مجلة البصرة للعلوم الزراعية، المجلد 27 (2)،83- 97 ،2014

تأثير درجة الحرارة في الفعالية والمقاييس الثرموداينامكية لإنزيمات الفوسفاتيز في بعض ترب جنوبي العراق

عبد المهدي صالح الأنصاري[1] و ميعاد مهدي الجابري[1] و عبدالستار مهلهل خلف الحجاج[2]

1قسم علوم التربة والموارد المائية، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.

2مديرية زراعة البصرة، وزارة الزراعة، العراق

المستخلص: أجريت تجربة تحضين في مختبرات قسم علوم التربة والموارد المائية /كلية الزراعة /جامعة البصرة لغرض دراسة تأثير اختلاف درجة الحرارة من 10 – 80 م^5 في فعالية إنزيمات الفوسفاتيز القاعدي و الحامضي والبايروفوسفاتيز المعدني وتقدير المقاييس الثرموداينامكية لها المتضمنة طاقة التنشيط (Ea) ومعامل الحرارة (Q_{10}) في بعض ترب جنوبي العراق وللعمقين 0 – 15 سم و 15 – 30 سم . أدت زيادة درجة الحرارة من 10 – 60 م^5 إلى زيادة فعالية إنزيمات الفوسفاتيز في جميع ترب الدراسة وللعمقين وكان معدل نشاط الأنزيمات حسب الترتيب التالي:. الفوسفاتيز الحامضي > الفوسفاتيز القاعدي > البايروفوسفاتيز المعدني بينما زيادة درجة الحرارة أكثر من 60 م^5 أدى إلى انخفاض حاد في فعالية الأنزيمات واختلفت قيم طاقة التنشيط Ea للإنزيمات باختلاف الترب المدروسة والعمق اعتماداً على اختلاف تركيز الإنزيم والخصائص الأولية لكل تربة كالنسجة ومحتواها من المادة العضوية إذ أظهرت تربة ذي قار أكثر مقاومة للتغيرات الحرارية مقارنةً بترب الدراسة الأخرى بينما كانت تربة الزبير أقل مقاومة لتلك التغيرات. وتشير النتائج الى انخفاض قيم (Q_{10}) مع زيادة درجة الحرارة و اختلفت قيم (Q_{10}) باختلاف صفات التربة.

الكلمات المفتاحية. حرارة ، فوسفاتيز ، تنشيط ، ثرموداينامكية.

المقدمة

يتأثر نشاط انزيمات التربة بشكل مباشر وغير مباشر بحرارة التربة (8 , 16 , 24) . درس Gawas – Sakhalkar *et al.*,(2012) (15) تأثير تزايد درجة الحرارة على نشاط انزيم الفوسفاتيز الحامضي والقاعدي الحر ووجد أن اقصى فعالية لأنزيم الفوسفاتيز بين 40 – 60 م^5 وبلغ اقصى نشاط عند 60 م^5. وجد Banerjee *et al* .,(2012) (3) في تجربة لمعرفة اقصى نشاط لأنزيمات الفوسفاتيز وذلك بالتحضين على درجات حرارة مختلفة (17 و 27 و 37 و 47 و 57 و 67) م^5 أن أعلى نشاط كان عند التحضين على 37 م^5 . درس Abdulkareem and Al-Ansari (2008) (1) تأثير أرتفاع درجة حرارة الحضن على نشاط إنزيم البايرو فوسفاتيز المعدني (Inorganic pyrophosphatase) في ثلاث ترب مختلفة (الأهوار والزبير وأبي الخصيب) جنوبي العراق فوجدا أن فعالية الأنزيم في كل الترب المدروسة تزداد بزيادة درجة الحرارة من 10– 60 م^5 ، وأن

أرتفاع درجة الحرارة أعلى من 60 م^5 أدت الى أنخفاض نشاط الأنزيم ، وفسرا ذلك الى أن معظم إنزيمات التربة تتحطم وتفقد نشاطها بين (60–70) م^5 وفي دراسة (1993)Saa *et al.* (19) حول التأثيرات الحرارية على فعالية انزيم الفوسفاتيز عند درجة الحرارة أقل من 50 م^5 ولعمق 5 سم من سطح التربة وجد أنه لم يكن هناك تأثير لدرجة الحرارة على فعالية الأنزيم ، ولكن عند ارتفاع درجة حرارة التربة أعلى من ذلك لاحظ انخفاضا معنوياً في فعالية الأنزيم ولعمق 10 سم من سطح التربة هذهِ النتائج أكدت على تأثر وحساسية النشاط الأنزيمي لزيادة درجة الجهد الحراري . إن معرفة ثباتية الإنزيم بمختلف درجات الحرارة أمر مهم وأساسي حيث أكدت الدراسات حول تأثير درجة الحرارة على فعالية الإنزيم أن معظم إنزيمات التربة تكون غير نشطة وتفقد طبيعتها عند درجة الحرارة بين (60 –70) مْ (26 , 24).تتأثر المقاييس الثرموداينامكية للأنزيمات (طاقة التنشيط Ea, activation energy ومعامل درجة الحرارة Q_{10}, temperature coefficient) بتغير درجة الحرارة . بين (1985)Dalal, (7) امكانية تخمين مقاييس طاقة التنشيط (Ea) ومعامل درجة الحرارة (Q_{10}) من خلال دراسة تأثير درجات الحرارة على فعالية الأنزيمات.ومن جانب آخر أشار كل من Saleem (2005) *et al.*, (20) و Trasar Cepeda (2007) *et al.*((28) الى أن تأثير درجات الحرارة على قيم Ea وQ_{10} تكون في الأنزيمات الممتزة اقل مما في الأنزيمات الحرة في التربة أشار ت بعض الدراسات الى أن قيم Q_{10} للتفاعلات الأنزيمية تكون < 2 (28, 6 , 13) وتختلف قيمة Ea بأختلاف الفوسفاتيز أو تحت الظروف المختلفة(29) . وأشار Perucci and Scarponi (1984) (18) الى أن قيم Ea تعكس الألفه بين الإنزيم والمادة الخاضعة وان القيمة المنخفضة لـ Ea تدل على التكوين الضعيف للمركب الوسطي المعقد المكون من الإنزيم– المادة الخاضعة. وان معامل درجة الحرارة Q_{10} يستعمل غالباً لدراسة تأثير درجة الحرارة في التفاعلات المحفزة إنزيميا ويكون هذا النوع من التفاعل اقل تأثرا لارتفاع درجة الحرارة مقارنة بالتحولات الكيميائية (30). ونظراً لقلة الدراسات حول نشاط بعض إنزيمات هذه المجموعة (الفوسفاتيز) في ترب جنوبي العراق ، فقد تم إجراء هذا البحث لدراسة تأثير درجة الحرارة في فعالية إنزيمات الفوسفاتيز وحساب مقاييسها الثرموداينامكية في ترب ذات صفات مختلفة جمعت من مناطق تختلف في صفاتها الكيميائية والفيزيائية وحالتها الزراعية.

المواد وطرائق العمل

اخذت عينات التربة في شهر تشرين الثاني 2012 من خمسة مواقع مختلفة في خصائصها البيولوجية والفيزيوكيميائية من ترب جنوبي العراق للعمقين 0 – 15 سم و 15 – 30 سم جدول (1). لدراسة فعالية إنزيمات الـ phosphatase المتضمنة الفوسفاتيز القاعدي والفوسفاتيز الحامضي والبايروفوسفاتيز المعدني .

جفف جزء من عينات التربة هوائياً وطحنت ونخلت من منخل قطر فتحاته 2 ملم لدراسة الخصائص

الكيميائية والفيزيائية لترب الدراسة جدول(2) حسب الطرق الو اردة في(Blak,(1965 و Page *et al* (1982) . واحتفظ بالجزء الباقي في المجمدة للتجارب الحيوية والزراعية اللاحقة ، تمت دراسة تأثير درجة الحرارة في فعالية الإنزيمات بأخذ 1 غم تربة جافة وقدر فيها نشاط الإنزيم عند التحضين على الدرجات الحرارية 10 و 20 و 30 و 40 و 50 و 60 و 70 و 80 م^5 واستخدم تركيز المادة الخاضعة الذي أعطى أعلى نشاط لكل أنزيم وحسب ترب الدراسة المختلفة وللعمقين (0 – 15 سم و 15 –30 سم).

جدول (1). مواقع اخذ العينات وحالتها الزراعية.

العينة		الموقع	الوضع الزراعي
محافظة البصرة	الأهوار المجففة المزروعة	منطقة هوير عكاب . ناحية عزالدين سليم	بستان نخيل
	أبي الخصيب	منطقة السراجي	مزروعة سابقاً بمحصول الجت و غير مستغلة عند اخذ العينة
	الزبير	منطقة شرق الشعيبة	مزروعة طماطة في وقت أخذ العينة /التربة مسمدة بسماد عضوي من مخلفات الأبقار
محافظة ذي قار		ناحية سيد دخيل	مزروعة خيار في وقت أخذ العينة
محافظة ميسان		ناحية العزير . شرق طريق . بصرة – بغداد	مزروعة سابقاً بالشعير و مهيأة للزراعة عند اخذ العينة.

تم قياس نشاط إنزيم الفوسفاتيز القاعدي حسب طريقة (Tabatabai and Bremner ,1969) وذلك بتحضين 1 غم من ترب الدراسة مع 0,2 مل من التولوين و4 مل من المحلول المنظم القاعدي المكون من [12,1 غم (THAM) + Tris (hydroxymethyl) aminomethan 11,6 غم + maleic acid 14 غم citric acid + 6, 3 غم boric acid المذابة في 488 مل من هيدروكسيد الصوديوم 1 مولر ثم اكمال الحجم الى 1 لتر وايصال الحامضية الى pH = 11 (باستخدام هيدروكسيد الصوديوم NaOH 0,1 مولر)] و إضافة 1 مل من المادة الخاضعة [($NO_2C_2H_4OPO_2Na_2.6H_2O$) di–Sodium–4–nitrophenyl phosphate Hexahydrate المذابة بمحلول منظم قاعدي] بتركيز 0,05 مولر وحضن على درجة حرارة 10 ,80 ,70 ,60 ,50 , 40 , 30 , 20 ,مْ لمدة ساعة . بعد التحضين مباشر ةً تم إضافة 1 مل من

محلول $CaCl_2$ (0,5 مولر) و 4 مل من NaOH (0,5 مولر) كمثبط لنشاط الإنزيم ، رشح المحلول من خلال ورق ترشيح Whatman رقم 42. وأخذ 1 مل من الراشح وقدر اللون الأصفر بواسطة جهاز الـ spectrophotometer على طول موجي 420 نانومتر.

العمق 15 – 30 سم						العمق 15 – 30 س					
ميسان	ذي قار	الزبير	أبي الخصيب	الأهوار	التربة	ميسان	ذي قار	الزبير	أبي الخصيب	الأهوارأ	التربة
7,5	7,8	7,7	7,7	7,7	pH	7,3	7,6	8,0	7,5	7,6	pH
11,26	3,24	7,76	15,69	7,59	ECe dS m^{-1}	9,68	9,14	9,18	30,40	15,57	ECe dS m^{-1}
370	310	50	415	340	الكاربونات الصلبة الكلية	375	325	70	435	355	الكاربونات الصلبة الكلية
14,14	14,14	8,48	15,55	8,484	الكاربون العضوي	15,55	11,31	5,65	22,62	18,38	الكاربون العضوي
24,37	24,37	14,62	26,81	14,62	المادة العضوية	26,81	19,50	9,75	39,00	31,69	المادة العضوية
1,89	0,98	1,05	1,96	1,05	النتروجين الكلي	2,31	1,26	1,26	1,96	1,47	النتروجين الكلي
7,48	14,42	8,07	7,93	8,07	C:N	6,73	8,97	4,48	11,54	12,50	C:N
5,13	3,94	12,50	11,30	4,45	الفسفور الجاهز ملغمP كغم$^{-1}$ تربة	9,42	5,99	7,19	13,53	14,21	الفسفور الجاهز ملغمP كغم$^{-1}$ تربة
47,03	55,94	692,76	89,86	72,77	الرمل g kg^{-1}	47,03	55,94	692,76	89,86	72,77	الرمل g kg^{-1}
680,69	209,79	235,75	138,25	469,48	الغرين g kg^{-1}	680,69	209,79	235,75	138,25	469,48	الغرين g kg^{-1}
272,28	734,27	71,49	771,89	457,75	الطين g kg^{-1}	272,28	734,27	71,49	771,89	457,75	الطين g kg^{-1}
غرينية طينية	طينية	رملية غرينية	طينية	غرينية طينية	النسجة	غرينية طينية	طينية	رملية غرينية	طينية	غرينية طينية	النسجة
161	150	129	155	189	نشاط الفوسفاتيز القاعدي مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 1 ساعة$^{-1}$	297	277	277	506	333 2	نشاط الفوسفاتيز القاعدي مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 1 ساعة$^{-1}$
355	405	225	413	325	نشاط الفوسفاتيز الحامضي مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 1 ساعة$^{-1}$	148	160	125	160	133	نشاط الفوسفاتيز الحامضي مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 1 ساعة$^{-1}$
44	25	10	19	88	نشاط البايروفوسفاتيز المعدني مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 5 ساعة$^{-1}$	55	40	30	42	71	نشاط البايروفوسفاتيز المعدني مايكروغرام غم$^{-1}$ تربة 5 ساعة$^{-1}$

جدول (2) الخصائص الأولية الكيميائية والفيزيائية والحيوية لترب الدراسة

واتبعت نفس طريقة تقدير الفوسفاتيز القاعدي في تقدير نشاط إنزيم الفوسفاتيز الحامضي حسب طريقة (Tabatabai and Bremner ,1969; Eivazi&Tabatabai ,1977) لكن باستخدام المحلول المنظم ألحامضي عند pH = 6,5 بدلاً من pH = 11 وذلك بتعديل الحموضة باستخدام حامض الهيدروكلوريك 0,1 مولر . تم قياس نشاط إنزيم البايروفوسفاتيز المعدني حسب طريقة (Dick and Tabatabai ,1978) وذلك بتحضين 1 غم من التربة في عبوة بلاستيكية حجم 100 مل وإضافة 3 مل من محلول صوديوم بايروفوسفيت ($Na_4P_2O_7.10H_2O$) بتركيز 0,05 مولر ثم غلق العبوات البلاستيكية وحضنها على الدرجات الحرارية أعلاه لمدة 5 ساعات بعدها يضاف 3 مل من المحلول المنظم pH=8 المكون من [نفس المواد السابقة والمذابة في 488 مل من هيدروكسيد الصوديوم 1 مولر ثم اكمال الحجم إلى 1لتر وإيصال الحامضية الى pH =8 باستخدام حامض HCl 0,1 مولر] و إضافة 25 مل من حامض الكبريتيك تركيز 0,5 مولر بعد ذلك رج الخليط لمدة ثلاثة دقائق ثم فصل الراشح بواسطة جهاز الـ Centrifuge 12000 د/دقيقة لمدة نصف دقيقة ولتقدير كميةالفسفور المتحرر من البايروفوسفيت أخذ 1 مل من الراشح ووضع في دورق حجمي سعة 25 مل يحتوي على 10 مل من محلول (A) {8,8 g Ascorbic acid + 41.0 g Trichloro acetic acid} أضيف اليها 2 مل من محلول(B) {مولبيدات الأمونيوم بتركيز 0,015 مولر } و 5 مل من محلول(C) {44,1g Sodium citrate +39 g Sodium arsenite + 75 ml glacial acitic acid} ثم اكمل الحجم الى 25 مل وقدر اللون الأزرق بجهاز spectrophotometerعلى طول موجي 700 نانومتر نفذت التجربة بثلاثة مكررات كتجارب عاملية (Factorial experiment) وبتصميم كامل العشوائية (Complete Randomized Design, CRD) (الراوي ،1980) حللت الصفات المدروسة باستخدام تحليل التباين IBM SPSS Statistics 19 . وتم حساب المقاييس الثرموداينامكية المتضمنة:

- طاقة التنشيط (Energy of activation, Ea) وفق المعادلة الآتية:

$K = A \cdot \exp(-Ea/RT)$ ……. Arrhenius equation

الموصوفة من قبل(1994) Tabatabai ، وتم حساب قيم Ea من تحويل المعادلة أعلاه الى الصورة اللوغاريتمية :

$\text{Log } K = (-Ea/2.303\ RT) + \text{Log } A$

حيث :A تمثل Preexponential factor ، Ea تمثل طاقة التنشيط (كيلوجول مول$^{-1}$) ، R ثابت الغاز 8,314 (جول درجة$^{-1}$ مول$^{-1}$) ، T درجة الحرارة (Kelvin) ، وحسبت قيم Ea للترب المدروسة من رسم العلاقة الخطية بين Log K ومقلوب درجة الحرارة 1/T باستخراج ميل الخط المستقيم الذي يساوي $\frac{-Ea}{2.303\ R}$.

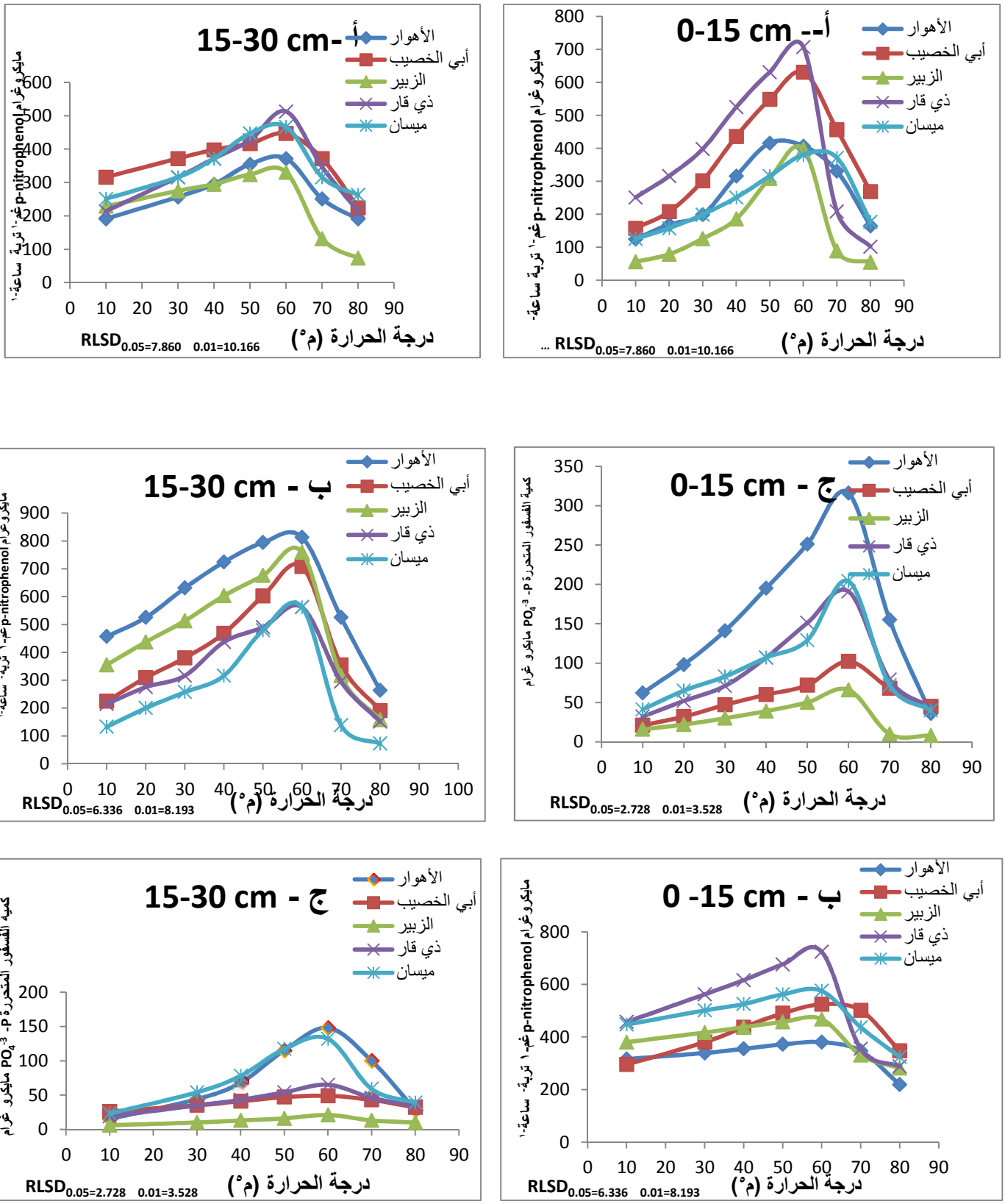
اذ K تمثل المادة الناتجة من نشاط الإنزيم بوحدة مايكروغرام المادة الناتجة غم$^{-1}$ تربة ساعة$^{-1}$. معامل الحرارة (Temperature Coefficient Q_{10}) حسبت وفق المعادلة التالية:

$$Q_{10} = \exp \frac{10000\ Ea}{8.314\ T\ (T + 10)}$$

النتائج والمناقشة

يبين الشكل (1) زيادة فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي والحامضي والبايروفوسفاتيز المعدني بارتفاع درجة حرارة التحضين من 10 إلى 60 مْ لجميع الترب المدروسة ولكلا العمقين 0–15سم و 15–30 سم ، وان ارتفاع درجة حرارة التحضين اكثر من 60 مْ أدت إلى إنخفاض معنوي حاد في فعالية الإنزيم . تزداد سرعة معظم التفاعلات الكيميائية مع زيادة درجة الحرارة ، إذ إن الجزيئات المتفاعلة تكتسب طاقة حركية اكبر نتيجة الزيادة في درجة الحرارة مما ينتج عنها زيادة في التصادم لكل وحدة زمنية. وتسلك التفاعلات الانزيمية نفس الطريقة حتى بلوغ درجة حرارة معينة بعدها تتأثر الانزيمات سلباً بسبب التغير الذي يحدث في تركيب الإنزيم (21) . ويلاحظ أرتفاع معدل أقصى فعالية لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي بالترب المدروسة عند العمق 0 – 15 سم مقارنةً بالعمق 15–30سم وقد يعود ذلك إلى الفعالية الأولية للأنزيم في هذا العمق والى ارتفاع كمية الكاربون العضوي والنتروجين الكلي في العمق السطحي مقارنةً بالعمق تحت السطحي إذ بين Carreiro *et al* (2000)., (5) و Gallo *et al* .,(2004)(14) أن زيادة الكاربون والنتروجين الجاهز زادت من نشاط الأنزيم ولكن تأثير هذه الأضافات يعتمد على ألفة الأنزيم وشكل الكاربون والنتروجين المضاف .

اما أنزيم الفوسفاتيز الحامضي فيلاحظ من الشكل (1) أرتفاع معدل أقصى فعالية للإنزيم بالترب المدروسة عند العمق 15–30سم مقارنة بالعمق 0 – 15 سم وقد يعود سبب ذلك إلى أن العمق تحت السطحي يمثل طبقة انتشار جذور النباتات التي تمثل المصدر الرئيسي للإنزيم الحامضي (10). أظهر إنزيم البايروفوسفاتيز المعدني ارتفاع معدل أقصى فعالية للأنزيم عند العمق 0 – 15 سم مقارنةً بالعمق 15–30سم وقد يعود ذلك إلى الفعالية الأولية للأنزيم في هذا العمق اذ أشار (Tabatabai and Dick 1979) (25) إلى أن نشاط البايروفوسفاتيز يتركز في الطبقة السطحية للترب ويقل مع العمق، ويرتبط بعلاقة معنوية موجبة مع الكربون العضوي في الترب و نسبة الطين، وعلاقة سلبية مع نسبة $CaCO_3$ في سطح التربة . يلاحظ من الجدول(3) أرتفاع معدل النشاط الأنزيمي لتربة ذي قار مقارنةً مع بقية ترب الدراسة وذلك قد يكون بسبب الخصائص الأولية للتربة والى نوع الغطاء النباتي وطبيعة إدارة المزرعة ، اقل معدل نشاط انزيمي وجد في تربة الزبير وذلك قد يعود إلى الخصائص الأولية للتربة كانخفاض نسبة الطين وانخفاض كمية المادة العضوية فيها كما يلاحظ في الجدول ارتفاع معدل نشاط إنزيم الفوسفاتيز الحامضي مقارنةً مع نشاط القاعدي والبايروفوسفاتيز وهذا يدل على أن نشاط إنزيم الفوسفاتيز الحامضي مقاوم أكثر من الأنزيمين الآخرين بزيادة درجة حرارة التحضين من 10 – 60 م^5



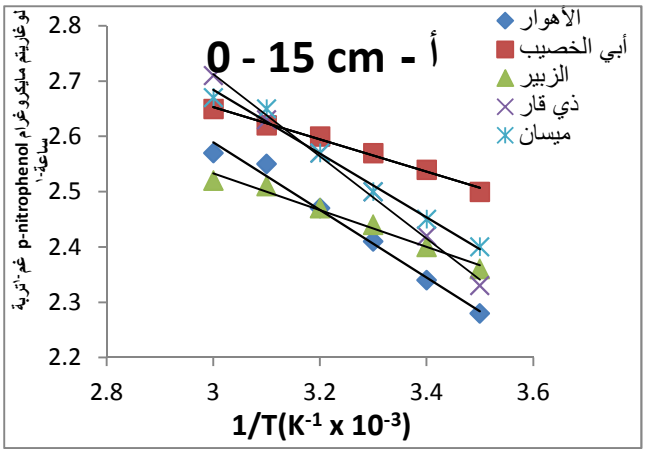
شكل رقم (1): تأثير درجات الحرارة على نشاط انزيمات الفوسفاتيز (أ- القاعدي ب- الحامضي ج- البايروفوسفاتيز المعدني) للعمقين0-15سم و 15 – 30 سم.

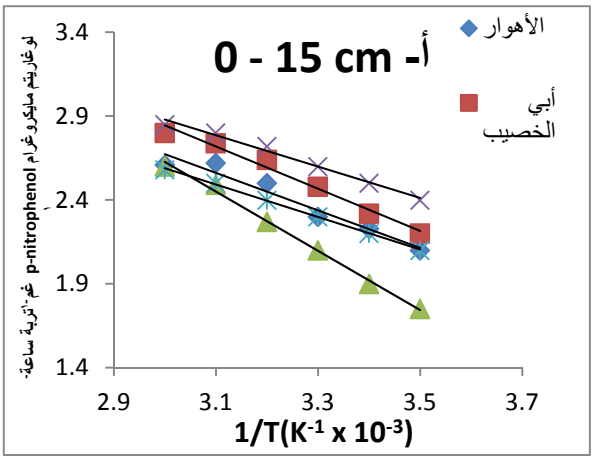
جدول (3): معدل فعالية إنزيمات الفوسفاتيز بتأثير الحرارة.

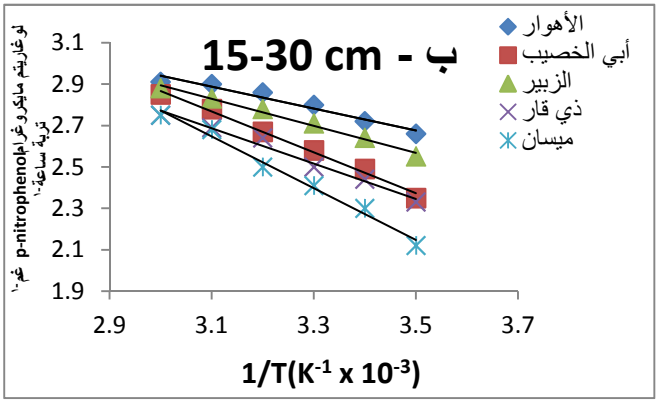
العمق / التربة	القاعدي	الحامضي	البايروفوسفاتيز	المعدل
الأهوار	394,0	596,5	232,0	407,5
أبي الخصيب	539,0	616,0	75,5	410,2
الزبير	364,5	613,5	43,5	340,5
ذي قار	610,0	643,0	128,0	460,3
ميسان	423,5	568,5	168,0	386,7
المعدل	466,2	607,5	129,4	

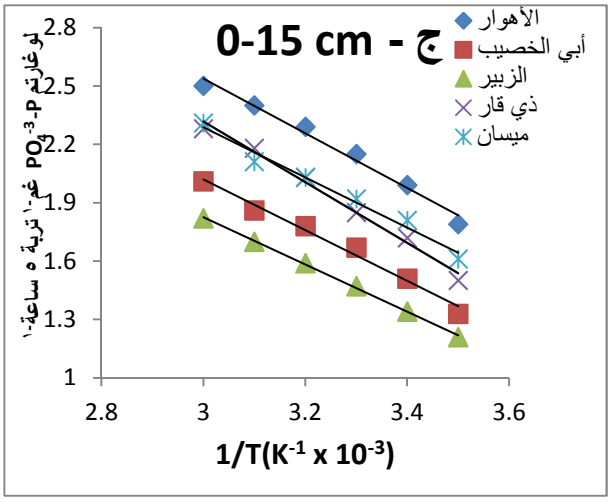
المقاييس الثرموداينامكية

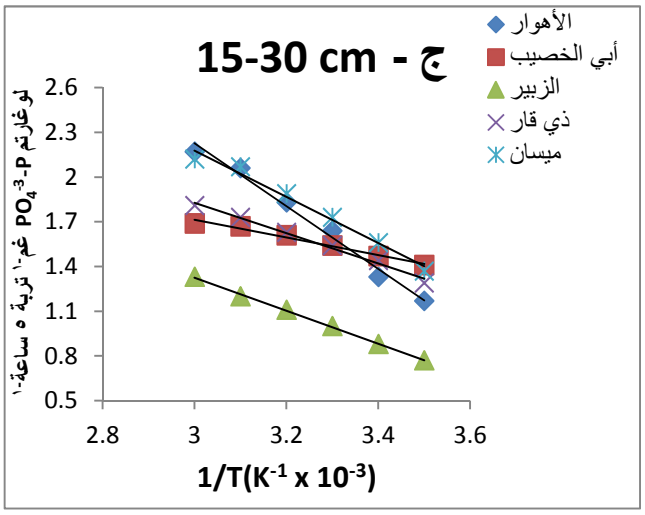
يبين الشكل (2) وجود علاقة خطية بين لوغاريتم كمية P–nitrophenol مايكرو مول غم$^{-1}$ تربة ساعة$^{-1}$ الناتجة من فعالية إنزيمات الفوسفاتيز القاعدي والحامضي و لوغاريتم كمية PO_4^{-3} – P مايكرو مول غم$^{-1}$ تربة 5 ساعة$^{-1}$ الناتجة من فعالية إنزيم البايروفوسفاتيز المعدني والدرجات الحرارية من 10–60 مْ لجميع الترب المدروسة وللعمقين 0– 15 سم و 15–30 سم والموضحة بمعادلة الخط المستقيم (جدول 4) وقد حسبت قيم Ea للإنزيم في الترب المدروسة والموضحة بالجدول (5) .يبين الجدول(5) أن أعلى معدل لقيم Ea كان لإنزيم البايروفوسفاتيز اذ بلغ 25,165 كيلو جول. مول$^{-1}$ أما اقل قيمة لمعدل Ea كان لأنزيم الفوسفاتيز ألحامضي اذ بلغ 11,051 كيلو جول . مول$^{-1}$ ، إذ أشار Ahmad and Kelso.,(2001) (2) إلى أن تحلل البايروفوسفات تناسب طردياً مع الحرارة والمحتوى الرطوبي وأعلى تحلل حصل عند درجة حرارة 45 م^{5} وأقل تحلل عند 5 م^{5} . وأظهرت تربة الأهوار أعلى معدل لقيم Ea إذ بلغ 18,935 كيلو جول . مول$^{-1}$ وأظهرت تربة ابي الخصيب اقل معدل لقيمة Ea حيث بلغت 15,808 كيلو جول .مول$^{-1}$.إذ أشار كل من Saleem *et al* . (2005) (20) و Trasar Cepeda *et al.*,(2007) (28) إلى أن تأثير درجات الحرارة على قيم Ea و Q_{10} تكون في الأنزيمات الممتزة أقل مما في الأنزيمات الحرة في التربة. وأشار (18) Perucci and Scarponi (1984) إلى أن قيم

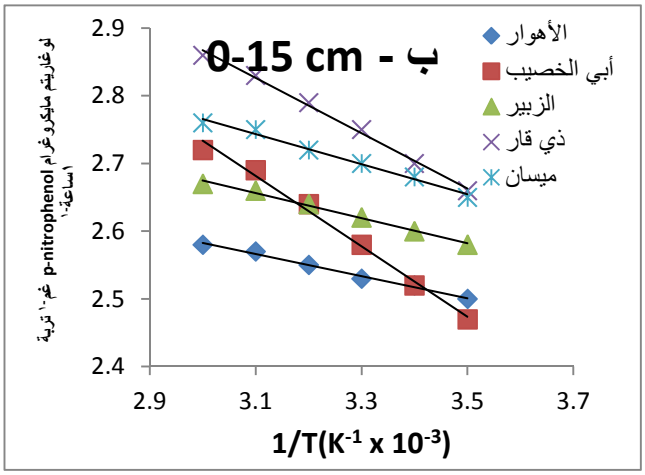












شكل (2) العلاقــة الخطيــة بين درجات الحــرارة المختلفة و نشاط إنزيمــات الفوسفاتيز(أ – القاعــدي ب – الحامضي ج –البايروفوسفاتيز) للعمقين 0– 15 و 15 – 30 سم.

جدول (4): قيم معامل الأرتباط (r) ومعادلات الخط المستقيم للعلاقة بين درجات الحرارة وفعالية أنزيمات الفوسفاتيز القاعدي

التربة	العمق 0 – 15 سم		للعمق 15 – 30 سم	
	r	معادلة الخط المستقيم	r	معادلة الخط المستقيم
الاهوار	0.974	Y= -1.12x + 6.033	0.992	Y = -0.611x + 4.423
ابي الخصيب	0.989	Y = -1.262x + 6.684	0.994	Y= -0.291x + 3.527
الزبير	0.997	Y = -1.768x + 7.932	0.989	Y = -0.331x + 3.527
ذي قار	0.994	Y = -0.934x + 5.681	0.997	Y =-0.742x + 4.941
ميسان	0.999	Y= -0.971x + 5.503	0.991	Y =- 0.577x + 4.415

الحامضي

التربة	r	معادلة الخط المستقيم	r	معادلة الخط المستقيم
	العمق 0 – 15سم		العمق 15 – 30 سم	
الأهوار	0.995	Y= −162x + 3.071	0.976	Y = − 0.528x + 4.526
أبي الخصيب	0.995	Y = −0.52x + 4.293	0.996	Y = − 0.988x + 5.832
الزبير	0.996	Y = − 0.185x + 3.231	0.993	Y = − 0.654x + 4.838
ذي قار	0.997	Y = − 0.408x + 4.092	0.994	Y = − 0.854x + 5.334
ميسان	0.993	Y = − 0.222x + 3.434	0.992	Y = − 1.251x + 6.527

البايروفوسفاتيز المعدني

التربة	العمق 0 – 15سم		العمق 15 – 30سم	
	r	معادلة الخط المستقيم	r	معادلة الخط المستقيم
الأهوار	0.991	Y = −1.405x + 6.755	0.992	Y = − 2.108x + 8.552
أبي الخصيب	0.992	Y = − 1.302x + 5.927	0.990	Y = − 0.591x + 3.487
الزبير	0.999	Y = − 1.214x + 5.468	0.998	Y = − 1.105x + 4.641
ذي قار	0.994	Y = − 1.56x + 6.996	0.994	Y = − 1.017x + 4.879
ميسان	0.989	Y = − 1.288x + 6.152	0.990	Y = − 1.554x + 6.841

التربة	Ea كيلو جول مول$^{-1}$			
	القاعدي	الحامضي	البايروفوسفاتيز	المعدل
الأهوار	16,571	6,605	33,631	18,935
أبي الخصيب	14,867	14,436	18,122	15,808
الزبير	20,094	8,032	22,200	16,775
ذي قار	16,045	12,081	24,669	17,598
ميسان	14,819	14,101	27,207	18,709
المعدل	16,479	11,051	25,165	

جدول (5): قيم طاقة التنشيط (Ea) لأنزيمات الفوسفاتيز للترب المدروسة.

Ea تعكس ألألفه بين الإنزيم والمادة الخاضعة وان القيمة المنخفضة لـ Ea تدل على التكوين الضعيف للمركب الوسطي المعقد المكون من الإنزيم– المادة الخاضعة. يبين الجدول(6) انخفاض قيم Q_{10} بارتفاع درجة الحرارة لكل الترب وللعمقين. ارتفاع قيم Q_{10} لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي في العمق 0 – 15 سم مقارنةً بقيم Q_{10} للعمق 15 – 30 سم وهذا قد يكون بسبب اختلاف فعالية الأنزيم عند العمقين اما الفوسفاتيز ألحامضي يلاحظ ارتفاع قيم Q_{10} في العمق 15 – 30 سم مقارنةً بقيم Q_{10} للعمق 0 – 15 سم وهذا قد يكون بسبب اختلاف فعالية الأنزيم عند العمقين . يلاحظ من جدول(6) أن أعلى معدل قيم Q_{10} لأنزيم الفوسفاتيز القاعدي للعمق 0 – 15 سم تربة الزبير وأعطت تربة ذي قار أقل معدل لقيم Q_{10} حيث كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة الزبير (1,460) عند درجة حرارة 60 م^5 هي اعلى من اعلى قيمة Q_{10} في تربة ذي قار (1,296) والتي كانت عند درجة حرارة 10م^5 اما عند العمق 15 – 30 سم اعطت تربة ذي قار اعلى معدل لقيم Q_{10} واعطت تربة ابي الخصيب اقل معدل لقيم Q_{10} حيث كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة ذي قار (1,171) هي اعلى من اعلى قيمة Q_{10} في تربة ابي الخصيب. يلاحظ من جدول(6) أن اعلى معدل قيم Q_{10} لأنزيم الفوسفاتيز الحامضي للعمق 0 – 15 سم تربة ابي الخصيب واعطت تربة الأهوار أقل معدل لقيم Q_{10} حيث كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة ابي الخصيب (1,117) عند درجة حرارة 60 م^5 هي اعلى من اعلى قيمة Q_{10} في تربة الأهوار (1,046) والتي كانت عند درجة حرارة 10 م^5 أما عند العمق 15 – 30 سم أعطت تربة ميسان اعلى معدل لقيم Q_{10} وأعطت تربة الأهوار اقل معدل لقيم Q_{10} حيث

كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة ميسان (1,307) هي أعلى من أعلى قيمة Q_{10} في تربة الأهوار(1,157). يلاحظ من جدول(6) أن أعلى معدل قيم Q_{10} لأنزيم البايروفوسفاتيز المعدني للعمق 0 – 15 سم تربة ذي قار وأعطت تربة الزبير أقل معدل لقيم Q_{10} حيث كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة ذي قار (1,396) عند درجة حرارة 60 م^5 هي مقاربة الى أعلى قيمة Q_{10} في تربة الزبير (1,400) والتي كانت عند درجة حرارة 10م^5 اما عند العمق 15 – 30 سم اعطت تربة الأهوار اعلى معدل لقيم Q_{10} واعطت تربة ابي الخصيب اقل معدل لقيم Q_{10} حيث كانت اقل قيمة Q_{10} في تربة الأهوار (1,570) هي اعلى من اعلى قيمة Q_{10} في تربة ابي الخصيب (1,178). إذ أوضح Frankenberger and Tabatabai (1980) (12) أن قيم Q_{10} تعد دليلاً على الطاقة الحركية لإنزيمات التربة التي تحتاجها التفاعلات الإنزيمية، فالقيمة المنخفضة لـ Q_{10} تعني أن الطاقة التي يحتاجها التفاعل اقل ، وان الباحثين يمكنهم التنبؤ بكفاءة التفاعلات الإنزيمية من خلال قيم Ea و Q_{10} وحساب معدل التفاعل عند أي درجة حرارية.

جدول (6): قيم (Q_{10}) لأنزيمات الفوسفاتيز للترب المدروسة.

	درجة الحرارة / التربة	Q_{10}									
		20-10	30-20	40-30	50-40	60-50	20-10	30-20	40-30	50-40	60-50
		العمق 0 - 15 سم					العمق 15 - 30 سم				
القاعدي	الأهوار	1,364	1,337	1,312	1,290	1,270	1,184	1,171	1,159	1,149	1,139
	أبي الخصيب	1,419	1,387	1,358	1,333	1,310	1,084	1,078	1,073	1,068	1,064
	الزبير	1,634	1,581	1,536	1,495	1,460	1,096	1,089	1,083	1,078	1,073
	ذي قار	1,296	1,274	1,254	1,237	1,221	1,228	1,212	1,197	1,184	1,172
	ميسان	1,309	1,286	1,265	1,247	1,231	1,173	1,161	1,150	1,140	1,131
الحامضي	الأهوار	1,046	1,042	1,040	1,037	1,035	1,157	1,145	1,136	1,127	1,119
	أبي الخصيب	1,155	1,144	1,134	1,125	1,117	1,315	1,292	1,271	1,252	1,235
	الزبير	1,052	1,049	1,045	1,043	1,040	1,199	1,184	1,172	1,160	1,150
	ذي قار	1,119	1,111	1,104	1,097	1,091	1,267	1,247	1,230	1,214	1,200
	ميسان	1,063	1,059	1,055	1,051	1,048	1,415	1,383	1,354	1,329	1,307
البايروفوسفاتيز	الأهوار	1,477	1,439	1,406	1,377	1,350	1,795	1,727	1,668	1,616	1,570
	أبي الخصيب	1,435	1,401	1,371	1,345	1,321	1,178	1,165	1,154	1,144	1,134
	الزبير	1,400	1,370	1,342	1,318	1,296	1,359	1,331	1,307	1,286	1,266
	ذي قار	1,542	1,498	1,460	1,426	1,396	1,326	1,301	1,280	1,260	1,243
	ميسان	1,430	1,396	1,367	1,340	1,317	1,539	1,496	1,458	1,424	1,394

المصادر

1-الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله (1980). تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

1- Abdulkareem, M. A. and A. M. S. Al-Ansari (2008). Thermo-dynamic parameters of inorganic pyrophosphatase in marshland south of Iraq. Marsh Bulletin. 3: 95-103.

2- Ahmad .F. and Kelso W. L .(2001). Pyrophosphate as a source of phosphorus :Hydrolysis under different conditions Journal of Research (Science), Bahauddin Zakariya University, Multan, Pakistan. Vol.12, No.2, ,. 130-139.

3- Banerjee Anwesha , Sangham- itra Sanyal and Sribir Sen. (2012). Soilphosphatase activity of agricultural land: A possible index of soil fertility Agricul- tural Science Research Journals Vol. 2(7), pp. 412- 419,

4- Black, C. A. (1965). Methods of soil analysis. Part I: physical properties, Am. Soc. Agron. Inc. Pub. Madison, Wisconsin, U.S.A.

5- Carreiro MM, Sinsabaugh R, Repert D, Parkhurst D (2000). Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. Ecology 81:2359–2365.

6- Criquet, S., Tagger, S., Vogt, G., Iacazio, G., Le Petit, J., (1999). Laccase activity of forest litter. Soil Biology and Bioch- emistry 31, 1239 - 1244.

7- Dalal R. (1985): Distribution, salinity, kinetic and thermodyn-amic characteristics of urease activity in a vertisol profile. Aust. J. Soil Res., 23, 49- 60.

8- Debosz, K., Rasmussen, P.H., Pedersen, A.R.: (1999). Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effect of organic matter input. Appl. Soil. Ecol., 13, 209-218

9- Dick, W.A. and Tabatabai, M.A. (1978) “Inorganic pyrop-hosphatase activity of soils”, Soil Biol. Biochem., 10, 59-65.

10- Dinkelaker, B., Marschner, H., (1992). In vivo demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants. Plant and Soil 144, 199-205.

11- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., (1977). Phosphatases in soils. Soil Biology and Biochemistry9, 167-172.

12- Frankenberger, W. T.; Jr. and M. A. Tabatabai (1980). Amidase activity in soils: II. Kinetic parameters. Soil. Sci. Soc. Am. J., 44: 532-536.

13- Frankenberger, W.T., Tabata- bai, M.A., (1991). L-Glutaminase activity of soils. Soi Biology and Biochemistry 23, 869 - 874.

14- Gallo M, Amonette R, Lauber C, Sinsabaugh R,Zak D (2004) Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north tempe-rate forest soils. Microb Ecol 48:218–229.

15- Gawas-Sakhalkar Puja , Shiv Mohan Singh , Sima-ntini Naik

Microbiological and Biochemical Properties.

23- Tabatabai, M.A. and Bremner, J.M. (1969): Use of p-nitrophenylphosphate for assay of phosphatase activity. Soil Biol.Biochem., 1: 301-307.

24- Tabatabai, M. A. and J. M. Bremner (1970). Arylsulfatase activity of soils. Soil. Sci. Soc. Am. Proc., 34: 225-339.

25- Tabatabai, M.A. and Dick, W.A. (1979) "Distribution and stability of pyrophosphate in soils", Soil Biology and Biochemistry, 11, 655-659.

26- Tabatabai, M. A. and B. B. Singh (1976). Rhodanese activity of soils Soil. Sci. Soc. Am. J., 40: 381-385.

27- Tabatabai, M. A. and B. B. Singh (1979). Kinetic param- eters of the rhodanese reaction in soils. Soil Biol. Biochem., 11: 9-12.

28- Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F., Leiros, M.C., (2007). Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain.

29- Wallenstein, M.D., Allison, S.D., Ernakovich, J., Steinweg, J.M., Sinsabaugh, R.L., (2011). Controls on the temperature sensitivity of soil enzymes: a key driver of *in situ* enzyme activity rates. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), Soil Enzymology Springer-Verlag, Berlin, Germany, pp. 245 - 258.

30- Zafren, E. and P. L. Hall (1973). The study of enzyme mechanisms. John Wiley and Sons. Inc. New York. P, 60-64.

and Rasik Ravindra (2012) . High-temperature optima phosp-hatases from the coldtolterant Arctic fungus *Penicillium citrinum.*

16- McClaugherty, C., Linkins, A., (1990). Temperature responses of enzymes in two forest soils. Soil Biology and Biochemistry 22, 29 - 33.

17-Page, A. L.; R. H. Miller and D. R. Keeney (1982). Methods of soil analysis. Part 2. 2nd. Ed. ASA. Inc. Madison, Wisconsin, U.S.A.

18- Perucci, p. and L. Scarponi (1984). Arylsulfatase activity in soils:kinetic and Athermodyn-amic parameters. Soil Biol. Biochem., 16.. 605- 604 Plant. Cell.

19- Saa, A.; C. Trasar-Cepedia ; F. Gil-Sortes and T. Carballas (1993). Changes in soil phosph- orus and acid phosphatase activity immediately following forest fires. Soil Biol. Biochem., 25: 1223- 1230.

20- Saleem, M., Rashid, M.H., Jabbar, A., Perveen, R., Khalid, A.M., and Rajoka, M.i. (2005): Kinetic and thermodynamic prop- erties of an immobilized endoglu- canase from Arachniotus citrinus. Process Biochem., 4, 849- 855.

21- Segel, I. H. (1976). Biochemical calculations. P. 278. John Wiley and sons. Inc. New York.

22- Tabatabai, M.A., (1994). Soil enzymes. In: Weaver, R.W., Angle , S., Bottomley, P.J; Bezdicek, D., Smith, S., Tabatabai, A.,Wollum, A. (Eds.) , Methods of Soil Analysis . Part 2.

Basrah J. Agric. Sci., 27 (2): 83-97, 2014

Effect of temperature on Phosphatase Activity and Thermodynamic Parameters In Some Southern Iraqi Soils*

Abdulmahdi M .AL-Ansari[1], Meaad. M .Al-Jaberry[1] and Abdulsattar. M .Khalaf[2]

1-Soil and water source Dep. Agri. Coll. University of Basra .Iraq.
2-Agricultur Directorate of Basra .Ministry of Agriculture . Iraq.

Abstract: The objective of this paper is to study the activity of the phosphatase enzymes which included acid , alkaline phosphatase and Inorganic pyrophosphatase enzymes in different locations in South of Iraq .This study included two depths (0----15 cm and 15- 30 cm) This study focused on the effect of temperature difference from 10 ---- 80°C on enzyme activity .As well thermodynamics measurements were determined for acid , alkaline phosphatase and Inorganic pyrophosphatase enzymes included activity energy (Ea) and temperature coefficient(Q 10). The increasing of temperature from (10 – 60 °C) leads to increasing the activity of alkaline and acidic phosphatase enzymes and Inorganic pyrophosphatase in all soils and for two depths where the activity of enzymes on depth (0 -- 15 cm) and (15 – 30 cm) in the following order acidic > Alkaline > Inorganic pyrophosphatase In contrast the increasing of temperature from (60 – 80 °C) leads to reducing the activity of all enzymes for the most soils and for two depths .As well the increasing of temperature leads to difference in thermodynamics measurements for enzymes where they reduced the value (Q10) with the increasing of the reaction temperature . Different values of Ea appeared for enzymes with the difference of soils under study and with the difference of depths depending on the difference of enzyme concentration and soil properties.

Key words: temperature , activity, phosphatase , thermodynamics.

---

* Part of the master thesis of the third Researcher