المجلد (١٥) العدد (٤) ٢٠٠٧

مجلة البصرة للعلوم الزراعية

الرقم الدولي ISSN.. 1814 – 5868

تأثير مستويات ملوحة التربة على فعالية انزيم الفوسفتيز القاعدي ومقاييسه الحركية

علي حمضي ذياب

كلية الزراعة -قسم علوم التربة والمياه -جامعة البصرة

الخلاصة

نفذت تجربة لدراسة تأثير مستويات مختلفة من الملوحة (3 ، 6 ، 12 ، 24 dSm^{-1}) على نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي وثوابته الحركية (Vmax و Km) في تربتين مختلفتي الخصائص وهما تربة ابي الخصيب ذات نسجة طينية غرينية (Typic torrifluvent) وتربة الاراضي المستصلحة حديثاً (في منطقة الدير) ذات نسجة طينية (Aquic torrifluvent) .

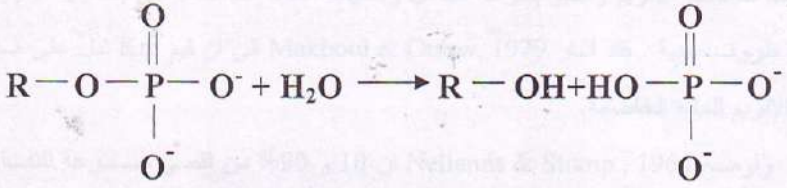
اشارت النتائج ان قيم نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي لتربة الاراضي المستصلحة اعلى مما هي عليه لتربة ابي الخصيب وعند جميع مستويات الملوحة المدروسة. زيادة الملوحة من 3 الى 6 dSm^{-1} لتربة ابي الخصيب والى 12 dSm^{-1} لتربة الاراضي المستصلحة (قيم الملوحة هذه مماثلة لقيم الملوحة الاصلية للتربتين اعلاه) ادت الى زيادة فعالية انزيم الفوسفتيز . ولكن زيادة الملوحة اعلى من المستويات اعلاه ادت الى انخفاض في فعالية الانزيم.

لم يكن لمستويات الملوحة المستخدمة أي تاثير في تغير سلوك تفاعل الانزيم في التربة. كذلك اوضحت النتائج بان زيادة ملوحة التربة من 3 dSm^{-1} الى المستويات الملحية التي اظهرت اعلى فعالية لنشاط الانزيم في التربتين ادت الى زيادة قيم Vmax وانخفاض في قيم Km.

المقدمة

يعتبر عنصر الفوسفور من العناصر الضرورية لنمو النبات حيث يمتص النبات الصور اللاعضوية الناتجة من تعدن المركبات العضوية الموجودة في التربة والتي تشكل جزء كبير من فسفور التربة ولها دوراً مهماً من الناحية الزراعية (Burns, 1978) . يلعب انزيم الفوسفتيز

الذي تفرزه احياء التربة المجهرية وجذور النباتات دوراً كبيراً في عمليات التعدن والتي تشمل تحفيز التحلل المائي لمركبات الاسترات Phosphoesters ان التحلل المائي لمركبات A - glycorophosphate, B-naphthyl phosphate , nitrophenyl phosphate , phenyl phosphate بواسطة انزيم الفوسفتيز قد درست من قبل باحثين عديدين (Tabatabai , 1982) . ان التفاعل الذي يقوم به انزيم الفوسفتيز يمكن ان يوصف بالمعادلة التالية:



تتعرض الانزيمات الى مجموعة من التفاعلات في التربة تؤدي الى انخفاض في نشاطها منها تكوين معقدات مع الجزء الطيني للتربة او مع الدبال (Mackboal & Ottow , 1979) ، او قد تتعرض للتحلل من قبل الاحياء المجهرية او انزيم البروتيز بالتربة (Burn *et al*, 1972) ، فضلاً عن تأثرها بخواص التربة المختلفة ومنها ملوحة التربة . فقد اشار Harris , 1981 بان الجهد المائي للتربة يعتبر عامل محدد لنشاط الاحياء . واوضح Tabatabai , 1982 بان الاملاح ربما تغير من درجة تاين المجاميع الحامضية والقاعدية في جزيئة البروتين للانزيم. وحصل Frankenberger & Bingham , 1982 على تثبيط مقداره 25% في فعالية انزيم الفوسفتيز القاعدي عند ارتفاع ملوحة التربة من 2 الى 22 dSm^{-1} مشيراً الى ان سبب التثبيط يرجع الى التجفيف الازموزي للخلايا المايكروبية والى التأثير السمي الخاص للملوحة على الاحياء المجهرية مما يؤدي الى انخفاض في انتاج الانزيمات. واعزى Harris ,1981 التأثير السلبي للملوحة على نشاط انزيمات التربة الى تثبيط العمليات الكيموحيوية نتيجة التركيز الملحي العالي داخل الخلايا.

من ناحية اخرى اشارت دراسات عديدة الى تأقلم الاحياء المجهرية للمعيشة في مستويات معينة من الملوحة بحيث لا يتأثر نشاطها سلبياً بهذه المستويات ، فقد اشار

Al-Ansari *et al*, 1999 الى زيادة في نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي بزيادة ملوحة التربة من 3 dSm^{-1} الى المستويات المساوية لملوحة التربة الاصلية بينما انخفض نشاط الانزيم معنوياً عند زيادة ملوحة التربة الى اكثر من هذه المستويات . اشار Tabatabai, 1982 الى ان بعض الانزيمات تنشط بوجود الايونات المعدنية التي تجهز من قبل الاملاح، وان هذه الايونات يجب ان تتوفر في التربة قبل ان يبدأ الانزيم بالتفاعل .

تعتبر الثوابت الحركية لتفاعل الانزيم (Vmax و Km) من المقاييس المهمة التي تدرس لوصف تفاعلات الانزيم والتنبؤ بسرعة التفاعل وبكميات المادة الخاضعة التي يحتاجها الانزيم تحت ظروف معنية . فقد اشار Makboul & Ottow, 1979 الى ان قيم Km تدل على مدى الفة الانزيم للمادة الخاضعة.

واوضح Neliands & Stump , 1964 ان 10 و 90% من اقصى سرعة للتفاعل (Vmax) يمكن ان يبلغها الانزيم عندما يكون تركيز المادة الخاضعة مساوياً لـ $Km \times 10^{-1}$ و $Km \times 10$ على التوالي. نظراً لاهمية هذه الثوابت الحركية في وصف سلوك الانزيم وتفاعله التحفيزي في التربة ولقلة المعلومات المتوفرة عن هذا الموضوع في ظروف ترب جنوب العراق فقد نفذت هذه الدراسة لبيان تأثير مستويات مختلفة من ملوحة التربة على قيم هذه الثوابت لانزيم الفوسفتيز القاعدي في تربتين مختلفتي الخصائص فضلاً عن دراسة نشاط هذا الانزيم تحت ظروف العوامل المدروسة .

مواد وطرائق العمل

تم دراسة تأثير مستويات ملحية مختلفة على نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي وثوابته الحركية على تربتين رسوبيتين مختلفتي الخصائص الاولى ذات نسجة طينية غرينية صنف Typic torrifluvent من قضاء ابي الخصيب والثانية ذات نسجة طينية صنف Aquic torrifluvent من الاراضي المستصلحة في منطقة الدير . جمعت النماذج من الطبقة السطحية (صفر-30سم) وجففت هوائياً ثم طحنت ونخلت من منخل سعة فتحاته 2 ملم.

ويبين الجدول (1) نتائج التحليلات الاولية لبعض خصائص التربة حيث قدرت حسب الطرق الموصوفة في Black , 1965 . غسلت التربتين بالماء المقطر او بمحلول ملحي يحتوي

على خليط املاح $CaCl_2$, $NaCl$, $MgCl_2$, $CaSO_4$ لغرض ايصال ملوحة التربة الى 3 او 6 او 12 او 24 dSm^{-1} . بعد الوصول للمستويات الملحية اعلاه تركت النماذج سبعة ايام لتجف هوائياً ولتحقيق التوازن بين التربة والمحلول الملحي . قدر نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي عند المستويات الملحية اعلاه وللتربتين وحسب الطريقة المقترحة من قبل Tabatabai , 1982 حيث اخذ 1 غم تربة واضيف له التلوين والمحلول المنظم القاعدي ثم حضن لمدة ساعة واحدة مع مستويات مختلفة (صفر ، 0.01 ، 0.25 ، 0.05 ، 0.10)مول من المادة الخاضعة للانزيم (P-nitrophenol phosphate) ثم قدرت كمية المادة المتبقية من P-nitrophenol بواسطة جهاز الطيف اللوني .

جدول (1) : بعض الخصائص الفيزيائية والكيمائية لتربتي الدراسة

نسجة التربة	النتروجين الكلي	المادة العضوية	$CaCO_3$	pH 1:1	E.C $dS.m^{-1}$	التربة
	غم.كغم$^{-1}$					
Silty clay	1.46	20.6	490	7.8	5.8	ابو الخصيب
Clay	4.7	32.6	55	7.7	12.2	الاراضي المستصلحة

حسبت قيم الثوابت الحركية لانزيم الفوسفتيز القاعدي (Vmax و Km) من نتائج تأثير التراكيز المختلفة للمادة الخاضعة على فعالية الانزيم وتحت مستويات الملوحة المدروسة بتطبيق الصيغ الخطية الثلاث لمعادلة Michaelis - Menten وهي (V=Vmax - S /Km+S) والتي تمثل قيم الانحدار (Slope) و (intercept):

(1) $$\frac{1}{V} = Km / V\max . \frac{1}{S} + \frac{1}{V\max} \text{ .....(Line Weaver-Burk)}$$

(2) $$V = Km \times V/S + Vmax \text{ .....(Eadie - Hofstee)}$$

(3) $$S/V = \frac{1}{V\max} . S + Km / V\max \text{ .....(Hanes-Woolf)}$$

حيث ان V: السرعة الاولية لتفاعل الانزيم (مايكروغرام .p-nit/غم تربة / ساعة).

Vmax: السرعة القصوى لتفاعل الانزيم (مايكروغرام .p-nit/غم تربة / ساعة).

S = تركيز المادة الخاضعة (مول).

Km = ثابت التفاعل (مول).

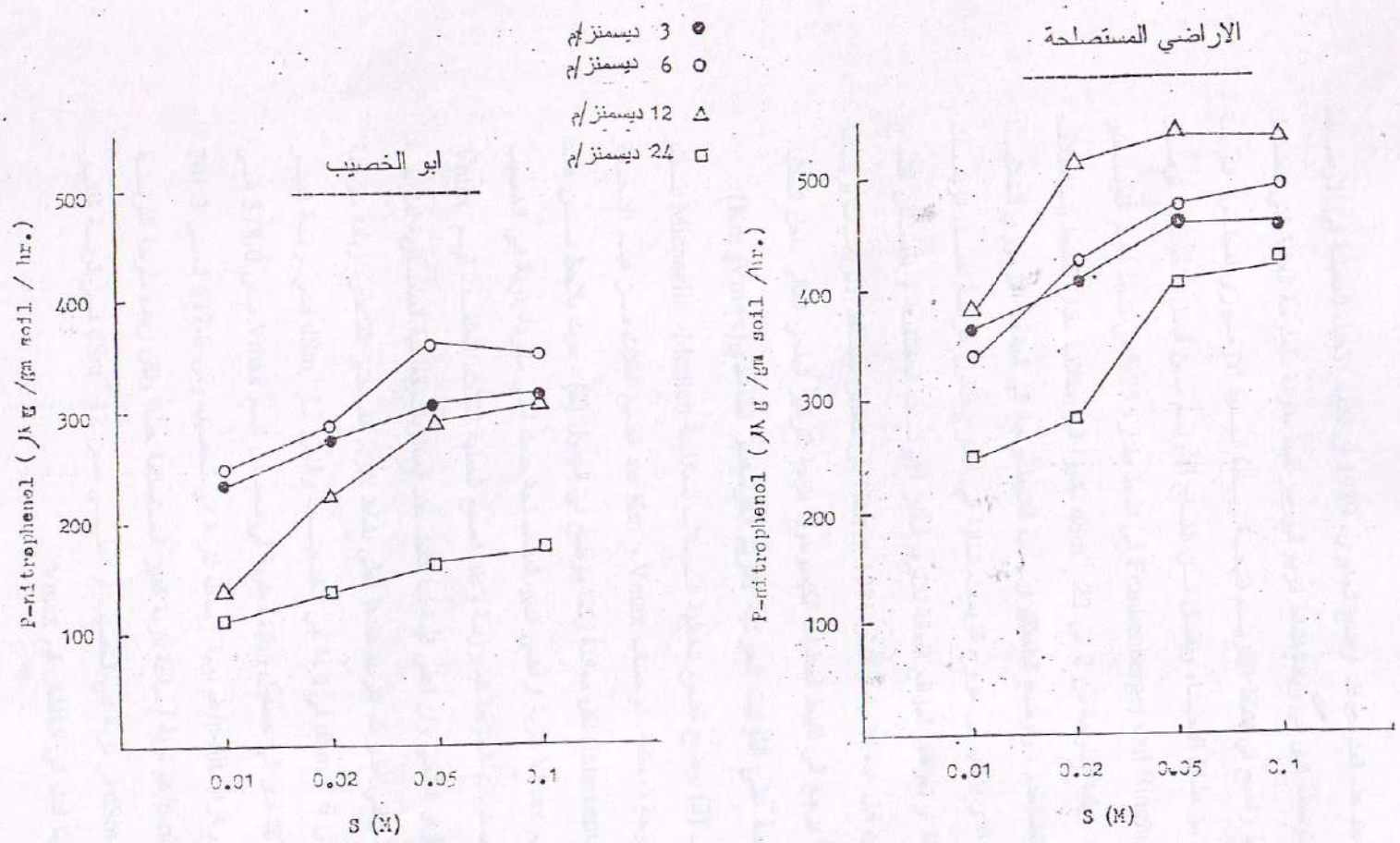
النتائج والمناقشة

تأثير الملوحة على نشاط انزيم الفوسفيتيز القاعدي :

الشكل (1) يوضح تاثير مستويات ملوحة التربة المختلفة على نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي عند التراكيز المختلفة من المادة الخاضعة ، حيث يلاحظ زيادة في نشاط الانزيم بزيادة تركيز المادة الخاضعة ولحد 0.05 مول بعدها لم بتأثير الانزيم بزيادة التركيز وعند جميع مستويات الملوحة وللتربتين وهذا يدل على ان التراكيز الملحية المستخدمة بالتجربة لم تؤثر في سلوك الانزيم في التربة و ان نشاط الانزيم يخضع الى تفاعل برتبة الصفر (Zero-order reaction) عند التراكيز العالية من المادة الخاضعة مما يؤكد خضوع تفاعل انزيم الفوسفتيز القاعدي عند جميع المستويات المليحة المدروسة لمعادلة - Michaelis Menten وتتمثل هذه النتائج مع ما توصل اليه Al-Ansari , 2001 في دراسته لتأثير المستويات الملحية 3 ، 6 ، 12 ، 24 dSm^{-1} على نشاط انزيم اليوريز في تربتي الدراسة الحالية.

يوضح الشكل (1) تفوق نشاط انزيم الفوسفتيز في اراضي الدير المستصلحة حديثاً على تربة ابي الخصيب وعند جميع المستويات الملحية المدروسة حيث بلغ المتوسط العام لهما 419.06 و 246.1 مايكروغرام .p-nit/غم تربة / ساعة على التوالي . ان هذه النتائج تتفق مع Al-Ansari *et al*, 1999 الذي توصل الى تفوق نشاط انزيم الفوسفتيز الحامضي والقاعدي لتربة الاراضي المستصلحة حديثاً على نشاط الانزيمين في تربتي ابي الخصيب والزبير . دراسات عديدة منها Frankenberger and Dick , 1983 و Sarathchandra *et al* , 1984 . اشارت الى اختلاف نشاط انزيم الفوسفتيز باختلاف صفات التربة وخصوصاً نسبة الطين و pH والكاربون العضوي.

يبين الشكل (1) ان اقصى نشاط للانزيم في تربة اراضي الدير المستصلحة حديثاً ظهر عند ملوحة 12 dSm^{-1} وفي تربة ابي الخصيب عند ملوحة 6 dSm^{-1} . وان اقل نشاط لانزيم الفوسفتيز ظهر عند الملوحة 24 dSm^{-1} وللتربتين. هذه النتيجة تتفق مع نتائج Al-Ansari *et al*, 1999 . ان تأقلم الاحياء المجهرية لملوحة التربة الاصلية يظهر اقصى

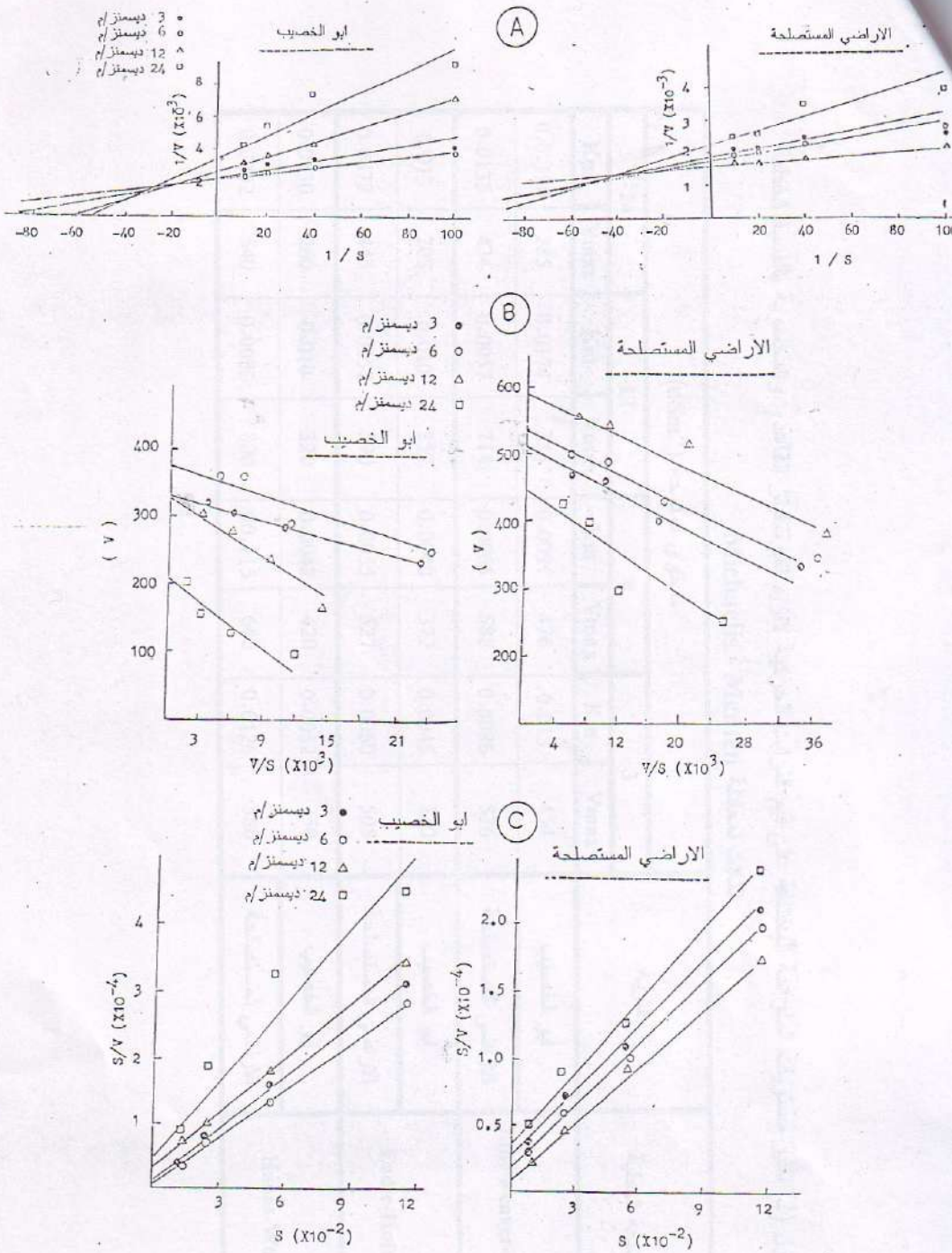


الشكل (١) تأثير مستويات الملوحة وتراكيز المادة الخاضعة عل نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي في تربتي الدراسة

نشاط لها عند هذه الملوحة فقد اوضح الجابري، 1989 ان تكيف الاحياء للمعيشة في الاوساط الملحية المتوسطة ادى الى زيادة نشاط انزيم اليوريز فيها مقارنة بالملوحة العالية التي حصل عندها تثبيط واضح في نشاط الانزيم نتيجة زيادة الجهد الازموزي لمحلول التربة والذي يقلل من نشاط الاحياء ويقلل من انتاج الانزيم من قبل الاحياء . توصل Frankenberger and Bingham, 1982 الى تثبيط مقداره 25% في نشاط انزيم الفوسفتيز القاعدي عند زيادة الملوحة من 2 الى 22 dSm^{-1} مشيراً الى اختلاف مقدار التثبيط باختلاف نوع الملح المستخدم ، واوضح الباحثان ان سبب التثبيط يرجع الى الجفاف الازموزي للخلايا المايكروبية الذي يؤدي الى خروج انزيمات الخلية الى الخارج فتكون عرضة لفعل انزيمات التربة المحللة او تعرض المواقع الفعالة للانزيم لتأثير الايونات المختلفة او نقصان انتاج الانزيمات من قبل هذه الاحياء . اشار Harris, 1981 بان تناقص نشاط الانزيمات بزيادة ملوحة التربة يرجع الى تثبيط العمليات الكيميوحوية نتيجة التركيز الملحي العالي داخل الخلايا.

تأثير الملوحة على الثوابت الحركية لانزيم الفوسفتيز القاعدي(Vmaxو Km):

الشكل (2) يوضح الصيغ الخطية الثلاث لمعادلة Michaelis -Menten بتأثير مستويات الملوحة المختلفة. تم حساب Vmax و Km عند الصيغ الثلاث من قيم الانحدار (Slope) و(Intercept) لكل معادلة وكما موضح في الجدول (2) ، حيث يلاحظ من هذا الجدول بان قيم Vmax لتربة اراضي الدير المستصلحة حديثاً اعلى مقارنة بتربة ابي الخصيب وتحت جميع مستويات الملوحة المدروسة وعند الصيغ الخطية الثلاث. اختلفت قيم Vmax باختلاف المستوى الملحي وان اعلى قيمة لها كانت عند المستويات الملحية المساوية لملوحة التربة الاصلية والتي اظهرت الترب عندها اعلى نشاط لانزيم الفوسفتيز القاعدي. زيادة ملوحة التربة من 3 الى 6 dSm^{-1} في تربة ابي الخصيب والى 12 dSm^{-1} في تربة الدير المستصلحة حديثا ادى الى حصول زيادة معنوية في معدل قيم Vmax من 378.0 الى 422.6 مايكروغرام .p-nit/غم تربة / ساعة لتربة ابي الخصيب ومن 537.0 الى 701.3 مايكروغرام .p-nit/غم تربة / ساعة لتربة الدير المستصلحة حديثاً ولكن زيادة ملوحة التربة اعلى من 6 dSm^{-1} في تربة ابي الخصيب او اعلى من 12 dSm^{-1} في تربة الدير المستصلحة حديثاً ادت الى انخفاض قيم Vmax.



الشكل (٢) الصيغ الخطية الثلاث لمعادلة Michaelis-Menten لانزيم الفوسفتيز القاعدي لتربتي الدراسة Line Weaver – Burk : A , Eadie – Hofstee : B , Hanes – Woolf : C

جدول (2) تأثير مستويات الملو حة المختلفة على قيم الثوابت الحركية لانزيم الفوسفيتز القاعدي والمحسوبة بالصيغ الخطية الثلاث لمعادلة Michaelis - Menten

الصيغة الخطية	التربة	مستوى الملوحة (dSm^{-1})							
		3		6		12		24	
		Vmax	Km	Vmax	Km	Vmax	Km	Vmax	Km
Line weaver-Burk	ابو الخصيب	454	0.013	476	0.0091	384	0.0174	285	0.0.190
	الاراضي المستصلحة	526	0.0086	588	0.0065	714	0.0057	434	0.0135
Eadie-Hofstee	ابو الخصيب	330	0.0045	372	0.0040	352	0.010	208	0.013
	الاراضي المستصلحة	505	0.0060	527	0.0055	590	0.0050	443	0.0077
Hanes-Woolf	ابو الخصيب	350	0.0052	420	0.0042	320	0.010	260	0.0130
	الاراضي المستصلحة	580	0.0126	640	00.115	800	0.0080	540	0.0202

اما بالنسبة لقيم Km فان زيادة ملوحة التربة من 3 الى 6 dSm^{-1} في تربة ابي الخصيب والى 12 dSm^{-1} في تربة الدير المستصلحة حديثاً ادت الى انخفاض في معدل قيم Km، حيث انخفض معدل قيم Km من 0.0075 الى 0.0037 مول في تربة ابي الخصيب ومن 0.01 الى 0.0062 مول في تربة الدير . ولكن زيادة ملوحة التربة الى اعلى من 6 dSm^{-1} في تربة ابي الخصيب او اعلى من 12 dSm^{-1} في تربة الاراضي المستصلحة ادت الى زيادة قيم Km. ان هذه النتائج مماثلة لما توصل اليه Al-Ansari, 2001 ، في دراسته لتأثير الملوحة على القيم الحركية لانزيم اليوريز.

النتائج هذه تدل على الالفة القوية التي يبديها الانزيم للمادة الخاضعة عند الملوحة المساوية لملوحة التربة الاصلية 6 dSm^{-1} لتربة ابي الخصيب و 12 dSm^{-1} لتربة الدير حيث ظهرت اعلى قيم Vmax واقل قيم Km . اشار Makboul and Ottow, 1979 و Tabatabai, 1982 ان قيم Km تدل على مدى الفة الانزيم للمادة الخاضعة.

توضح النتائج في جدول (2) ان قيم Vmax و Km وتحت جميع مستويات الملوحة المدروسة قد اختلفت باختلاف الصيغة الخطية وهذا يرجع الى ان لكل صيغة خطية مقداراً من الخطأ ينعكس على قيم Vmax و Km (Dowd & Riggs, 1965) . واشار Tabatabai , 1982 ان الصيغ الخطية الثلاث لمعادلة Michaelis - Menten يمكن ان تكون ملائمة على حد سواء لتقدير قيم Km لانزيمات التربة.

المصادر

الجابري ، ميعاد مهدي (1989) . النترجة وتحلل اليوريا وفي بعض ترب جنوب العراق ، اطروحة ماجستير ، كلية الزراعة ، جامعة البصرة.

Al-Ansari , A. S.; M. A. Abdul Kareem and L. A. Omar (1999) characteristics of enzymes in recently reclaimed land . II. Alkaline and acid phosphatase activity . Iraqi J. Agric. Sci. 30 : 563 -570.

Al-Ansari , A. S. (2001) . Urease activity and its kinetics parameters as affected by salinity levels . Iraqi J. Agric . Under press.

Black, C. A. (1965). Methods of soil anaysis . Part II . Amer . Soc. Agron . Inc. Pub. Madison , Wisconson , U. S.A.

Burns , R. G. ; A. H. Pukite and A. D. Mclarn (1972) . Concerning the location and presistence of soil urease . Soil . Sci. Soc . Amer . Proc. 36 : 308-311.

Burns , R. G. (1978) . Soil enzymes . Acad . Press , Inc . London , England . pp: 380 .

Dowd , J. E. and D. S. Riggs (1965) . A comparison of estimates of Michaelis -Menten Kinetics constant from various linear transformation . J. Bio. Chem . 240 : 860 -869.

Frankenberger, W. T. and F. T. bingham (1982) . Influence of salinity on soil enzyme activities . Soil Sci . Soc . Amer . J. 46 : 1173 -1177.

Frankenberger , W . T. and W. A. Dick (1983) . Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil . Soil Sci. Soc. Amer J. 47 : 945-951.

Harris , R. F. (1981) . Effect of water potential on microbial growth and activity . P. 23 -95 . In : Water potential relations in soil microbidogy . SSSA. Special Pub . No. 9. Amer . Soc . Agron . Medison , Wisconson , U. S. A.

Makboul , H. E. and J. G. Ottow. (1979) . Alkaline phosphatase activity and Michaelis constant in the presence of different clay minerals. Soil. Sci. 128 : 129-135.

Neliands , J.B. and P. K. Stumpf (1964) . Outlines of enzyme chemistry . 2 nd ed . John Wiley & Sons , Inc . New York , P. 57 -159.

Sarathenandra , S. U. ; K. W. Perrott and M. P. Upsdell . (1984) . Microbiolgical and biochemical characterstics of a range of New Zeland soils under established pasture. Soil biol. Bichem . 16 : 177 -183.

Tabatabai , M. A. (1982) Soil enzymes . In : methods of soil analysis . part 2. Chemical and microbiological propeties . Agron . No. 9, 2 nd ed . p:903-947.

EFFECT OF SALINITY LEVELS ON ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY AND ITS KINETICS PARAMETERS

Ali Hamdy Theiab

Soil Dept., Coll. Agric., Univ. Basrah , Basrah . Iraq.

SUMMARY

An experiment was conducted to study the effect of different salinity levels (3 , 6 , 12 or 24 dSm^{-1}) on Alkaline phosphatase activity and its kinetics parameters (Vmax & Km) in soils with different properties collected from silty clay soil (typic torrifluvent) Abul-Khasib area and clay soil (aquic torrifluvent) recently reclaimed land (Al-Dier area), south of Iraq. Data showed that at all salinity levels , phosphatase activity of recently reclaimed land (Al-Dier area) was higher than that of Abul-Khasib soil. Increasing salinity level from 3 dSm^{-1} to 6 dSm^{-1} in Abul Khasib soil and to 12dSm^{-1} in recently reclaimed land (Values , Similar to initial soil salinity) increased phosphotase activity , however, further increasing in salinity levels decreased phosphatase activity.

At both soils, different salinity levels did not affect behaviour of reaction catalyzed by phosphatase . Data also showed that increasing salinity level from 3 dSm^{-1} to the levels which show maximum activity increased Vmax values but decreased Km values at both soils.