

## بررسی و مقایسه جمعیت باکتری‌های موثر در چرخه نیتروژن در نواحی جنگلی تخریب یافته و سالم راش در ناحیه خزری

مریم تیموری\*، مصطفی خوشنویس، محمد متینی‌زاده و احمد رحمانی

تهران، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، بخش جنگل

تاریخ دریافت: ۹۲/۳/۸ تاریخ پذیرش: ۹۲/۷/۱۶

### چکیده

چرخه ازت شامل تثبیت ازت، معدنی شدن ترکیبات ازته آلی، نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون می‌باشد که میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در آن دارند. در این تحقیق جوامع میکروبی موثر در چرخه ازت، پتانسیل نیتریفیکاسیون و آنزیم نترات رودکناز در رویشگاه‌های دست‌خورده و نخورده راش در دو استان مازندران و گیلان بررسی شد. جوامع میکروبی اکسیدکننده آمونیوم و نیتريت و *denitrifier* استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی مطالعه شدند. پتانسیل نیتریفیکاسیون و فعالیت نترات رودکناز نیز با روش‌های رنگ سنتزی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان دهنده تفاوت جوامع میکروبی، پتانسیل نیتریفیکاسیون و نیز نترات رودکناز در بین رویشگاه‌های دست‌خورده و نخورده راش بود. بالاترین جوامع میکروبی در مرحله اپتیمال رویشگاه‌های دست‌خورده مشاهده شد و در هر حالت بیش از رویشگاه‌های دست‌خورده بود که ناشی از شرایط اکولوژیک مطلوب‌تر در نواحی دست‌خورده باشد که شرایط را برای رشد جوامع میکروبی مناسب‌تر می‌سازد. کاهش پتانسیل نیتریفیکاسیون در رویشگاه‌های دست‌خورده در پاییز می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت جوامع میکروبی بدنال کاهش دما و ترشحات ریشه‌های گیاهی باشد. در مورد آنزیم نترات رودکناز در رویشگاه گیلان در هر دو فصل میزان فعالیت در رویشگاه دست‌خورده بیش از رویشگاه دست‌خورده است. این امر می‌تواند ناشی از شرایط رویشگاه و وجود سوبسترای بیشتر برای آنزیم باشد که از تخریب وارد رویشگاه شده است. اما در مازندران فعالیت نترات رودکناز در رویشگاه دست‌خورده بیش از رویشگاه دست‌خورده است. در مجموع شاخص‌های میکروبی ابزارهای مناسبی برای تعیین شرایط خاک اکوسیستم‌ها هستند.

واژه‌های کلیدی: جوامع میکروبی، راش، دست‌خورده، دست‌نخورده

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۵-۴۴۷۸۷۲۸۲-۰۲۱، پست الکترونیکی: mteimouri@rifr-ac.ir

### مقدمه

رشد گیاهان و جانوران، تثبیت و یا افزایش کیفیت آب و خاک و کمک به حفظ سلامتی انسان است. کیفیت خاک مستقیماً قابل اندازه‌گیری نیست، بنابراین باید از یکسری شاخص استفاده نمود. شاخص‌ها در واقع خصوصیات قابل اندازه‌گیری خاک یا گیاه هستند که مدارکی را دال بر چگونگی عملکرد خاک فراهم می‌کنند. در تعیین کیفیت خاک از خصوصیات شیمیایی (اسیدیته، هدایت الکتریکی و عناصر قابل استخراج نیتروژن، فسفر و پتاسیم)، فیزیکی

تخریب منابع طبیعی بویژه جنگل‌ها یکی از چالش‌های مهم اقتصادی-اجتماعی بسیاری از کشورها از جمله ایران است. در طی چند دهه گذشته وسعت نواحی جنگلی ایران به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش یافته است. تخریب جنگل‌ها باعث تخریب زمین و در نتیجه تخریب خاک می‌شود. تعیین کیفیت خاک می‌تواند بیانگر تأثیر تخریب جنگل‌ها بر اکوسیستم‌های زمینی باشد. کیفیت خاک، توانایی خاک در انجام عملکرد طبیعی آن یعنی فراهم آوردن شرایط برای

بخشی از جمعیت میکروبی خاک در رشد گیاهان از طریق معدنی کردن مواد غذایی، تثبیت ازت و تولید هورمون‌های رشد گیاهی مؤثر هستند، بنابراین وجود آنها و یا عدم وجود آنها می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت خاک باشد. Iriberry و همکارانش (۱۳) در سال ۲۰۰۶ تغییرات و گسترده‌گی انتشار جمعیت باکتری‌های هتروتروف و ۳ گروه فیزیولوژیک دیگر از باکتری‌ها یعنی احیاء کننده‌های نیترات، مولد آمونیاک و احیاء کننده‌های سولفات را در دو منطقه در اسپانیا بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که رابطه مستقیمی بین جمعیت باکتری‌های هتروتروف و خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک وجود دارد. بررسی گروه‌های مختلف فیزیولوژیک شامل نیترات‌سازها، ازتوباکترها و میکروارگانیسم‌های تجزیه کننده سلولز در خاک ریزوسفر که با سیستم‌های مختلف کوددهی شده بود نشان داد که کمترین تعداد میکروارگانیسم‌ها در ابتدای فصل رویشی و بیشترین تعداد آنها در انتهای فصل رویشی وجود دارد (۹). بررسی اثرات مواد شیمیایی حشره‌کش، قارچ‌کش و نماتودکش و علف‌کش بر روی میکروارگانیسم‌های خاک نشان داد که وجود هر گونه حشره‌کش باعث کاهش یا افزایش تعداد تجزیه‌کننده‌های هوازی سلولز شد. از طرف دیگر با وجود اثرات محرک اولیه، تعداد ازتوباکترها، تثبیت کننده‌های ازت و کلستریدیوم‌ها کاهش یافت. نحوه اثر مواد فوق به ترکیب شیمیایی آنها و نیز خصوصیات فیزیولوژیک میکروارگانیسم‌ها بستگی دارد. اکسیدکننده‌های آمونیوم حساسیت بیشتری نسبت به سایر گروه‌های فیزیولوژیک داشتند (۱۷). بررسی تأثیر بقایای گیاهی و مواد آلی خاک بر جمعیت میکروبی خاک نشان داد که دو عامل فوق بر تنوع عملکردی میکروارگانیسم‌ها و فعالیت آنزیمی خاک ناشی از فعالیت میکروارگانیسم‌ها مؤثرند (۱۰). بررسی اثر باران‌های اسیدی بر میکروبیولوژی خاک نشان داد که تعداد باکتری‌ها در ۵ گروه مختلف فیزیولوژیک (تجزیه‌کننده‌های نشاسته، پکتین، پروتئین، گزیلان و سلولز) در خاک‌هایی

(ساختمان و عمق خاک و توانایی نگهداری آب) و زیستی (ذی‌توده میکروبی، کربن و ازت، توانایی معدنی کردن ازت و تنفس خاک) آن استفاده می‌شود. به‌علاوه اینکه خصوصیات مرفولوژیک و یا ظاهری گیاهان نیز به‌عنوان شاخص بکار می‌روند (۱۲). میکروارگانیسم‌ها واکنش‌های بیشماری را از طریق و به‌واسطه آنزیم‌های درون سلولی و برون سلولی انجام می‌دهند. این واکنش‌ها برای عملکرد صحیح خاک، معدنی شدن مواد آلی، چرخه عناصر غذایی، تشکیل مواد آلی، تجزیه مواد سمی و آلاینده‌های خاک (مانند حشره‌کش‌ها) اهمیت حیاتی دارند (۱۱ و ۸). از آنجایی که جوامع میکروبی به‌شدت تحت تأثیر شرایط رویشگاه و یا زیست‌گاهی هستند که در آن کلنیزه می‌شوند خصوصیات میکروبیولوژیک خاک می‌تواند به‌عنوان شاخص برای تعیین تغییرات کیفیت خاک در کوتاه مدت، میان مدت و بلند مدت بکار رود. مدارک روزافزونی دال بر استفاده از پارامترهای زیستی و میکروبیولوژیک به‌عنوان شاخص‌های حساس در مراحل اولیه استرس وجود دارد (۶). در موارد مختلف از فعالیت آنزیم‌های خاک، میزان اگزوپلی‌ساکاریدها، بیومس میکروبی خاک و ترکیب میکروفلورخاک به‌عنوان شاخص‌های بیوشیمی و زیستی بالقوه کیفیت خاک استفاده می‌شود (۷). نیتروژن پس از آب دومین ماده مورد نیاز برای رشد و تولید مثل گیاهان بوده و ۷۸٪ اتمسفر را تشکیل می‌دهد. نیتروژن در ساختمان کلروفیل، پروتئین‌های گیاهی و جانوری و مواد ژنتیکی اعم از DNA و RNA وجود دارد. چرخه این عنصر شامل تثبیت ازت، معدنی شدن ترکیبات ازته آلی، نیتریفیکاسیون و دنیتریفیکاسیون می‌باشد که میکروارگانیسم‌ها و بخصوص باکتری‌ها نقش مهمی در آن دارند. تغییر پارامترهای زنده خاک به‌دنبال تخریب زمین ناشی از تخریب جنگل‌ها (جنگل‌زدایی) گزارش شده است. اگر جمعیت میکروبی به‌خوبی عملکرد خود را انجام دهند در این صورت می‌توانند رشد درختان و سایر گیاهان اکوسیستم را موجب شوند (۵). باکتری‌های خاک به‌عنوان

بارندگی سالیانه حدود ۱۳۰۰ میلی‌متر و میانگین دمای سالیانه حدود ۸ درجه سانتی‌گراد و فاقد فصل خشک حیاتی است (۱).

- **نمونه‌برداری:** در دو فصل بهار و پاییز، در رویشگاه‌های دست‌نخورده‌تر ۴ نمونه از خاک سطحی (عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری) مراحل مختلف تحولی (توالی) جنگل یعنی آغازین (I) بهینه یا اپتیمم (O) و تخریب (D) تهیه (۱۶ و ۲) و پس از مخلوط شدن بعنوان شاخص منطقه نامگذاری شد. در رویشگاه‌های دست‌خورده نیز ۴ نمونه خاک سطحی (عمق ۲۰-۰ سانتی‌متری) تهیه و بعنوان شاخص منطقه بررسی شد.

- **شمارش باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم و نیتريت:** شمارش برای شمارش باکتری‌های اکسیدکننده‌های آمونیوم و نیتريت از نمونه‌های خاک رقت‌های متوالی تهیه و بترتیب در محیط کشت‌های دارای سولفات آمونیوم و نیتريت سدیم کشت شدند. از روش بیشترین تعداد احتمالی سه تایی برای شمارش تعداد باکتری‌ها استفاده شد. لوله‌ها در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی گرمخانه‌گذاری شدند. گرمخانه‌گذاری بمدت ۸ هفته ادامه یافت. برای ارزیابی اکسیداسیون سولفات آمونیوم و نیتريت سدیم به‌ترتیب از معرف‌های Griess-Ilosvay و آزمون نقطه‌ای نیتريت استفاده (۲۳) و تعداد باکتری‌ها در هر گرم از نمونه خاک با استفاده از جدول MPN تعیین شد.

**شمارش باکتری‌های نیتريت‌زدا با روش MPN:** برای بررسی تعداد این باکتری‌ها از ۵ گرم محیط کشت نوترینت برات ساخت شرکت مرک (حاوی ۵ گرم پپتون ۳ گرم عصاره گوشت) و ۱۵ گرم نیتريت پتاسیم در ۱ لیتر آب استفاده شد. لوله‌ها بمدت ۲ هفته در ۲۸ درجه سانتی‌گراد نگهداری و در این مدت لوله‌ها از نظر تولید حباب‌های گاز در لوله دورهام بررسی شدند. لوله‌های حاوی گاز به- عنوان لوله‌های مثبت ارزیابی می‌شوند (۲۳).

که در معرض باران‌های اسیدی قرار گرفته بودند در مقایسه با خاک نمونه‌های کنترل ۶۰٪ کاهش داشت (۱۵). بررسی جمعیت میکروبی در ریزوسفر توسکا نشان داد که جمعیت میکروبی در ریزوسفر توسکا بصورت فصلی تغییر می‌کند. بطوری‌که در فصل بهار و تابستان تنوع عمکردی پایین‌تر است که این تفاوت می‌تواند در ارتباط با شرایط محیطی و نیز موقعیت فیزیولوژیک درختان باشد (۲۱).

هدف از این مطالعه بررسی و مقایسه جمعیت باکتری‌های اتوتروف اکسیدکننده آمونیوم، اکسیدکننده نیتريت، پتانسیل نیتريفیکاسیون و فعالیت آنزیم نیتريت رودکتاز در دو رویشگاه تخریب‌یافته و نسبتاً دست‌نخورده راش در دو استان گیلان و مازندران بوده است.

## مواد و روشها

این پژوهش در راشستان‌های دست‌نخورده‌تر و تخریب‌یافته دو استان گیلان و مازندران انجام شد.

**استان گیلان:** قطعه ۹ رزه تالش در حد ارتفاعی حداقل ۱۱۰۰ و حداکثر ۱۵۵۰ متر از سطح دریا قرار گرفته است. این قطعه بین طول جغرافیایی ۴۸°،۴۸؛۵۹ تا ۴۸°،۴۹؛۳۹ و عرض جغرافیایی ۳۷°،۲۷؛۴۳ تا ۳۷°،۲۸؛۲۹ واقع شده است، اقلیم آن نیمه مدیترانه‌ای مرطوب و بر اساس طبقه بندی آمبرژه در طبقه دشت، کوهپایه و کوهستانی قرار دارد. بافت خاک از نوع لوم-رسی و pH آن اسیدی (۶/۵-۵/۵) است. ماه‌های دی، بهمن و اسفند به‌ترتیب سردترین ماه‌های سال و ماه‌های تیر و مرداد گرمترین ماه‌های سال می‌باشند (۱).

- **استان مازندران:** راشستان انتخاب شده در قطعه شاهد سری یک طرح جنگلداری لنگا در کلاردشت در ارتفاع ۱۳۵۰ متری از سطح دریا و بین طول جغرافیایی ۵۱°۰۲'۲۵ تا ۵۱°۰۵'۰۵ شرقی و عرض ۳۶°۳۲'۱۵ تا ۳۶°۳۵'۱۰ شمالی قرار داشت. خاک منطقه از نوع قهوه‌ای جنگلی، با بافت لوم-رسی و pH اسیدی (۵/۵-۶/۵) است. میزان

کلرید پتاسیم استخراج و مقدار آن توسط اسپکتروفتومتر در طول موج  $520 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد (۲۲)

### نتایج

بررسی تعداد لوله‌های مثبت بر اساس جدول استاندارد MPN نشان داد که بین رویشگاه‌های دست‌خورده و دست‌نخورده‌تر از نظر جمعیت باکتری‌های مؤثر در چرخه نیتروژن تفاوت وجود دارد (جدول ۱). همانطور که در جدول ۱ آورده شده است میزان باکتری‌های مؤثر در چرخه ازت در رویشگاه‌های دست‌خورده کمتر از رویشگاه‌های دست‌نخورده‌تر است و از طرف دیگر میزان آنها در مرحله بهینه بیشتر از دو مرحله آغازین و تخریب است.

**بررسی پتانسیل نیتریفیکاسیون:** پتانسیل نیتریفیکاسیون در ۵ گرم از خاک مرطوب و با سوبسترای سولفات آمونیوم و در ۲۲ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد. نمونه‌های کنترل در دمای  $20^\circ\text{C}$  - درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت ۵ ساعت و اضافه‌کردن معرف رنگی (حاوی سولفانیل‌آمید و آلفا-نفتیل‌اتیلن‌دی‌آمین‌هیدروکلراید)، میزان جذب در  $520 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد (۲۲).

**بررسی فعالیت نترات رودکتاز:** فعالیت نترات رودکتاز پس از قراردادن نمونه‌ها بمدت ۲۴ ساعت در دمای  $25^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد و با استفاده از نترات پتاسیم  $25 \text{ mM}$  - به عنوان سوبسترا اندازه‌گیری شد. نیتريت آزاد شده به‌وسیله

جدول ۱- جمعیت باکتری‌های مؤثر در چرخه نیتروژن در رویشگاه‌های دست‌خورده و دست‌نخورده گیلان و مازندران

منطقه	AOB	NOB	DB
گیلان- مرحله آغازین	$3/6 \times 10^4$	$6/1 \times 10^4$	$3/9 \times 10^4$
گیلان- مرحله بهینه	$4/3 \times 10^5$	$9/2 \times 10^6$	$2/7 \times 10^5$
گیلان- مرحله تخریب	$1/9 \times 10^3$	$2/1 \times 10^3$	$4/5 \times 10^3$
گیلان- تخریب یافته	$2/7 \times 10^4$	$4/3 \times 10^2$	$3/4 \times 10^6$
مازندران- مرحله آغازین	$1/5 \times 10^4$	$2/4 \times 10^4$	$2/0 \times 10^4$
مازندران- مرحله بهینه	$2/8 \times 10^7$	$5/3 \times 10^6$	$1/3 \times 10^5$
مازندران- مرحله تخریب	$7/3 \times 10^5$	$2/6 \times 10^2$	$1/6 \times 10^4$
مازندران- تخریب یافته	$5/3 \times 10^5$	$3/8 \times 10^4$	$2/7 \times 10^7$

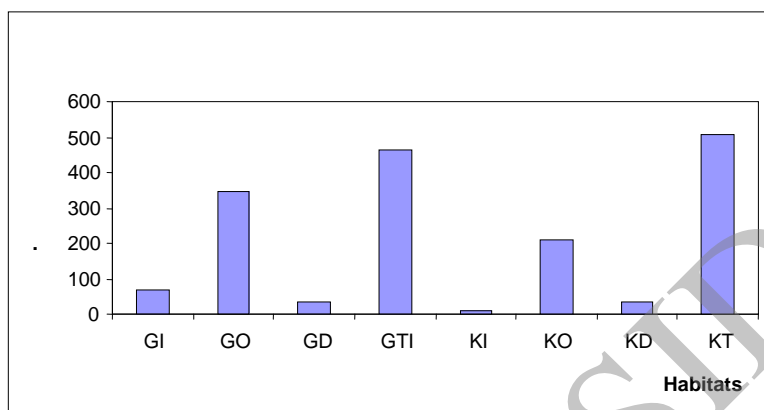
نخورده‌تر بیش از دو مرحله دیگر ولی از رویشگاه دست‌خورده کمتر است.

بررسی پتانسیل نیتریفیکاسیون در بهار و پاییز سال ۱۳۹۰ نشان داد، همانطور که میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون همانند سال قبل در بهار و در مرحله بهینه رویشگاه‌های دست‌نخورده بیش از دو مرحله است اما کمتر از رویشگاه‌های دست‌خورده می‌باشد. در پاییز همان سال در رویشگاه دست‌نخورده گیلان میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در مرحله

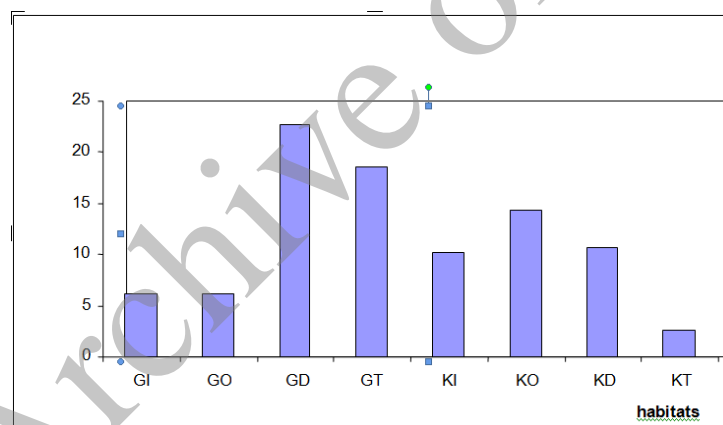
در شکل‌های ۱ و ۲ پتانسیل نیتریفیکاسیون در بهار و پاییز ۱۳۸۹ آورده شده است. میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در بهار و در مرحله بهینه رویشگاه‌های دست‌نخورده‌تر بیش از دو مرحله دیگر است اما از رویشگاه‌های دست‌خورده کمتر است. در پاییز ۱۳۸۹ در رویشگاه دست‌نخورده گیلان میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در مرحله تخریب در مقایسه با دو مرحله دیگر و نیز رویشگاه دست‌خورده بیشتر است. در فصل پاییز در رویشگاه کلاردشت مازندران میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در مرحله بهینه رویشگاه‌های دست-

در مرحله بهینه رویشگاه‌های دست‌نخورده بیش از دو مرحله دیگر ولی از رویشگاه‌های دست‌نخورده بیشتر است (شکل‌های ۳ و ۴).

تخریب در مقایسه با دو مرحله دیگر بیشتر ولی از رویشگاه دست‌نخورده کمتر است. در فصل پاییز در رویشگاه کلاردشت مازندران میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون



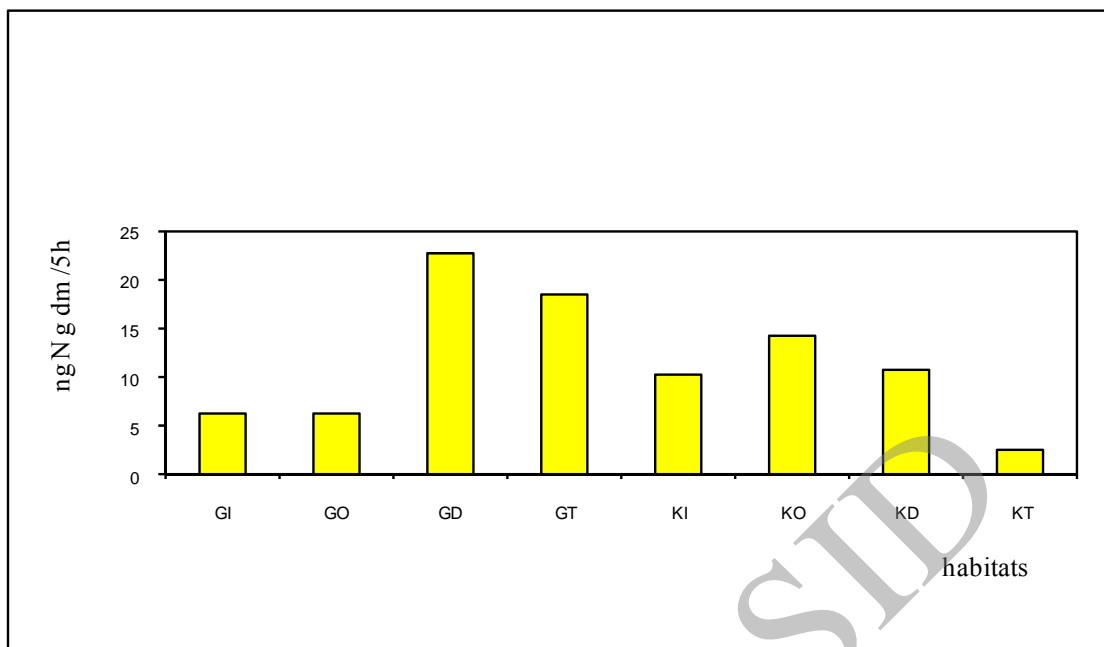
شکل ۱- میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت در بهار ۱۳۸۹ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



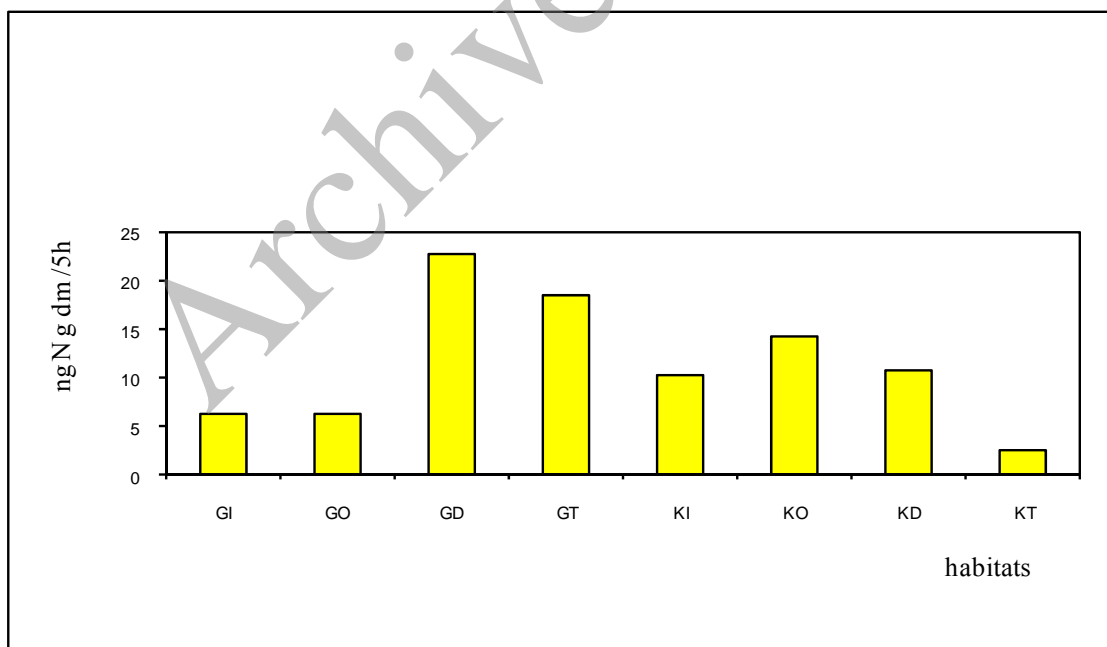
شکل ۲- میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون (برحسب ngN.g.dm/5h) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت در پاییز ۱۳۸۹ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده اپتیمم، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده اپتیمم، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).

کلاردشت میزان فعالیت آن در مرحله بهینه بیشتر از دو مرحله دیگر و رویشگاه دست‌خورده است. در پاییز هر دو منطقه الگوی یکسانی دارند و فعالیت آنزیم نترات‌رودکتاز در مرحله بهینه بیشتر از دو مرحله دیگر و نیز رویشگاه دست‌خورده است (شکل ۶ و ۸)

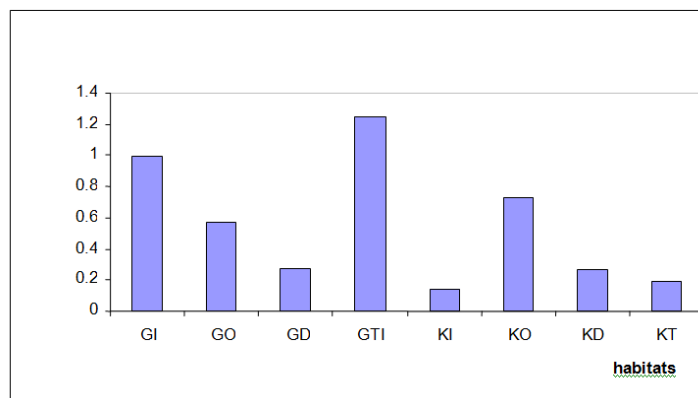
نتایج فعالیت آنزیم نترات‌رودکتاز در بهار و پاییز سال‌های ۱۳۸۹ و ۱۳۹۰ نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم نترات‌رودکتاز در فصل بهار در دو منطقه کلاردشت و گیلان از الگوی یکسانی پیروی نمی‌کنند (شکل ۵ و ۷). در گیلان فعالیت آنزیم در مرحله آغازین بیش از دو مرحله دیگر ولی کمتر از رویشگاه دست‌خورده است. اما در منطقه



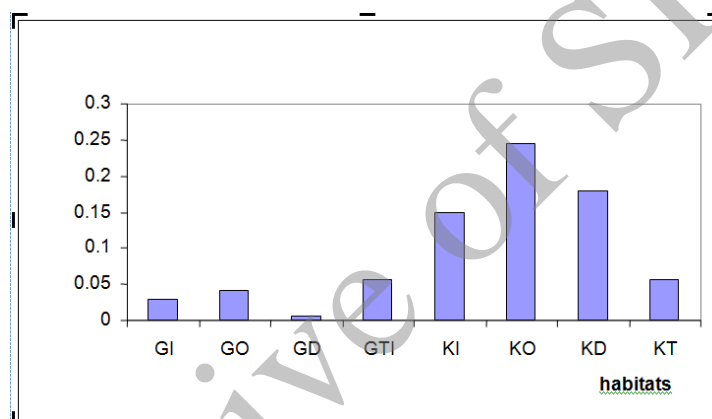
شکل ۳- میزان پتانسیل نیتروفیکاسیون (برحسب  $\text{ng N.g dm}^{-5}\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت در بهار ۱۳۹۰ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



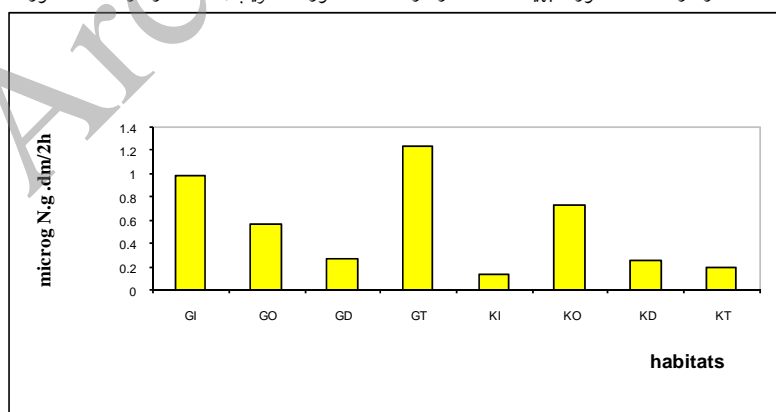
شکل ۴- میزان پتانسیل نیتروفیکاسیون (برحسب  $\text{g N.g.dm}^{-5}\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت در پاییز ۱۳۹۰ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



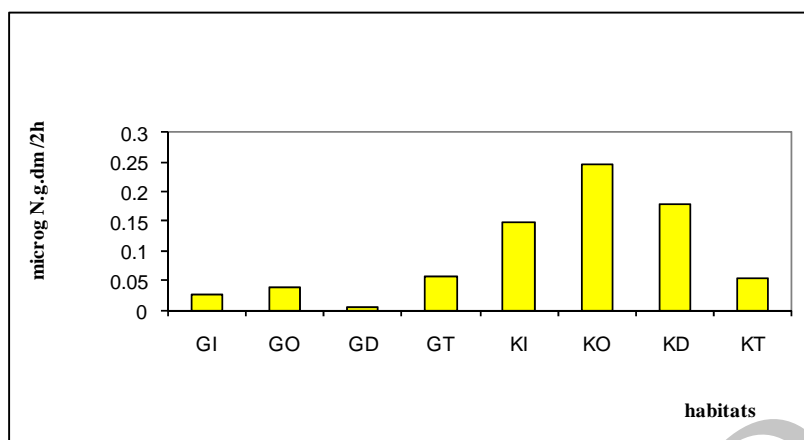
شکل ۵- میزان فعالیت آنزیم نیترات رودکتاز (برحسب  $\mu\text{gN.g.dm}/24\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت در بهار سال ۱۳۸۹ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



شکل ۶- میزان فعالیت آنزیم نیترات رودکتاز (برحسب  $\mu\text{gN.g.dm}/24\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت پاییز سال ۱۳۸۹ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



شکل ۷- میزان فعالیت آنزیم نیترات رودکتاز (برحسب  $\mu\text{gN.g.dm}/24\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت بهار سال ۱۳۹۰ (GI=گیلان دست‌نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).



شکل ۸- میزان فعالیت آنزیم نیترات رودکتاز (برحسب  $\mu\text{gN.g.dm}/24\text{h}$ ) در رویشگاه‌های گیلان و کلاردشت پاییز سال ۱۳۹۰ (GI=گیلان دست-نخورده آغازین، GO=گیلان دست‌نخورده بهینه، GD=گیلان دست‌نخورده تخریب، GT=گیلان دست‌خورده، KI=مازندران دست‌نخورده آغازین، KO=مازندران دست‌نخورده بهینه، KD=مازندران دست‌نخورده تخریب، KT=مازندران دست‌خورده).

## بحث

میکروبی و فعالیت آنزیم‌های خاک بعنوان شاخص‌های تشخیصی برای تعیین آسیب وارد شده استفاده کرد. در برخی مطالعات از اندازه و تنوع گروه‌های میکروبی با عملکرد خاص مثل قارچ‌های میکوریزی و باکتری‌های نیترات‌ساز برای تعیین اثرات مدیریت بر پایداری خاک استفاده شده است (۶ و ۱۱). در این مطالعه جمعیت باکتری‌های مؤثر در چرخه ازت، پتانسیل نیتروفیکاسیون و فعالیت آنزیم نیترات‌رودکتاز در رویشگاه‌های تخریب شده و تخریب نشده راش در دو استان گیلان و مازندران مطالعه شد. بررسی جمعیت باکتری‌ها نشان داد که میزان هر سه جمعیت میکروبی اکسید کننده آمونیوم، اکسید کننده نیتريت و denitrifier در رویشگاه دست‌نخورده‌تر در هر سه مرحله اولیه، بهینه و تخریب بیش از رویشگاه دست-خورده می‌باشد. این امر می‌تواند به دلیل شرایط اکولوژیک مناسب‌تر در نواحی دست‌نخورده‌تر باشد که شرایط را برای رشد جوامع میکروبی در مقایسه با رویشگاه‌های دست‌خورده مناسب‌تر می‌سازد. تخریب باعث کاهش سوبستراهای مورد استفاده جوامع میکروبی در نواحی تخریب‌شده و در نتیجه کاهش جمعیت آنها در این نواحی می‌شود (۲۵). تفاوت در میزان جوامع میکروبی می‌تواند

جنگل‌ها از مهمترین اکوسیستم‌های زمینی و ذخایر تنوع زیستی بوده و حفاظت از جنگل‌ها برای پایداری ارزش تولیدی، حفظ سلامت و حیات اکوسیستم‌های جنگلی و حفظ نقش‌های حمایتی، زیست محیطی و فرهنگی آن ضروریست (۴). عوامل متعددی بر حفظ و پایداری گونه‌های درختی و تنوع زیستی جنگل تأثیر می‌گذارند، علاوه بر آب و عناصر غذایی، حضور میکروارگانیسم‌های مفید در خاک به‌عنوان یکی از عوامل مؤثر بر بقای اکوسیستم‌ها و گسترش گونه‌های گیاهی مطرح است (۳).

آسیب به جنگل‌ها به طرق مختلف از جمله فعالیت‌های انسانی، آتش‌سوزی، چرای دام و غیره باعث تخریب جوامع بالای خاک و زیرخاک از طریق تغییر در خصوصیات فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک می‌شود. جوامع میکروبی مسئول تجزیه مواد گیاهی مرده و معدنی شدن مواد آلی و تبدیل آنها به مواد قابل استفاده برای گیاهان هستند. برای تخمین این آسیب‌ها از پارامترهای مختلف استفاده می‌شود. این امکان وجود دارد که بتوان از انواع مختلفی از پارامترهای میکروبی از جمله جمعیت‌های



بهینه‌بیش از دو مرحله دیگر است که بدلیل مناسب بودن شرایط برای فعالیت‌های میکروبی است. آنزیم نیترات-رودکتاز نقش مهمی در چرخه ازت دارد و در بسیاری از باکتری‌ها از جمله /شریشیا کلی، پاراکوکوس دنیتریفیکانس و سودوموناس دنیتریفیکانس یافت می‌شود. فعالیت نیترات‌رودکتاز در خاک ناشی از ترشح این آنزیم توسط باکتری‌هاست. بررسی فعالیت این آنزیم برای تعیین میزان ازت در اتمسفر و حذف ترکیبات مضر از خاک مفید است (۱۸). نتایج نشان دهنده عدم الگوی یکسان در فعالیت آنزیم نیترات‌رودکتاز در رویشگاه‌های گیلان و مازندران می‌باشد. در رویشگاه گیلان در هر دو فصل فعالیت نیترات‌رودکتاز در رویشگاه دست‌خورده بیش از رویشگاه دست‌نخورده است. این امر می‌تواند ناشی از شرایط رویشگاه و وجود سوسترهای بیشتر برای آنزیم باشد که در اثر تخریب وارد رویشگاه شده است. اما در مازندران فعالیت نیترات‌رودکتاز در رویشگاه دست‌نخورده‌تر بیش از رویشگاه دست‌خورده است که بنظر می‌رسد جوامع میکروبی آن قادرند بر تنش‌های ناشی از تخریب غلبه کند.

ناشی از تغییر در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک و کاهش رویش گیاهی در نواحی دست‌خورده در مقایسه با نواحی دست‌نخورده باشد. مواد مترشحه ریشه‌های گیاهی سوسترهای لازم را برای جوامع میکروبی فراهم می‌کنند (۲۰). تأثیر گونه‌های گیاهی و فراوانی آنها بر جمعیت‌های میکروبی ثابت شده است (۱۴). این امر می‌تواند دلیل کاهش جمعیت میکروبی در رویشگاه‌های دست‌خورده گیلان و مازندران در مقایسه با رویشگاه‌های دست‌نخورده باشد. یافته‌های ما نشان داد که پتانسیل نیتریفیکاسیون در فصل بهار در رویشگاه‌های دست‌خورده بیش از رویشگاه‌های دست‌نخورده است، این امر با یافته‌های (۲۴) مطابقت دارد که اغلب در مناطق تخریب یافته افزایش می‌یابد. میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون با میزان سوسترهای در دسترس (آمونوم) کنترل می‌شود که در مناطق دست‌خورده میزان آن افزایش می‌یابد (۱۹). کاهش پتانسیل نیتریفیکاسیون در رویشگاه‌های دست‌خورده در پاییز می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت جوامع میکروبی بدنال کاهش دما و ترشحات ریشه‌های گیاهی باشد. میزان پتانسیل نیتریفیکاسیون در رویشگاه‌های دست‌نخورده در مرحله

## منابع

- ۱- بی‌نام، ۱۳۸۵. کتابچه طرح جنگلداری حوضه ۹ سفارود، سازمان جنگل‌ها و مراتع کشور، ۲۸۹ ص
- ۲- ثاقب طالبی، خ.، شوتر ژان، ف.، گرگور، ا. ۱۳۸۱. بررسی نقش بعضی از عوامل محیطی بر روی خصوصیات کیفی نهال‌های راش. مجله منابع طبیعی ایران، ۵۵ (۴): ۵۰۵-۵۲۱.
- ۳- شریفی، م. قربانلی، م. و برای، م. ۱۳۸۶. بررسی خاک و پارامترهای زیستی در ریزوسفر درختان کاج و افاقیا در پارک‌های طالقانی و oxidizer communities in soil microcosms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20: 2462-2468.
- 7-Dilly, O. and Blume, H. P. 1998. Indicators to assess sustainable land use with reference to soil microbiology. *Advances in Genecology*, 31: 29-39.
- 8-Filip, Z.K. 1998. Soil quality assessment: an ecological attempt using microbiological and
- چیتگر استان تهران. مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۰، شماره ۱، ۴۹-۴۲
- ۴- صالحی شانجانی، پ. و وندرامین، ج. ۱۳۸۶. مطالعه تمایز ژنتیکی در بین نسل‌های جمعیت‌های راش (*Fagus orientalis* lipsky) جنگل‌های خزری، مجله زیست‌شناسی ایران، جلد ۲۰، شماره ۱، ۵۰-۶۰
- 5- Beare, M.H., Coleman, D.C., Crossley, D.A. Jr., Hendrix, P.F. and Odum, E.P. 1995. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant and Soil* 170(1): 5-22.
- 6- Chang, Y.J., Hussain, A.K.M.A., Stephen, J.R., Mullen, M.D., White, D.C. and Peacock, A., 2001. Impact of herbicides on the abundance and structure of indigenous beta-subgroup ammonia

- biochemical procedures. *Advances in Genecology*, 31: 21-2
- 9-Govedarica M., Poljoprivredni F., Novi Sad .Y., Najdenovska. O., Milosevic. N and Ilic-Popova, S. 1998. Number of physiological groups of microorganisms in soil sown with potato and fertilized with different fertilizing systems. AGRIS Centre
- 10 -Gray, D., Bending, M., Turner, K. and Julie E. J., 2002. Interaction between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities. *Soil biology and biochemistry*, 45: 1073-1082.
- 11-Helgason, T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H. and Young, J.P.W., 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature*, 394- 431.
- 12 -Herrick J.E., 2000. Soil quality: an indicator of sustainable land management? *Applied Soil Ecology*, 15: 75-83
- 13-Iriberry, M., Rodriguez, T., Egea L. and Barcina I., 2006. Spatial and seasonal distribution of bacterial physiological groups in two reservoirs with different trophic levels. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 16: 145 - 155
- 14- Kang S., and Mills A., 2004. Soil bacterial community structure changes following disturbance of the overlaying plant community. *Soil Science*, 169(1): 55-65
- 15-Kytöviita, M.M, Fritze, H. and Neuvonen, S., 1990. The effects of acidic irrigation on soil microorganisms at Kevo, *Northern Finland Environmental Pollution*, 66(1):21-31
- 16-Lua, D., Mauseb, P., Brondizioc, E. and Moran, E. 2003. Classification of successional forest stages in the Brazilian Amazon basin. *Forest Ecology and Management*, 181: 301-312
- 17- Makawi, A.A., Abdel-Nasser, M, and Abdel-Moneim, A.A., 1979. Quantitative effects of some pesticides on certain physiological groups of micro-organisms in soil. *Zentralbl Bakteriol Naturwiss*, 134 (3): 223-228
- 18-Nath, R. and Samanta, R., 2012. Soil pH, microbial population, nitrate reductase and alkaline phosphatase activities of different environment of Dibrugarh district, Assam. *Advances in Applied Science Research*, 3 (3): 1772-1775
- 19-Robertson, G.P., 1982. Factors regulating nitrification in primary and secondary succession. *Ecology*, 63(5):1561-73.
- 20-Rovira, A.D., 1965. Interaction between plant roots and soil microorganisms. *Annual Review of Microbiology*, 19: 241-266
- 21-Ruiz Palomino, M., Lucas García, J.A., Ramos, B., Gutierrez Mañero, F.J. and Probanza, A., 2005. Seasonal diversity changes in alder (*Alnus glutinosa*) culturable rhizobacterial communities throughout a phenological cycle. *Applied Soil Ecology*, 29 (3): 215-224
- 22-Schinner, F., Ohlinger, R., Kandeler, E. and Margesin, R., 1996: *Methods in soil biology*. Springer-Verlage Berline Hidelberg, 418 pp
- 23- Schmidt, E. L. and Besler, L.W., 1982. Methods of soil analysis, part 2. In *Chemical and biological properties*. Agronomy monograph no 9. (2<sup>nd</sup> edition). Segoe Rd. Madison
- 24-Vitousek, P.M. and Melillo, J.M., 1979. Nitrate losses from. ( for disturbed forests: patterns and mechanisms): *Forest Science*, 25: 605-19
- 25-Zabinski, K. and Gannon, J. 1997. Effects of recreational impacts on soil microbial community. *Environmental management*, 21(2): 233-238

## Investigation and comparison of bacterial population involved in damaged and undamaged areas of beech forest

Teimouri M., Khoshnevis M., Matinizadeh M. and Rahman A.

Forest Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R. of Iran

### Abstract

Nitrogen cycle includes fixation, mineralization of nitrogenous organic compounds, nitrification and denitrification that microorganisms have important role. The aim of this project was to study of microbial population involved in nitrogen cycle, nitrification potential and nitrate reductase assay in disturbed and undisturbed habitats of beech (*Fagus orientalis*). Microbial population of ammonium oxidizer, nitrite oxidizer and denitrifier were measured by MPN method. Nitrification potential and nitrate reductase assay was done by colorimetric methods. Results indicated difference between disturbed and undisturbed habitats in microbial population, nitrification potential and nitrate reductase activity. The highest amount of microbial population was seen in optimal stage of undisturbed habitats. The amount of microbial population was higher in undisturbed habitats than disturbed ones. This may result from better ecological situation for microbial growth in undisturbed. Nitrification potential was more in disturbed habitats in spring but less in disturbed habitats in fall due to decrease of temperature and plant exudates. Nitrate reductase activity was more in disturbed habitats in Gilan in both seasons that indicates more substrate for enzyme because of habitat disturbance. But in Mazandaran habitats nitrate reductase activity was more in undisturbed habitats. In conclusion it seems microbial parameters are good tools to determine soil condition in forest ecosystem.

**Key words:** Disturbed; *Fagus orientalis*; Microbial population; Undisturbed