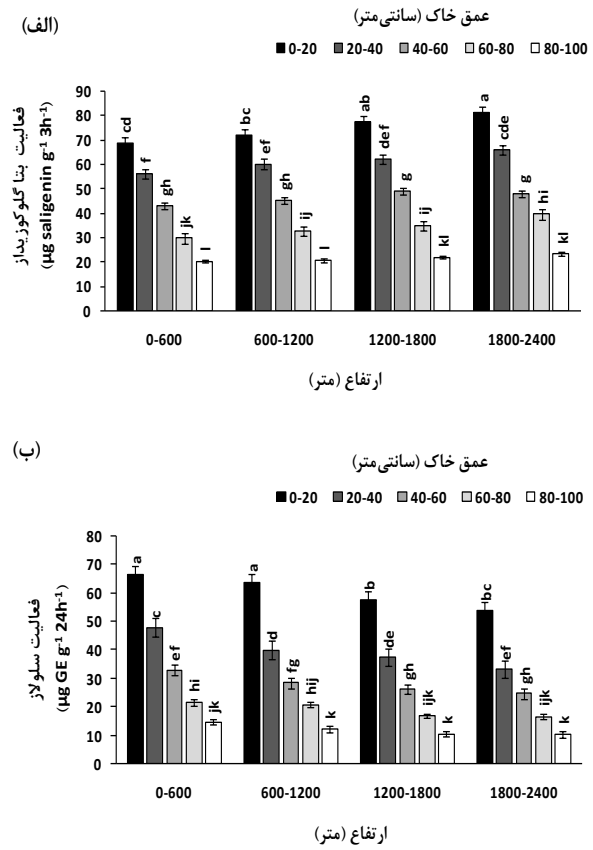
متغیرها	منابع تغییرات (آماره F)		
	ارتفاع	عمق	ارتفاع×عمق
بتا - گلوکوزیداز	***	***	ns
سلولاز	***	***	ns
فسفاتاز اسیدی	*	***	ns
فسفاتاز قلیایی	***	***	ns
اوره‌آز	***	***	ns
آریل سولفاتاز	***	***	ns
دهیدروژناز	ns	***	***
کربن آلی	***	***	***

*****، **، * و ns به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۰۱ درصد، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.**



شکل ۲- تغییرات غلظت کربن آلی خاک در عمق‌ها و ارتفاعات مختلف منطقه (الف) و رابطه غلظت کربن آلی خاک تا عمق یک متری با میزان متوسط بارندگی سالیانه در هر ارتفاع (ب) در منطقه موردمطالعه. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها (شکل الف) نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عمق‌های مختلف خاک در سطح احتمال ۵ درصد است (n = 3). خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

شکل ۳ میزان فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز و سلولاز را در عمق‌های مختلف خاک در هر چهار ارتفاع مورد بررسی نشان می‌دهد. باتوجه‌به نتایج جدول ۲، هر دو عامل ارتفاع منطقه و عمق خاک بر میزان فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز و سلولاز اثر معنی‌داری داشتند ($P \leq 0.001$). همان‌طور که در شکل ۳ (الف) مشاهده می‌شود، میزان فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با افزایش عمق خاک در هر چهار ارتفاع موردمطالعه کاهش‌یافته است. به‌عبارت‌دیگر، بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم در هر چهار ارتفاع به ترتیب در لایه‌های ۲۰-۰ و ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متری خاک مشاهده شد که با افزایش عمق به طور میانگین ۷۱ درصد کاهش نشان داد (شکل ۳، الف).



شکل ۳- فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز (الف) و سلولاز (ب) برای پنج عمق مختلف خاک در ارتفاعات ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری از سطح دریا در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عمق‌های مختلف خاک در سطح احتمال پنج درصد است (n = 3). خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

به طور مشابه، فعالیت آنزیم سلولاز نیز در هر چهار ارتفاع موردمطالعه با افزایش عمق روند کاهشی داشت (شکل ۳، ب). در واقع، با افزایش عمق خاک از لایه ۲۰-۰ سانتی‌متری تا عمق ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متری، فعالیت این آنزیم در هر چهار ارتفاع موردمطالعه به طور متوسط ۸۱ درصد کاهش نشان داد. به‌طورکلی، کاهش فعالیت این آنزیم‌ها با افزایش عمق خاک می‌تواند ناشی از کاهش میزان مواد آلی در لایه‌های عمیق‌تر خاک باشد. همان‌طور که قبلاً مشاهده شد، میزان کربن آلی خاک‌های موردمطالعه با افزایش عمق خاک به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۲، الف).

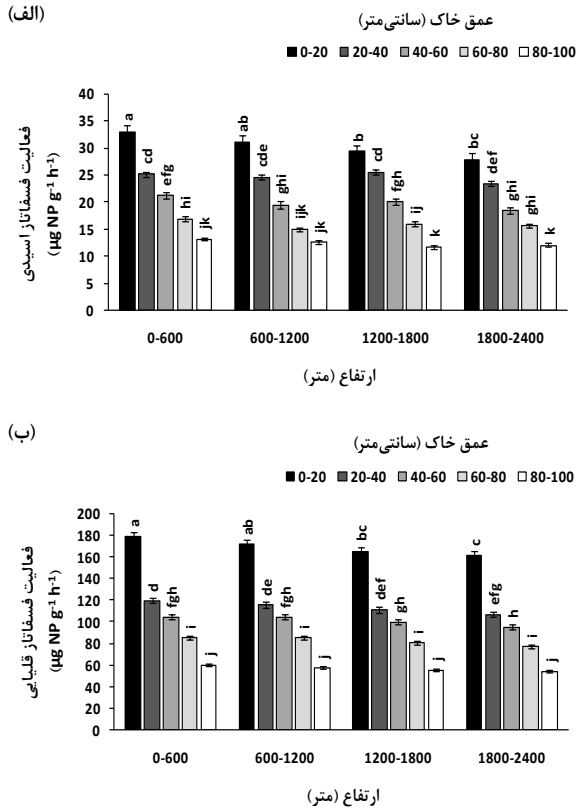
بررسی‌های بیشتر همچنین نشان داد که با افزایش ارتفاع منطقه میزان فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز تقریباً در تمام عمق‌ها افزایش یافت (شکل ۳، الف). افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با افزایش ارتفاع نیز می‌تواند ناشی از افزایش کربن آلی خاک در ارتفاعات بالاتر (شکل ۲، الف) باشد. به‌عبارت‌دیگر، افزایش فعالیت آنزیمی با افزایش مواد آلی به دلیل وابستگی فعالیت میکروبی و آنزیم تولیدشده به عرضه سوبسترای کربن می‌باشد (Koch and Noghre, 2019). مشابه با این نتایج، Lucas-Borja et al. (2012) افزایش فعالیت آنزیم بتاگلوکوزیداز با ارتفاع منطقه را گزارش کردند. بااین‌وجود، فعالیت آنزیم سلولاز با عامل ارتفاع روند کاهشی نشان داد، به‌طوری‌که با افزایش ارتفاع منطقه از ۶۰۰-۰ تا ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری به طور متوسط ۲۶ درصد کاهش یافت (شکل ۳، ب). Kshattriya et al., (1992) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش ارتفاع منطقه، دما کاهش می‌یابد. این در حالی است که فعالیت آنزیم‌ها به طور معنی‌داری تحت‌تأثیر دما نیز قرار دارد (Bowles et al., 2014) به‌نحوی‌که دماهای پایین سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های خاک می‌شود (Allison and Tresede, 2008). در نتیجه، کاهش فعالیت آنزیم سلولاز با افزایش ارتفاع منطقه می‌تواند ناشی از حساسیت این آنزیم به کاهش دمای منطقه و خاک باشد.

شکل ۴ تغییرات عمقی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی (الف) و فسفاتاز قلیایی (ب) را در چهار ارتفاع موردمطالعه در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران نشان می‌دهد. در مورد این دو آنزیم نیز روند کاهشی فعالیت با افزایش عمق خاک مشاهده شد (شکل ۴). به‌عبارت‌دیگر، به‌طورکلی با افزایش عمق خاک از لایه ۲۰-۰ سانتی‌متری به عمق ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متری میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی به ترتیب ۵۹ و ۶۶ درصد کاهش یافت. هم‌راستا با نتایج این مطالعه، Chen (2003) و Zhang et al. (2015) نیز بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی را در ۲۰ سانتی‌متر سطحی از خاک‌های موردمطالعه‌شان مشاهده کردند که با افزایش عمق از مقدار آن کاسته شد. بعلاوه، Kandeler et al. (2006) بیشترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی را برای عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری خاک گزارش کردند؛ به‌طوری‌که با افزایش عمق روند کاهشی نشان داد. این محققان دلیل فعالیت بیشتر آنزیم‌های فسفاتاز در لایه سطحی خاک را میزان بالاتر مواد آلی و همچنین وجود منطقه اصلی ریشه‌زنی گیاهان در این قسمت بیان کردند. در واقع، یکی از عوامل مؤثر بر فعالیت بیشتر آنزیم‌ها در قسمت فوقانی خاک می‌تواند ناشی از اثرات ریزوسفر ریشه باشد که به‌عنوان ناحیه‌ای با فعالیت بالای میکروب‌ها و آنزیم‌ها شناخته می‌شود (Chen, 2003).

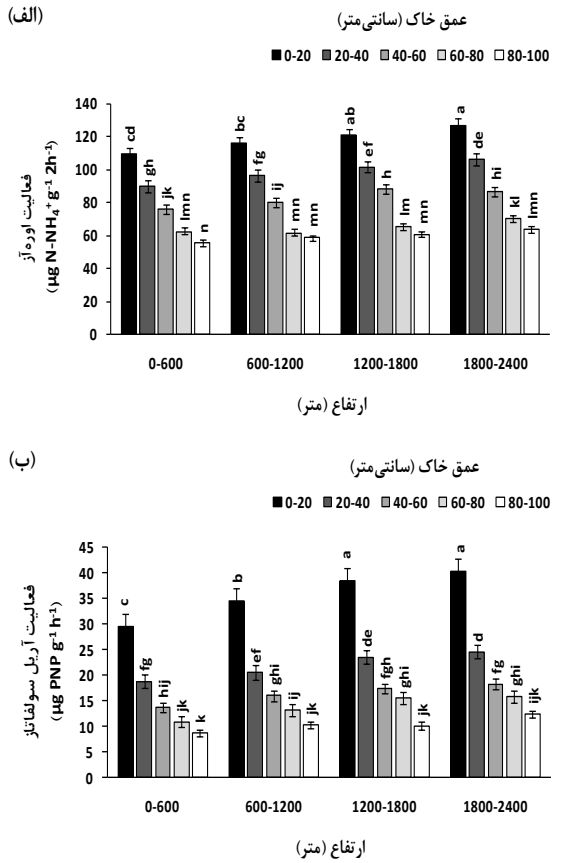
از سوی دیگر، همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش ارتفاع منطقه میزان فعالیت هر دو آنزیم در هر عمق روند تقریباً کاهشی را نشان می‌دهد. به‌عبارت‌دیگر، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ارتفاع ۶۰۰-۰ متری خاک‌های موردمطالعه مشاهده شد (شکل ۴). این نتایج با یافته‌های (Tianzhu et al., 2017) همخوانی دارد که در بررسی خود مشاهده کردند با افزایش ارتفاع منطقه فعالیت آنزیم فسفاتاز کاهش یافت. این محققان دلیل کاهش فعالیت آنزیم فسفاتاز با افزایش ارتفاع منطقه را به کاهش دما نسبت دادند. همان‌طور که در نتایج این مطالعه نیز مشاهده شد (جدول ۱)، با افزایش ارتفاع منطقه، درجه حرارت سالیانه کاهش می‌یابد که می‌تواند دلیل فعالیت کمتر آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در ارتفاعات بالاتر منطقه موردمطالعه باشد.

تغییرات عمقی فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز (الف) و آریل‌سولفاتاز (ب) در چهار ارتفاع مورد بررسی شامل ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری در شکل ۵ نشان‌داده‌شده است. همانند آنزیم‌های قبلی، فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز نیز با عمق روند کاهشی نشان دادند؛ به‌طوری‌که میزان فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز از سطح تا عمق یک متری به طور متوسط با کاهش تقریبی به ترتیب ۵۰ و ۷۱ درصدی روبه‌رو شد. مشابه با این نتایج، Beheshti Al-Agha et al. (2011) نیز در یافته‌های خود بیشترین فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز را در لایه سطحی خاک‌های موردمطالعه‌شان مشاهده کردند. بعلاوه، یافته‌های Kandeler et al. (2006) و Zhang et al. (2018) به ترتیب حاکی از کاهش فعالیت آنزیم‌های آریل‌سولفاتاز و اوره‌آز با افزایش عمق خاک بود. همان‌طور که قبلاً گفته شد، کاهش فعالیت آنزیم‌های خاک با افزایش عمق به کاهش غلظت مواد آلی خاک نسبت داده می‌شود که نتایج این تحقیق، کاهش معنی‌دار غلظت کربن آلی خاک با عمق را به‌وضوح نشان داد (شکل ۲، الف).

باتوجه‌به شکل ۵، با افزایش ارتفاع منطقه، میزان فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز (الف) و آریل‌سولفاتاز (ب) در هر عمق روند افزایشی داشته است. در حقیقت، با افزایش ارتفاع منطقه از ۶۰۰-۰ تا ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری به طور متوسط میزان فعالیت آنزیم‌های



شکل ۴- فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی (الف) و فسفاتاز قلیایی (ب) برای پنج عمق مختلف خاک در ارتفاعات ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری از سطح دریا در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عمق‌های مختلف خاک در سطح احتمال ۵ درصد است (n = 3). خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

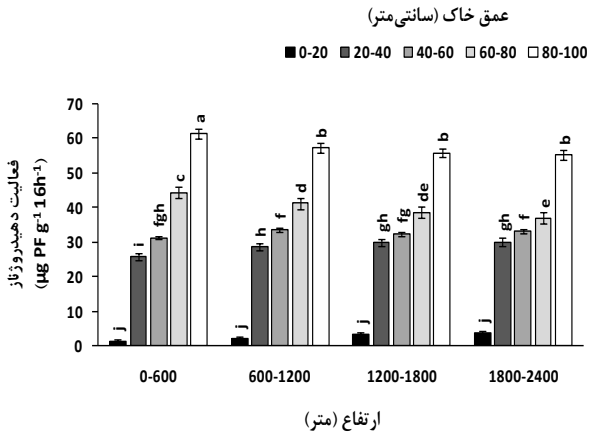


شکل ۵- فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز (الف) و آریل‌سولفاتاز (ب) برای پنج عمق مختلف خاک در ارتفاعات ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری از سطح دریا در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عمق‌های مختلف خاک در سطح احتمال پنج درصد است (n = 3). خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز به ترتیب حدود ۱/۱۵ و ۱/۴ برابر افزایش یافت. هم‌راستا با این نتایج، Chen et al. (2010) گزارش کردند که بین عامل ارتفاع منطقه و فعالیت آنزیم‌هایی همچون اوره‌آز رابطه مستقیم وجود دارد. علاوه بر این، Zhong et al. (2018) نیز دریافتند که با افزایش ارتفاع تا سطح ۲۰۰۰ متری از سطح دریا فعالیت آنزیم اوره‌آز افزایش یافت. همان‌طور که قبلاً مشاهده شد، با افزایش ارتفاع منطقه غلظت کربن آلی در خاک‌های موردمطالعه افزایش پیدا کرد (شکل ۲، الف).

آنزیم دهیدروژناز یکی دیگر از آنزیم‌های درون‌سلولی خاک و همچنین شاخص ارزشمندی برای فعالیت میکروبی خاک محسوب می‌شود (Liu et al., 2008). درحالی‌که دو عامل عمق خاک و اثرات متقابل عمق و ارتفاع بر میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز اثر معنی‌داری ($P \leq 0.001$) داشتند، عامل ارتفاع اثر معنی‌داری را بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز نشان نداد (جدول ۲). مطابق با این نتایج، Smith et al. (2002) نیز در بررسی خود هیچ اختلاف معنی‌داری بین فعالیت آنزیم دهیدروژناز و ارتفاع مشاهده نکردند. بعلاوه، Zhang et al. (2015) اثر معنی‌دار عمق خاک بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز را گزارش کردند.

تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز با عمق خاک در چهار ارتفاع مورد بررسی در شکل ۶ نشان‌داده‌شده است. به طور جالب‌توجهی، روند تغییرات عمقی آنزیم دهیدروژناز برخلاف آنزیم‌های قبلی بود. به بیان دیگر، بین میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز و عمق خاک رابطه مستقیم وجود داشت، به‌نحوی‌که با افزایش عمق خاک فعالیت آنزیم دهیدروژناز تقریباً در تمام ارتفاعات مورد بررسی به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۶). در واقع، با افزایش عمق از لایه ۲۰-۰ تا ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متری خاک فعالیت آنزیم دهیدروژناز در ارتفاع‌های ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری به ترتیب حدود ۴۳، ۲۹، ۱۷ و ۱۵ برابر افزایش پیدا کرد.



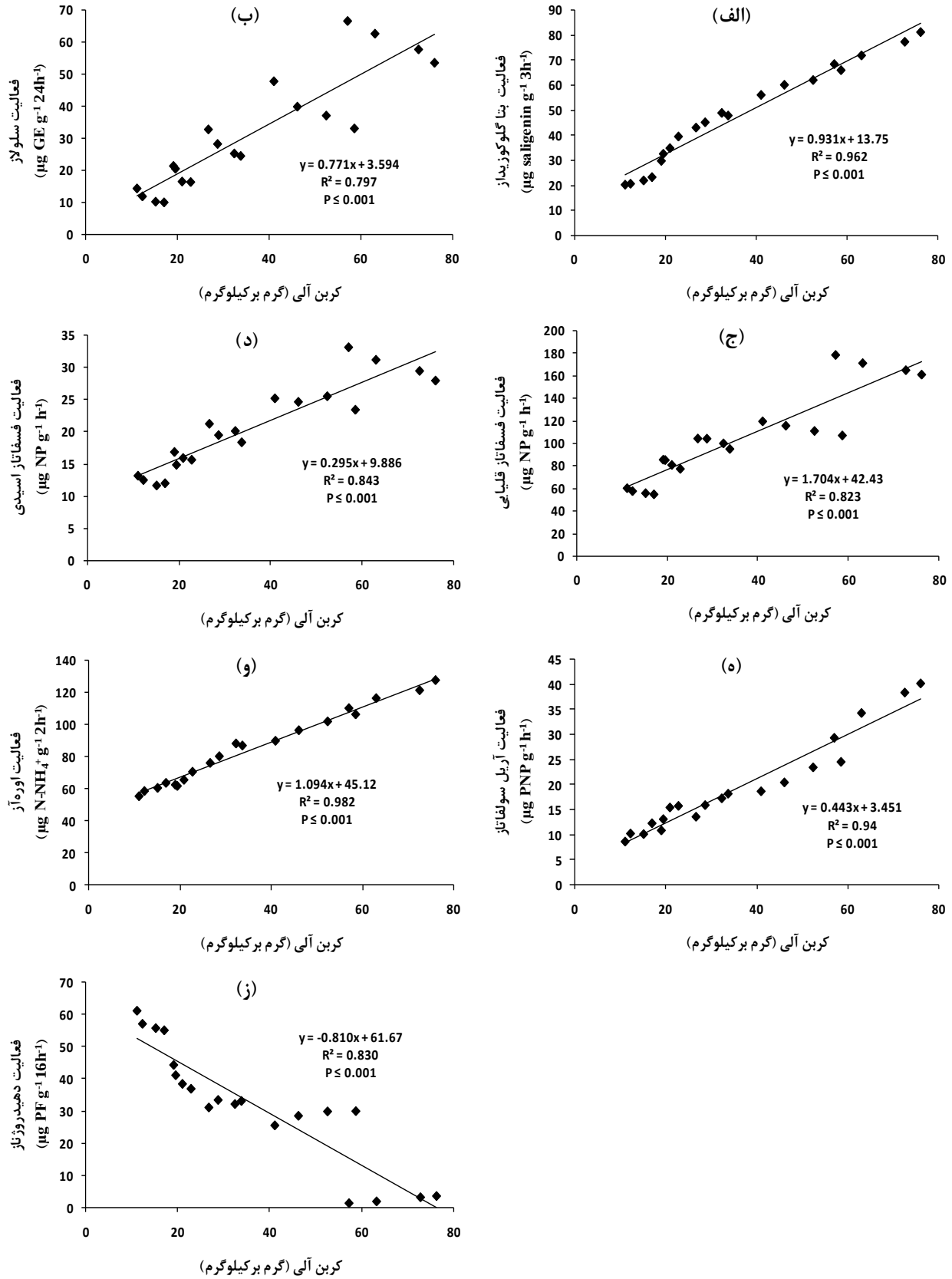
شکل ۶- تغییرات عمقی فعالیت آنزیم دهیدروژناز در ارتفاعات ۶۰۰-۰، ۱۲۰۰-۶۰۰، ۱۸۰۰-۱۲۰۰ و ۲۴۰۰-۱۸۰۰ متری از سطح دریا در خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران. حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین عمق‌های مختلف خاک در سطح احتمال پنج درصد است (n = 3). خطوط عمودی مقادیر خطای استاندارد را نشان می‌دهند.

از طرف دیگر، روند تغییرات فعالیت آنزیم دهیدروژناز با عمق برعکس تغییرات کربن آلی بود؛ به‌نحوی‌که با افزایش عمق و کاهش میزان کربن آلی خاک، فعالیت آن به‌شدت افزایش یافت. بر اساس نتایج گزارش‌شده، اغلب میکروارگانیسم‌های مسئول در تولید آنزیم دهیدروژناز بی‌هوازی هستند و شرایط نسبتاً بی‌هوازی را ترجیح می‌دهند (Wolińska and Stępniewska, 2012). ازاین‌رو، به نظر می‌رسد که فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک‌های موردمطالعه نسبت به دو عامل دما و غلظت کربن آلی خاک، بیشتر تحت‌تأثیر میزان تهویه خاک می‌باشد و ازآنجاکه لایه‌های عمقی خاک از تهویه ضعیف‌تری برخوردار است، میزان فعالیت این آنزیم با افزایش عمق خاک افزایش‌یافته است. در این راستا، Brzezinska et al. (2001) و Wolińska and Bennicelli (2010) گزارش کردند که بین میزان فعالیت آنزیم دهیدروژناز و پارامترهای مربوط به تهویه خاک مانند میزان فراهمی اکسیژن و تخلخل تهویه‌ای خاک رابطه عکس و معنی‌داری وجود دارد. این نتیجه در واقع مشخص می‌کند که برخلاف نتایج گزارش‌شده، فعالیت تمام آنزیم‌های خاک با افزایش عمق خاک کاهش نمی‌یابد و عکس‌العمل آنزیم‌های مختلف در این زمینه باتوجه‌به شرایط می‌تواند متفاوت باشد.

در شکل ۷ رابطه بین کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های مختلف بررسی شده است. نتایج تجزیه‌وتحلیل رگرسیونی داده‌ها حاکی از آن بود که بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های موردمطالعه شامل بتاگلوکوزیداز ($R^2 = 0.96$; $P \leq 0.001$)، سلولاز ($R^2 = 0.8$; $P \leq 0.001$)، فسفاتاز قلیایی ($R^2 = 0.82$; $P \leq 0.001$)، فسفاتاز اسیدی ($R^2 = 0.84$; $P \leq 0.001$)، اوره‌آز ($R^2 = 0.98$; $P \leq 0.001$) و آریل‌سولفاتاز ($R^2 = 0.94$; $P \leq 0.001$) رابطه خطی، مثبت و معنی‌داری وجود دارد. این نتیجه نشان می‌دهد که فعالیت این آنزیم‌ها به‌شدت به میزان مواد آلی و به‌ویژه کربن آلی خاک وابسته است. به بیان دیگر، بیشترین فعالیت اغلب آنزیم‌های خاک در بالاترین سطح کربن آلی خاک مشاهده می‌شود (Salazar et al., 2011). اساساً، یکی از مهم‌ترین منابع آنزیم‌های موجود در خاک میکروارگانیسم‌ها هستند (Alkorta et al., 2003) که فعالیت این میکروارگانیسم‌ها به فراهمی کربن به‌عنوان سوبسترا در خاک بستگی دارد (Liu et al. 2008). بااین‌وجود، بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم دهیدروژناز ارتباط خطی، منفی و معنی‌داری ($R^2 = 0.83$; $P \leq 0.001$) وجود داشت به‌طوری‌که با افزایش غلظت کربن آلی خاک، فعالیت آنزیم دهیدروژناز کاهش پیدا کرد (شکل ۷). در این زمینه، Quilchano and Maranon (2002) نیز در مطالعه‌شان همبستگی منفی بین فعالیت آنزیم دهیدروژناز و میزان کربن آلی خاک را مشاهده کردند؛ هرچند این رابطه معنی‌دار نبود. در واقع، به نظر می‌رسد که فعالیت آنزیم دهیدروژناز در منطقه مورد بررسی بیش از آنکه به کیفیت خاک مرتبط باشد، به وضعیت تهویه خاک مربوط است که براین‌اساس، روند تغییراتش برعکس کربن آلی در خاک‌های موردمطالعه بود.

جدول ۳ ضرایب همبستگی محاسبه‌شده بین فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی و برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی خاک‌های منطقه موردمطالعه را نشان می‌دهد. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های سلولاز ($r = 0.88$; $P \leq 0.01$)، بتاگلوکوزیداز ($r = 0.96$; $P \leq 0.01$)، فسفاتاز اسیدی ($r = 0.89$; $P \leq 0.01$)، فسفاتاز قلیایی ($r = 0.90$; $P \leq 0.01$)، اوره‌آز ($r = 0.97$; $P \leq 0.01$) و آریل‌سولفاتاز ($r = 0.95$; $P \leq 0.01$) همبستگی قوی، مثبت و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد که مجدداً نشان‌دهنده اثر مثبت کربن آلی خاک بر فعالیت این آنزیم‌ها می‌باشد. در این راستا، محققان زیادی همبستگی مثبت بین کربن آلی و فعالیت آنزیمی خاک را گزارش کرده‌اند (Caravaca et al., 2002; Roldan et al., 2005; Cenini et al., 2016). برای مثال Dick et al. (1994)، Waldrop et al. (2000)، Acosta-Martonez et al. (2003) و Shi et al. (2008) رابطه مثبت و معنی‌داری را بین کربن آلی و آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در مناطق موردمطالعه‌شان گزارش کردند. همچنین، Shi et al. (2008)، Jin et al. (2011) و Salazar et al. (2011) در نتایج خود همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم‌های آریل‌سولفاتاز و اوره‌آز را گزارش کردند. بااین‌وجود، همان‌طور که

قبلاً ذکر شد، بین میزان کربن آلی خاک و فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک‌های موردمطالعه رابطه عکس وجود داشت؛ به‌طوری‌که بین ویژگی کربن آلی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز همبستگی بسیار بالا، منفی و معنی‌داری ($r = -0.91; P \leq 0.01$) به دست آمد (جدول ۳).



شکل ۷- رابطه بین غلظت کربن آلی خاک و میزان فعالیت آنزیم‌های مختلف در خاک‌های منطقه موردمطالعه

جدول ۳- ضرایب همبستگی پیرسون (r) بین برخی ویژگی‌های شیمیایی و بیولوژیکی اندازه‌گیری شده و فعالیت آنزیم‌های خاک در عمق‌های ۲۰-۰، ۴۰-۲۰، ۶۰-۴۰، ۸۰-۶۰ و ۱۰۰-۸۰ سانتی‌متر خاک در ارتفاعات مختلف منطقه از سطح دریا

	pH	SOC	MBC	بتاگلوکوزیداز	سلولاز	فسفاتاز اسیدی	فسفاتاز قلیایی	اوره‌آز	آریل‌سولفاتاز	دهیدروژناز
pH	۱									
SOC	-۰/۸۷**	۱								
MBC	-۰/۸۶**	۰/۹۹**	۱							
بتاگلوکوزیداز	-۰/۸۷**	۰/۹۶**	۰/۹۶**	۱						
سلولاز	-۰/۷۴**	۰/۸۸**	۰/۸۲**	۰/۹۸**	۱					
فسفاتاز اسیدی	-۰/۷۹**	۰/۸۹**	۰/۹۰**	۰/۷۳**	۰/۶۶**	۱				
فسفاتاز قلیایی	-۰/۷۸**	۰/۹۰**	۰/۹۱**	-۰/۹۲**	-۰/۹۱**	-۰/۹۰**	۱			
اوره‌آز	-۰/۸۸**	۰/۹۷**	۰/۹۷**	۰/۹۶**	۰/۸۸**	۰/۸۹**	۰/۹۰**	۱		
آریل سولفاتاز	-۰/۸۵**	۰/۹۵**	۰/۹۶**	۰/۹۱**	۰/۸۶**	۰/۸۴**	۰/۹۰**	۰/۹۴**	۱	
دهیدروژناز	۰/۸۴**	-۰/۹۱**	-۰/۹۲**	-۰/۹۲**	-۰/۹۳**	-۰/۹۲**	-۰/۹۷**	-۰/۹۱**	-۰/۹۱**	۱

**، * و ns به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.
SOC: کربن آلی خاک، MBC: کربن زیست‌توده میکروبی.

نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که بین ویژگی کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی نیز ارتباط معنی‌داری وجود دارد (جدول ۳). در حقیقت، بین کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت اغلب آنزیم‌های موردمطالعه شامل بتاگلوکوزیداز ($r = 0.96; P \leq 0.01$)، سلولاز ($r = 0.89; P \leq 0.01$)، فسفاتاز اسیدی ($r = 0.90; P < 0.01$)، فسفاتاز قلیایی ($r = 0.91; P < 0.01$)، اوره‌آز ($r = 0.97; P \leq 0.01$) و آریل‌سولفاتاز ($r = 0.96; P \leq 0.01$) همبستگی قوی، مثبت و معنی‌داری وجود داشت. هم‌راستا با این نتایج، یافته‌های Bowles et al. (2014) حاکی از آن بود که بین میزان کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیمی خاک رابطه مستقیم وجود دارد. در حقیقت، آنزیم‌های خاک شاخص‌های مناسبی از فعالیت میکروبی خاک هستند (Bergstorm et al., 1998). مطالعات زیادی ارتباط مثبت بین زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم‌های مختلف همچون اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز (Dodor and Tabatabai, 2005)، بتاگلوکوزیداز (Lucas-Borja et al., 2012) و فسفاتاز اسیدی (Kandeler and Eder, 1993; Salazar et al., 2011) را گزارش کرده‌اند. با این وجود، بین کربن زیست‌توده میکروبی و فعالیت آنزیم دهیدروژناز رابطه عکس و معنی‌داری وجود داشت ($r = -0.92; P \leq 0.01$). به طور مشابهی، Liu et al. (2008) همبستگی منفی بین فعالیت آنزیم دهیدروژناز و کربن زیست‌توده میکروبی را گزارش کردند. این محققان در توجیه این نتیجه بیان می‌کنند که آنزیم دهیدروژناز که اکسیداسیون بیولوژیکی فرآیندهای میکروارگانیسم‌های خاک را نشان می‌دهد، ممکن است تحت‌تأثیر رقابت با سایر پذیرنده‌های هیدروژن در خاک قرار بگیرد. علاوه بر این، منشأ آنزیم‌های مورد بررسی ممکن است از فعالیت موجوداتی غیر از زیست‌توده میکروبی همچون تک‌سلولی‌ها و سایر بی‌مهرگان نیز باشد (Badiane et al., 2001).

نتیجه‌گیری

نتایج بررسی اثر ارتفاع منطقه و عمق خاک بر فعالیت برخی آنزیم‌ها در خاک‌های جنگلی ارسباران نشان داد که این عوامل اثر معنی‌داری بر فعالیت اغلب آنزیم‌های موردمطالعه داشتند، اما عکس‌العمل آنزیم‌های مختلف به این عوامل یکسان نبود. در واقع، درحالی‌که با افزایش عمق خاک و کاهش میزان کربن آلی میزان فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز، اوره‌آز، آریل‌سولفاتاز، سلولاز، فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی کاهش یافت، فعالیت آنزیم دهیدروژناز به‌شدت افزایش پیدا کرد. در حقیقت، فعالیت آنزیم دهیدروژناز در خاک‌های موردمطالعه بیشتر تحت‌تأثیر شرایط تهویه‌ای خاک بود. علاوه بر این، روند تغییرات فعالیت آنزیم‌های مختلف با ارتفاع منطقه نیز متفاوت بود. به‌عبارت‌دیگر، هرچند با افزایش ارتفاع منطقه فعالیت آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز، اوره‌آز و آریل‌سولفاتاز افزایش یافت، فعالیت آنزیم‌های سلولاز، فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی با کاهش روبه‌رو شد. بااین‌وجود، اثر ارتفاع منطقه بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز معنی‌دار نبود. همچنین، هر دو عامل کربن آلی و کربن زیست‌توده میکروبی اثر مثبت و معنی‌داری بر فعالیت تمام آنزیم‌های موردمطالعه به‌استثنای آنزیم دهیدروژناز نشان دادند. یافته‌های این پژوهش نشان داد که هرچند لایه سطحی خاک‌های جنگلی منطقه ارسباران در تمام ارتفاعات بیشترین کیفیت و اهمیت را از نظر فعالیت آنزیمی دارا می‌باشد، اما به‌طورکلی، واکنش آنزیم‌های مختلف خاک به تغییرات ارتفاعی منطقه و عمق خاک یکسان نمی‌باشد.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Abbasian, A., Golchin, A., and Shalakabadi, M. (2015). Investigation of biological properties andenzymatic activities of soil under the influence of soil type and sampling depth. Journal of Soil Biology, 3 (1), 31-43. (In Farsi).

Acosta-Martínez, V., Klose, S., and Zobeck, T. M. (2003). Enzyme activities in semiarid soilsunder conservation reserve program, native rangeland, and cropland. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 166, 699-707.

Ali Asgharzad, N. (2006). Laboratory methods in soil biology, p 540. Tabriz: Tabriz University Press.

Alkorta, I., Aizpurua, A., Riga, P., Albizu, I., Amézaga, I., and Garbisu, C. (2003). Soil enzyme activities as biological indicators of soil health. Reviews on Environmental Health, 18(1), 65-73.

Allison, S. D., and Treseder, K. K. (2008). Warming and drying suppress microbial activity and carbon cycling in boreal forest soils. Global change biology, 14(12), 2898-2909.

Badiane, N. N. Y., Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D., and Rouland, C. (2001). Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. Applied soil ecology, 18(3), 229-238.

Banday, M., Bhardwaj, D. R., and Pala, N. A. (2019). Influence of forest type, altitude and NDVI on soil properties in forests of North Western Himalaya, India. Acta Ecologica Sinica, 39(1), 50-55.

Beheshti Al-Agha, A., Reisi, F., and Golchin, A. (2011). The effect of land use change from rangeland to arable land on microbiological and biochemical indicators of soil. Water and Soil (Agricultural Sciences and Industries), 25 (3), 562-548. (In Farsi)

Bhople, P., Djukic, I., Keiblinger, K., Zehetner, F., Liu, D., Bierbaumer, M., and Murugan, R. (2019). Variations in soil and microbial biomass C, N and fungal biomass ergosterol along elevation and depth gradients in Alpine ecosystems. *Geoderma*, *345*, 93-103.

Błońska, E., Lasota, J., and Zwydak, M. (2017). The relationship between soil properties, enzyme activity and land use. Forest Research Papers, 78(1), 39-44.

Bowles, T. M., Acosta-Martínez, V., Calderón, F., and Jackson, L. E. (2014). Soil enzyme activities, microbial communities, and carbon and nitrogen availability in organic agroecosystems across an intensively-managed agricultural landscape. Soil Biology and Biochemistry, 68, 252-262.

Brzezinska, M., Stepniewska, Z., Stêpniewski, W., Wlodarczyk, T., Przywara, G., and Bennicelli, R. (2001). Effect of oxygen deficiency on soil dehydrogenase activity [pot experiment with barley]. *International agrophysics*, *15*(1).

Caravaca, F., Masciandaro, G., and Ceccanti, B. (2002). Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. Soil and Tillage Research, 68(1), 23-30.

Carter, M. R., and Gregorich, E. G. (2008). Soil Sampling and Methods of Analysis, S (2nd ed.). Canadian Society of Soil Science Publisher.

Cenini, V. L., Fornara, D. A., Mcmullan, G., Ternan, N., Carolan, R., Crawley, M. J., Clement, J. C., and Lavorel, S. (2016). Linkages between extracellular enzyme activities and the carbon and nitrogen content of grassland soils. Soil Biology and Biochemistry, 96, 198-206.

Chander, K., Goyal, S., Nandal, D. P., and Kapoor, K. K. (1998). Soil organic matter, microbial biomass and enzyme activities in a tropical agroforestry system. Biology and Fertility of Soils, 27(2), 168-172.

Chen, H. (2003). Phosphatase activity and P fractions in soils of an 18-year-old Chinese fir (Cunninghamia lanceolata) plantation. Forest Ecology and Management, 178(3), 301-310.

Chen, S., Huang, Y., Zou, J., Shen, Q., Hu, Z., Qin, Y., Chen, H., and Pan, G. (2010). Modeling interannual variability of global soil respiration from climate and soil properties. Agricultural and Forest Meteorology, 150, 590-605.

Dick, R. P. (1994). Soil enzyme activities as indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment, 35, 107-124.

Dieleman, W. I., Venter, M., Ramachandra, A., Krockenberger, A. K., and Bird, M. I. (2013). Soil carbon stocks vary predictably with altitude in tropical forests: Implications for soil carbon storage. Geoderma, 204, 59-67.

Dodor, D. E., and Ali Tabatabai, M. (2005). Glycosidases in soils as affected by cropping systems. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 168(6), 749-758.

Dotaniya, M. L., Aparna, K., Dotaniya, C. K., Singh, M., and Regar, K. L. (2019). Role of soil enzymes in sustainable crop production. In Enzymes in Food Biotechnology (pp. 569-589). Academic Press.

Dotaniya, M. L., Rajendiran, S., Meena, V. D., Saha, J. K., Coumar, M. V., Kundu, S., and Patra, A. K. (2017). Influence of chromium contamination on carbon mineralization and enzymatic activities in Vertisol. Agricultural Research, 6(1), 91-96.

Horwath, W. R., and Paul, E. A. (1994). Microbial biomass. In: DR Buxton (ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2: Microbiological and Biochemical Properties. ASA and SSSA. Madison, WI.

Jang, I. Y., and Kang, H. J. (2010). Controlling environmental factors of soil enzyme activities at three altitudes on Mt. Jumbong. *Journal of Ecology and Environment*, *33*(3), 223-228.

Jin, K., Sleutel, S., Buchan, D., De Neve, S., Cai, D. X., Gabriels, D., and Jin, J. Y. (2009). Changes of soil

enzyme activities under different tillage practices in the Chinese Loess Plateau. *Soil and Tillage Research*, *104*(1), 115-120.

Jin, Y. H., Wang, J. S., Li, L. G., Ruan, H. H., Xu, G., and Han, L. Y. (2011). Soil enzyme activities in typical vegetation zones along an altitude gradient in Wuyi Mountains. Chinese Journal of Ecology, 30(9), 1955-1961.

Kandeler, E., and Eder, G. (1993). Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes. Biology and Fertility of Soils, 16(4), 249-254.

Kandeler, E., Mosier, A. R., Morgan, J. A., Milchunas, D. G., King, J. Y., Rudolph, S., and Tscherko, D. (2006). Response of soil microbial biomass and enzyme activities to the transient elevation of carbon dioxide in a semi-arid grassland. Soil Biology and Biochemistry, 38(8), 2448-2460.

Koch, Y., and Noghreh, N. (2019). Effect of forest, rangeland and agricultural cover on microbial characteristics and enzymatic activities of soil. Water and Soil Conservation Research (Agricultural Sciences and Natural Resources), 26(3), 143-127. (In Farsi)

Kshattriya, S., Sharma, G. D., and Mishra, R. R. (1992). Enzyme activities related to litter decomposition in forests of different age and altitude in North East India. Soil Biology and Biochemistry, 24(3) 265-270.

Liu, D., Huang, Y., An, S., Sun, H., Bhople, P., and Chen, Z. (2018). Soil physicochemical and microbial characteristics of contrasting land-use types along soil depth gradients. *Catena*, *162*, 345-353.

Liu, X. M., Li, Q., Liang, W. J., and Jiang, Y. (2008). Distribution of soil enzyme activities and microbial biomass along a latitudinal gradient in farmlands of Songliao Plain, Northeast China. Pedosphere, 18(4), 431-440.

Lucas-Borja, M. E., Candel, D., Jindo, K., Moreno, J. L., Andrés, M., and Bastida, F. (2012). Soil microbial community structure and activity in monospecific and mixed forest stands, under Mediterranean humid conditions. Plant and soil, 354(1), 359-370.

Mani, S. (2021). Effect of Nutrient Management on δ15N, δ13C Isotopes and Enzyme Activities in Higher Altitude Agricultural Soils, India. *Geomicrobiology Journal*, *38*(2), 174-180.

Margesin, R. (2012). Enzymes involved in phosphorus metabolism. 13.2. Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate p-nitrophenyl phosphate. (pp. 213-217). Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E., and Margesin, R. (Eds). Methods in soil biology. Part, 13. P. 437. Springer.

Margesin, R., Jud, M., Tscherko, D., and Schinner, F. (2009). Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS microbiology ecology*, *67*(2), 208-218.

Ohlinger, R. (2012). Enzymes involved in intracellular metabolism. 5.2. Dehydrogenase activity with the substrate TTC, (pp. 241-243). Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E., and Margesin, R. (Eds). Methods in soil biology. Part, 14, P.437. Springer.

Ou, Y., Rousseau, A. N., Wang, L., Yan, B., Gumiere, T., and Zhu, H. (2019). Identification of the alteration of riparian wetland on soil properties, enzyme activities and microbial communities following extreme flooding. *Geoderma*, *337*, 825-833.

Qin, Y., Feng, Q., Holden, N. M., and Cao, J. (2016). Variation in soil organic carbon by slope aspect in the middle of the Qilian Mountains in the upper Heihe River Basin, China. Catena, 147, 308-314.

Quilchano, C., and Marañón, T. (2002). Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biology and Fertility of Soils*, *35*(2), 102-107.

Raiesi, F., and Beheshti, A. (2014). Soil specific enzyme activity shows more clearly soilresponses to paddy rice cultivation than absolute enzyme activity in primary forests of northwest Iran. Applied Soil Ecology. 75, 63-70.

Rezaei, H., Jafarzadeh, A., Alijanpour, A., Shahbazi, F., and Valizadeh Kamran, K. (2020). Soil Organic Matter Condition in Forest Stands of Arasbaran. Water and Soil, 34(1), 115-127. (In Farsi)

Salazar, S., Sánchez, L. E., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J. M., Peix, A., and Santa-Regina, I. (2011). Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. Ecological Engineering, 37(8), 1123-1131.

Schinner, F., and Von Mersi, W. (1990). Xylanase-, CM-cellulase-and invertase activity in soil: an improved method. Soil Biology and Biochemistry, 22(4), 511-515.

Shi, Z. J., Lu, Y., Xu, Z. G., and Fu, S. L. (2008). Enzyme activities of urban soils under different land use in the Shenzhen city, China. Plant, Soil and Environment, 54(8), 341-346.

Smith, J. L., Halvorson, J. J., and Bolton Jr, H. (2002). Soil properties and microbial activity across a 500 m elevation gradient in a semi-arid environment. Soil Biology and Biochemistry, 34(11), 1749-1757.

Song, Y., Song, C., Ren, J., Ma, X., Tan, W., Wang, X., Gao, J., and Hou, A. (2019). Short-Term Response of the Soil Microbial Abundances and Enzyme Activities to Experimental Warming in a Boreal Peatland in Northeast China. Sustainability, 11(3), 590.

Sparling, G. P. (1997). Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In: Pankhurst, C. E., Doube, B. M., Gupta, V. V. S. R. (Eds.), Biological Indicators of Soil Health, (pp. 97-119). CAB International.

Stirling, G., Hayden, H., Pattison, T., and Stirling, M. (2016). Soil health, soil biology, soilborne diseases and sustainable agriculture: A Guide. Csiro Publishing.

Tianzhu, L., Guicai, S., Jian, W., and Gengxin, Z. (2017). Microbial communities and associated

enzyme activities in alpine wetlands with increasing altitude on the Tibetan Plateau. Wetlands, 37(3), 401-412.

Waldrop, M. P., Balser, T. C. and Firestone, M. K. (2000). Linking microbial community composition to function in a tropical soil. Soil Biology and Biochemistry, 32(13), 1837-1846.

Walkley, A. and Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science, 37(1), 29-38.

Wallenius, K., Rita, H., Mikkonen, A., Lappi, K., Lindstrom, K., Hartikainen, H., Raateland, A. and Niemi, R.M. (2011). Effects of land use on the level, variation and spatial structure of soil enzyme activities and bacterial communities. Soil Biology and Biochemistry, 43(7), 1464-1473.

Wolińska, A., and Bennicelli, R. P. (2010). Dehydrogenase activity response to soil reoxidation process described as varied conditions of water potential, air porosity and oxygen availability. *Polish Journal of Environmental Studies*, *19*(3), 651-657.

Wolińska, A., and Stępniewska, Z. (2012). Dehydrogenase activity in the soil environment. Dehydrogenases, 10, 183-210.

Zhang, Y. L., Chen, L. J., Chen, X. H., Tan, M. L., Duan, Z. H., Wu, Z. J., Li, X. J., and Fan, X. H. (2015). Response of soil enzyme activity to long-term restoration of desertified land. Catena, 133, 64-70.

Zhang, Y., Ai, J., Sun, Q., Li, Z., Hou, L., Song, L., Tang, G., Li, L., and Shao, G. (2021). Soil organic carbon and total nitrogen stocks as affected by vegetation types and altitude across the mountainous regions in the Yunnan Province, south-western China. Catena, 196, 104872.

Zhong, Z., Chen, Z., Xu, Y., Ren, C., Yang, G., Han, X., Ren, G., and Feng, Y. (2018). Relationship between soil organic carbon stocks and clay content under different climatic conditions in Central China. Forests, 9(10), 598.