بعض الخصائص الحركية لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) تحت تأثير درجة الحرارة والملوحة

لمى صالح جبار الطويل

جامعة القادسية – كلية التربية – قسم علوم الحياة

المستخلص :-

تم اختيار تربتين إحداهما مزيجة طينية غرينية والثانية رملية مزيجة من مدينة الديوانية ، كما أختير أنزيمين هما اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) لدراسة بعض الخصائص الحركية لهذين الانزيمين في التربة ، ولدراسة بعض العوامل المؤثرة في فعالية هذه الانزيمات وهي درجة الحرارة والملوحة. أظهرت النتائج ان قيم Vmax و Km في التربة المزيجة الطينية الغرينية كانت اعلى من قيمها في التربة الرملية المزيجة لأنزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) ، كما بينت النتائج ان قيم Km كانت منخفضة في حين كانت قيم Vmax مرتفعة جدا في كلا التربتين ولكلا الانزيمين .

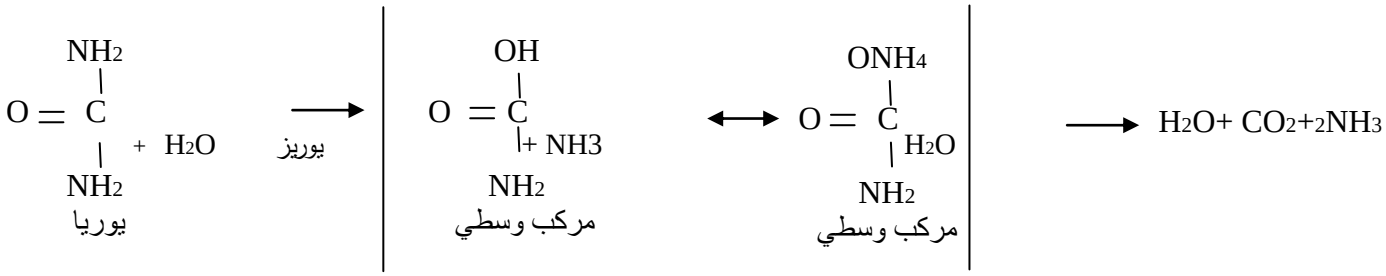
بينت نتائج هذه الدراسة ان فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) قد ازدادت مع زيادة درجة الحرارة في كلا التربتين ، وأن أعلى قيم للفعالية كانت في التربة المزيجة الطينية الغرينية ولكلا الانزيمين .

اما تاثير ملوحة التربة في فعالية الانزيمين فقد أظهرت النتائج أن زيادة ملوحة التربة أدت الى خفض فعالية الانزيمين في كلا التربتين ، وأن اعلى نسبة تثبيط كانت في التربة المزيجة الطينية الغرينية بالنسبة لانزيم اليوريز والفوسفاتيز القاعدي ، اما بالنسبة لانزيم الفوسفاتيز الحامضي فقد كانت اعلى نسبة تثبيط في التربة الرملية المزيجة .

المقدمة :-

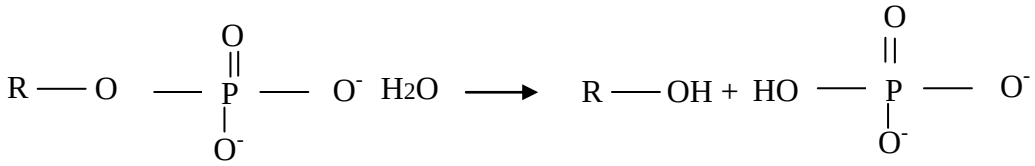
يعد سماد اليوريا من الاسمدة النتروجينية المهمة للاستخدامات الزراعية واضافتها للتربة تزداد اهمية بالشرق الاوسط بسبب انتاجها محليا واسعارها الواطئة نسبياً Cookson and Lepiece,

1996 . وأن فعالية أنزيم اليوريز تتأثر بالاستخدام الامثل لاسمدة اليوريا ، وتطاير الامونيا ، وغسل النترات والتلوث البيئي بهذا العنصر (O'Tool etal , 1985 , Cookson and Lepiece , 1996) ان انزيم اليوريز من انزيمات التحلل المائي والذي يعمل على أصرة C - N غير الببتيدية اكثر من عمله على سلسلة الاميدات ، وهو متخصص على سماد اليوريا ويسمى احيانا Urea amido hydrolase حيث انه يعمل على تحليل اليوريا مائياً الى غاز الامونيا وثاني اوكسيد الكاربون Tabatabia , 1982 كما اشاد Ladd and Jackson , 1982 الى تكون مركبين وسطيين أثناء عملية التحلل المائي لليوريا وكما في المعادلة الآتية :



وأن هذا الانزيم ينتشر بصورة واسعة في الطبيعة ، اذ انه يفرز من قبل الاحياء المجهرية والنباتات والحيوانات وكذلك معظم انواع الخمائر (Cesareo and Langton , 1992) كما وجد Stephen and Mortland , 1985 ان معادن الطين وخاصة السمكتايت تمتز انزيم اليوريز وبذلك تحافظ عليه من التحلل بواسطة انزيم البروتيز . فيما بين Zantua etal , 1977 ان فعالية انزيم اليوريز ترتبط ارتباطا موجبا بالكاربون العضوي ، النتروجين الكلي ، CEC . والطين فيما يكون الارتباط سالبا مع محتوى الرمل . أما Cookson and Lepiece , 1996 فقد بينا ان فعالية اليوريز في المناطق الجافة ترتبط بالكاربون العضوي ولكن الارتباط يكون سالب مع الملوحة. ووجد Al-Rashidi, 1985 ان هناك علاقة معنوية سالبة بين فعالية اليوريز والترب الملحية ، وان الترب ذات المحتوى الملحي العالي (Ece = 21.0 ديسي سيمنز .م$^{-1}$) ذات تأثير اقل في فعالية اليوريز من الترب ذات المحتوى الملحي المتوسط (Ece = 11.4 ديسي سيمنز.م$^{-1}$) ، كما ذكر Dalali,1975 ان نشاط انزيم اليوريز في التربة يزداد عند زيادة درجة الحرارة من 10–70مْ وان درجة الحرارة المثلى له هي 37مْ . فيما بين VindoKumar and Wagenet, 1984 ان زيادة درجة الحرارة من 5–35مْ ادت الى زيادة خطية في فعالية اليوريز لترب مناطق مختلفة من الهند . أن من اهم العوامل التي تعمل على تثبيط فعالية هذا الانزيم هي المعادن الثقيلة ، وأيون الامونيا المتكون Fishbein and Carbone , 1965 وكذلك ايونات الصوديوم والبوتاسيوم Cesareo and Langton , 1992 اما انزيم الفوسفاتيز فهو ايضا من انزيمات التحلل المائي ويقسم الى الفوسفاتيز الحامضي والقاعدي اذ انه يحلل الأواصر الفوسفاتية في المركبات العضوية المعقدة وهو ينتشر بصورة واسعة في الترب ، كما انه يفرز من

قبل الاحياء المجهرية المختلفة وجذور النباتات Burns etal , 1972 ، كما ذكروا ايضا ان هذا الانزيم يلعب دوراً مهماً في معدنة فسفور التربة العضوي وتغذية النبات ، ويمكن بيان المعادلة العامة لتفاعلات التحلل بواسطة انزيمي الفوسفاتيز القاعدي والحامضي بالاتي :-



اما اهم العوامل المؤثرة في فعالية الانزيم هي موعد الزراعة ، ادارة التربة ، وبعض العوامل البيئية ولذلك فان التاثير الملاحظ يختلف ويعتمد على العديد من العوامل وهي نوع التربة ، القوة الايونية ، درجة الحرارة والأس الهيدروجيني . كما ان من العوامل التي تثبط فعالية هذا الانزيم هي المعقدات العضوية واللاعضوية والايونات الموجودة في محلول التربة Tabatbai, 1982 والاملاح Al-Nasari et al, 1999 a

اما فيما يخص فعالية الانزيم عند درجات الحرارة المختلفة فقد وجد Fauval and Rouquerol , 1970 عند تقديرهم لفعالية انزيم الفوسفاتيز عند درجة حرارة 30-100مْ ان اعلى فعالية كانت عند درجة حرارة 60مْ وبعدها تنخفض الى حد 100مْ وان قيمة الفعالية عند 100مْ مقاربة لقيمتها عند درجة حرارة 30مْ . وبناءً على ما تقدم من معلومات هدف البحث الى دراسة الآتي في تربتين مختلفتي النسجة :-

1- بعض الخصائص الحركية للانزيمين .
2- تاثير درجة الحرارة في فعالية الانزيمين .
3- تاثير الملوحة في فعالية الانزيمين .

المواد وطرائق العمل :

تم اختيار تربتين احدهما مزيجة طينية غرينية والثانية رملية مزيجة من مدينة الديوانية أذ أخذت العينات من الطبقة السطحية 0-30سم وبصورة عشوائية ، جففت هوائيا وطحنت ثم نخلت بمنخل قطر فتحاته 2ملم وحفظت في اواني بلاستيكية واجري عليها بعض التحليلات الكيميائية والفيزيائية وحسب الطرق الواردة في : U.SDA. Hand book No.60,1954 جدول (1) :

- النسجة : قدرت وفق طريقة الماصة الدولية الموصوفة من قبل Kilmer and Alexander , 1949

- الاس الهيدروجيني (pH) : قدر في مستخلص عجينة التربة المشبعة باستخدام جهاز pH - meter .
- الايصالية الكهربائية (ECe) : قدرة في مستخلص عجينة التربة المشبعة باستخدام جهاز EC - meter .
- كاربونات الكالسيوم $CaCO_3$: قدرت بحساب الفقد في CO_2 بمعاملة التربة بحامض HCI (3 عياري) .
- الايونات الذائبة : قدرت في مستخلص عجينة التربة المشبعة وكالآتي :
  - الصوديوم والبوتاسيوم : باستخدام جهاز اللهب الضوئي Flame pHotometer
  - الكالسيوم والمغنسيوم : بالتسحيح مع الفرسنيت EDTA .
  - الكاربونات والبيكاربونات : بالتسحيح مع حامض الكبريتيك (0.01 عياري) .
  - الكلور : بالتسحيح مع نترات الفضة (0.005 عياري) .
- المادة العضوية : قدرت وفق طريقة Walkley - Black الواردة في Black , 1965b
- الكثافة الظاهرية : قدرت بطريقة تغليف المدرة بشمع البرافين الواردة في Black , 1965a

جدول (1) الفعالية الانزيمية وبعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لتربتي الدراسة :

التربة	$ds.m^{-1}$	PH	$Cmol.Kg^{-1}$							غم ·كغم $^{-1}$		ميكاغرام.م$^{-3}$	مايكرو غرام نتروجين الامونيوم. غم تربة $^{-1}$. ساعة $^{-1}$	P- Nitrophenol غم تربة $^{-1}$. ساعة $^{-1}$	
	ECe		Ca^{+2}	Mg^{+2}	Na^{+1}	K^{+1}	Cl^{-1}	HCO_3^{-1}	CO_3^{-2}	المادة العضوية	$CaCO_3$	الكثافة الظاهرية	فعالية انزيم اليوريز	فعالية انزيم الفوسفاتيز القاعدي	فعالية انزيم الفوسفاتيز الحامضي
مزيجة طينية غرينية	5.37	7.72	2.12	1.26	0.87	1.18	1.95	1.62	Nill	9.8	431.6	1.36	171.3	117.1	108.2
رملية مزيجة	4.12	7.53	1.23	0.72	0.22	1.81	1.43	1.21	Nill	4.5	406.7	1.41	42.3	103.6	99.3

قدرت فعالية أنزيم اليوريز حسب Tabatabai and Bremner , 1972 بأخذ 5 غرام من التربة وتحضينه مع (0.05) مولاري من محلول THAM buffer (pH = 9) ومحلول اليوريا بتركيز (0.2) مولاري والتولوين وعلى درجات حرارة مختلفة(10، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 60)مْ لدراسة تاثير درجات الحرارة في فعالية الانزيم ولمدة ساعتين تحضين ، ثم اضيف محلول (2.5) مولاري KCl الحاوي على Ag_2SO_4 (100ppm) مثبطاً للأنزيم ثم قدر نتروجين الامونيوم باستخدام اوكسيد المغنيسيوم وبجهاز التقطير البخاري Micro-kjeldahl وفق طريقة keeney and Nelson , 1982 .

قدرت الثوابت الحركية السرعة القصوى (Vmax) وثابت التأين (Km) من خلال دراسة تأثير الاختلاف في تركيز المادة الخاضعة (اليوريا) في فعالية الانزيم حسب طريقة Tabatabai and Bremner 1972 , مع اختلاف ان محلول اليوريا (0.2) مولاري اضيف بستة حجوم هي (0.5 ، 1 ، 1.5 ، 2 ، 2.5 ، 3) مل ليعطى التراكيز النهائية لليوريا (0.010 ، 0.019 ، 0.028 ، 0.035 ، 0،042 ، 0.049) مولاري على التوالي ثم قدر نتروجين الامونيوم المتحرر حسب الطريقة اعلاه تم استخدام المعادلة Michaelis - Menter المحورة

$S/V = Km/Vmax + (1/Vmax) (s)$ ----- Hanes −woolf

ومن خلال رسم العلاقة الخطية بين [s] /v , [s] ثم استخراج قيمKm/Vmax و 1/Vmax حيث ان Km/Vmax تمثل قيمة القاطع و 1/Vmax تمثل الميل وهو السرعة القصوى .

استخدمت مياه مبزل في مدينة الديوانية بلغت ملوحته 8.9 ديسي سيمنز. $م^{-1}$ لغرض استخدامه في تمليح الترب صناعياً لدراسة تاثير الملوحة في فعالية الانزيم تم تخفيف ماء المبزل بماء الحنفية للحصول على مستويين للملوحة هما (6 و 8) ديسي سيمنز.$م^{-1}$ وترك المستوى الثالث بدون تمليح (المقارنة) . وتم تمليح الترب بطريقة الغمر المستمر حيث عبئت الترب في أعمدة بلاستيكية مثقبة من الاسفل واستمرت عملية الغسل لحين الوصول الى حالة الاتزان الديناميكي حيث اصبحت ملوحة الراشح مساوية الى ملوحة المحلول المضاف وقد تم اختيار ماء المبزل لكونه يحوي على معظم الاملاح السائدة في الترب المتأثرة بالملوحة بالاضافة الى ان هذه الطريقة تحقق التوزيع المنتظم للملوحة ، بعد الانتهاء من عملية التمليح ، ثم تجفيف الترب هوائياً وطحنت ونخلت بمنخل قطر فتحاته (2ملم) وحفظت في اواني بلاستيكية وبعد ذلك قدرت فعالية انزيم اليوريز في التربتين ولثلاث مستويات من الملوحة وفق طريقة Franken berger and Tabatabai , 1980 بعدها حسبت النسبة المئوية لتثبيط فعالية انزيم اليوريز تبعاً

Frankenberger and Bingham,1982

Percentage inhibition = (1-B/A) X 100

اذ ان A : فعالية انزيم اليوريز في معاملة المقارنة .

B : فعالية انزيم اليوريز في معاملة التمليح.

قدرت فعالية انزيم الفوسفاتيز (الحامضي والقاعدي) حسب طريقة Tabatabai , 1982 وذلك بأخذ (1غم) تربة وتحضينه مع (0.2مل) من التلوين و (4مل) من محلول البفر (pH=6.5 للفوسفاتيز الحامضي و pH=11 للفوسفاتيز القاعدي و (1مل) من محلول P-nitrophenol phosphate تركيز (25 ملي مولار) على درجة حرارة مختلفة(10 ، 20، 30، 40 ، 50، 60)مْ لدراسة تاثير درجات الحرارة في فعالية الانزيم (الحامضي والقاعدي) لمدة ساعة تحضين ثم اضيف (1 مل) من محلول $CaCl_2$ (0.5 مولار) و (4 مل) من NaOH (0.5 مولار) بعد ذلك ترج المحتويات لبضعة ثواني وترشح من خلال ورقة ترشيح بعدها تقدر فعالية الانزيم من خلال مادة (P- nitrophenol) المتحررة باستخدام الطريقة اللونية .

كما قدرت قيم الثوابت الحركية للانزيم باستخدام حجوم من محلول مادة P- nitrophenol phosphate وهي (12.5 ، 25 ، 50 ،75، 100، 125 و 150) ملي مولار وكما بالطريقة الخاصة بانزيم اليوريز . كما تم دراسة تأثير الملوحة في فعالية الانزيم بنفس الطريقة اعلاه الخاصة بانزيم اليوريز .

تم استخدام التصميم التام التعشية (CRD) لمعاملات درجات الحرارة والتمليح .

النتائج والمناقشة :

1- السرعة القصوى (V max) وثابت التاين (Km) لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز :-

يلاحظ من نتائج جدول (2) ان قيم Vmax و Km في التربة المزيجة الطينية الغرينية كانت اعلى من قيمها في التربة الرملية المزيجة لانزيمي اليوريز والفوسفايتز (القاعدي والحامضي) .

ان قيم Km لانزيم اليوريز كانت (9.1 x 10^{-3} و 8.7 x 10^{-3}) مولار للتربتين المزيجة الطينية الغرينية والرملية المزيجة على التوالي وهي تتقارب مع القيم التي توصل اليها AL-Rashdi 1985 والسالم 1997 في

حين بلغت قيم Vmax (601.6 و 166.8 مايكرو غرام نتروجين الامونيوم . غم تربة$^{-1}$. 2 ساعة$^{-1}$) وهي مرتفعة جدا وتتقارب مع القيم التي توصلت اليها السالم 1997 .

جدول (2) القيم الحركية Vmaxو Km لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز

التربة	الأنزيم	القيم الحركية	
		V max	Km مولار
مزيجة	يوريز	601.6	$10x9.1^{-3}$
طينية	فوسفاتيز قاعدي	522.7	1.3
غريينية	فوسفاتيز حامضي	332.3	1.8
رملية	يوريز	166.8	$10x8.7^{-3}$
مزيجة	فوسفاتيز قاعدي	398.5	1.2
	فوسفاتيز حامضي	220.6	1.5

V max = مايكرو غرام نتروجين الامونيوم غم تربة$^{-1}$ .2 ساعة$^{-1}$ (لانزيم اليوريز) او غرام P –nitrophenol غم تربة$^{-1}$. ساعة$^{-1}$ (لانزيم الفوسفاتيز) .

وقد يعود السبب في ارتفاع قيم Vmax الى ارتفاع قيمة فعالية انزيم اليوريز في تربتي الدراسة (جدول 1) وبالاخص في التربة المزيجة الطينية الغرينية اذا بلغت قيمة الفعالية فيها (171.3 مايكرو غرام نتروجين الامونيوم غم تربة$^{-1}$. 2 ساعة$^{-1}$) وهذا يعني زيادة كمية الانزيم في التربة ، اذ اشار perucci etal , 1982 الى تناسب قيمة Km و Vmax مع كمية الانزيم لذلك قد تزداد قيمة Vmax بزيادة كمية الانزيم في التربة . كما اوضح Tabatabai,1973 بان قيم Km و Vmax تتباين في الترب المختلفة ، كما تتباين هذه القيم بحسب طريقة تقدير فعالية الانزيم ، فقد بين Ladd and Jackson, 1982 ان قيم Km تتباين اعتمادا على توزيع جزيئات اليوريا في المواقع الفعالة للانزيم وهذا يتعلق بطبيعة المكونات العضوية واوزانها الجزيئية . كما تتأثر قيم Km و Vmax في التربة بنوع معادن الطين وطبيعة انواع واعداد الاحياء المجهرية في التربة ، وان رج التربة اثناء التحضين يقلل من قيم Km Tabatabai , 1973 ذكر Monreal etal, 1986 ان سبب الاختلافات الواسعة في القيم الحركية قد يعود الى الاختلاف في بيئة الانزيم او بيئة التربة او كليهما . كما ذكر Peruecci etal 1982 ان قيم Km تساعد في معرفة مدى الترابط او الألفة بين انزيم اليوريز واليوريا .

فيما يخص انزيم الفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) فقد كانت قيم Vmax مرتفعة اذ بلغت (522.7 و 398.5 غرام P-nitrophenol غم تربة$^{-1}$ ، ساعة$^{-1}$) لانزيم الفوسفاتيز القاعدي وللتربتين المزيجة

الطينيـة الغرينيـة والرمليـة المزيجـةعلى التـوالي ، وكانـت (332.3 و 220.6 غرام P-nitrophenol غـم تربـة$^{-1}$ ،ساعة$^{-1}$) لانزيم الفوسفاتيز الحامضي للتربتين اعلاه على التوالي . والسبب في ذلك يعود الى ارتفاع قيمة فعالية الانزيم في الترب (جدول 1) وبالاخص التربة المزيجة الطينية الغرينية .

اذ بلغت لانزيم الفوسفاتيز القاعدي (117.1 غرام P.nitrophenol غم تربة$^{-1}$. ساعة$^{-1}$) وللانزيم الحامضي كانت (108.1غرام P.nitrophenol غم تربة$^{-1}$. ساعة$^{-1}$) اما قيم Km فقد كانت منخفضة في كلا التربتين ولكلا الأنزيمين وهذا يعود كما ذكر سابقا اما الى طريقة تقدير فعالية الانزيم او الاختلاف في بيئة الانزيم او بيئة التربة او كليهما وان النتائج التي تم التوصل اليها مع انزيم الفوسفاتيز تتفق مع ما وجده AL-Ansariy 1999b عند دراسته لهذين الانزيمين (القاعدي والحامضي) في ثلاث ترب مختلفة النسجة .

2- تأثير درجة الحرارة في فعالية الأنزيمات :

يلاحظ من جدول (3) بصورة عامة ان فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) في التربة المزيجةالطينية الغرينية كانت اعلى منها في التربة الرملية المزيجةولجميع درجات الحرارة .

جدول (3) تأثير درجة الحرارة في فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز.

التربة	الانزيم	درجات الحرارة (درجة مئوية)					
		10	20	30	40	50	60
مزيجة طينية غرينية	يوريز	58.1	96.6	166.2	187.7	221.3	242.1
	فوسفاتيز قاعدي	66.3	81.1	111.2	122.8	158.2	185.9
	فوسفاتيز حامضي	62.8	76.6	101.5	112.2	141.3	173.8
رملية مزيجة	يوريز	13.9	21.6	33.2	47.9	58.2	70.3
	فوسفاتيز قاعدي	63.1	78.6	97.2	112.5	129.1	150.6
	فوسفاتيز حامضي	58.6	70.1	91.2	107.2	118.6	140.1

LSD= 34.71

ان زيادة نتروجين الامونيوم المتحرر (فعالية انزيم اليوريز) في التربة المزيجةالطينية الغرينية عن التربة الرملية المزيجة، قد يعود السبب في ذلك الى زيادة نسبة الطين في التربة المزيجة الطينية الغرينية عن التربة الرملية المزيجة (جدول 1) مما قد يؤدي الى زيادة الامونيوم الممسوك بين معادن الطين وبشكل غير قابل للتبادل ، او ان زيادة ملوحة التربة المزيجة الطينية الغرينية (5.37= ECe) عن التربة الرملية المزيجة(4.12= ECe) قد تسبب في تجمع الامونيوم . اذا ان الاحياء التي تقوم بهذه العملية اكثر تحملا للملوحة من احياء النترجة Laura ,1974كما بين كل من Frankenberger and Dick , 1983 و Tabatabai and Dick ,1979 و AL-Rashidi,1985 . العلاقة بيت نسبة المادة العضوية والطين وفعالية انزيم اليوريز والفوسفاتيز ، اذ تكون المادة العضوية مصدر للطاقة وغذاء للاحياء المنتجة لهذة الانزيمات . كما تعمل المادة العضوية على ابعاد الانزيم عن تأثير البروتيز protease (الذي يقوم بتحليل بروتين الانزيم) وذلك لقيامة بتحليل المادة العضوية بدلاً من الانزيم Ladd and Butler,1973 , Rowell.etal ,1973 كما ان زيادة نسبة الطين لها علاقة بزيادة عدد الاحياء المجهرية في التربة Alexander, 1977 ويعمل العديد من هذه الاحياء على انتاج هذه الانزيمات .

كما فسر Mclaren etal , 1958 و Stephen and Mortland. 1985 ذلك بان معادن الطين (السمكتايت) لها القابلية على امتزاز الانزيمات وبذلك تحمي الانزيم من التحلل بواسطة انزيم البروتيز ويبين جدول (3) زيادة فعالية انزيم اليوريز بزيادة درجة الحرارة وهذا يتفق مع ما وجده وجده Dalal , 1975 كما يلاحظ من الجدول ايضا زيادة انزيم الفوسفاتيز (القاعدي والحامض) بزيادة درجة الحرارة وفي كلا التربتين وهذا يتفق مع ما وجده AL-Ansari etal , 1999a عند دراسته لهذا الانزيم في ثلاث ترب ، اذ وجدوا ان فعالية الانزيم تزداد بزيادة درجة الحرارة والى حد 65 مْ بعدها تاخذ فعالية الانزيم بالانخفاض نتيجة تحلل الانزيم بأعتبار ان الانزيمات هي عبارة عن بروتينات .

3- تاثير الملوحة في فعالية الانزيمات .

تشير نتائج الجدول (4) الى ان زيادة مستوى ملوحة التربة الى (6و8) ديسي سيمينز.م$^{-1}$ ادت الى خفض فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) في كلا التربتبين ، وهذا الانخفاض قد يعود الى زيادة الجهد الازموزي نتيجة زيادة مستوى الملوحة مما يؤدي الى التأثير في الاحياء المجهرية التي تفرز هذين الانزيمين . وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه Frankenberger and Bingham , 1982 عند دراستها لتأثير ملوحة التربة في فعالية انزيم اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) اذ بينا من ان زيادة ملوحة التربة من (3 الى 6 ,24,12) ديسي سيمنز.م$^{-1}$ ولاملاح مختلفة ادت الى خفض فعالية الانزيمات فيها ، وان هذا التاثير يختلف حسب نوع الانزيم ، طبيعة وكمية الاملاح المضافة .

جدول (4) تأثير ملوحة التربة في فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز

التربة	الانزيم	المستوى الملحي ديسي سيمنز. م$^{-1}$		
		بدون تمليح	6	8
مزيجة طينية غرينية	يوريز	171.3	103.6	76.1
	فوسفاتيز قاعدي	117.1	97.2	68.1
	فوسفاتيز حامضي	108.2	81.5	51.7
رملية مزيجة	يوريز	42.3	31.3	22.7
	فوسفاتيز قاعدي	103.6	89.7	62.6
	فوسفاتيز حامضي	99.3	66.2	40.6

LSD= 17.53

كما تتفق نتائج الجدول لانزيم اليوريز مع توصل اليه جار الله ، 1998 اذ وجد من ان زيادة ملوحة التربة من (2الى 6 ،10 و14) ديسي سيمنز.م$^{-1}$ قد ادت الى خفض فعالية الانزيم في التربة ، كما وجد AL-Arashidi, 1985 ان هناك علاقة ارتباط معنوية سالبة بين ملوحة التربة وفعالية انزيم اليوريز في ثلاثة عشر تربة في جنوبي العراق وبين ان الترب ذات المستوى الملحي العالي (Ece = 21.0 ديسي سيمنز . م$^{-1}$) ذات تاثير اقل في فعالية اليوريز من الترب ذات المستوى الملحي المتوسط (ECe = 11.4 ديسي سيمنز . م$^{-1}$) كما درس Galstyan , 1960 تاثير ملوحة التربة وبين ان الترب الحاوية كميات كبيرة من NaCl و Na_2SO_4 تنخفض فيها فعالية انزيم اليوريز كما تتفق النتائج التي تم التوصل اليها في دراستنا هذه لانزيم الفوسفاتيز مع ما توصل اليه AL-Ansari , 1999a عند دراسة لهذا الانزيم في تربتين جنوب العراق ، اذ بين من ان زيادة ملوحة التربة من (3 الى 6 ،12، 24) ديسي سيمنز.م$^{-1}$ ادت الى خفض فعالية الانزيم فيها . كما يلاحظ من نتائج جدول (4) ان أعلى فعالية لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) كانت في التربة المزيجة الطينية الغرينية ،

وهذا قد يعود الى ارتفاع محتوى التربة من الطين وهذا بدورة يزيد عدد الاحياء المجهرية فيها حيث يقوم العديد منها بافراز انزيمي اليوريز والفوسفاتيز . وقد حصل AL-Rashidi,1985 على مثل هذه العلاقة الايجابية بين فعالية انزيم اليوريز ومحتوى التربة من الطين . كما حصل AL- Ansari, 1999a على نفس هذه العلاقة بالنسبة لانزيم الفوسفاتيز. يبين جدول (5) النسبة المئوية لتثبيط فعالية انزيمي اليوريز والفوسفاتيز حيث توضح نتائج الجدول ان اعلى نسبة تثبيط كانت في التربة المزيجة الطينية الغرينية لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز القاعدي اذ بلغت (39.6% و 55.6%) ولأنزيم اليوريز (17% و 41.9%) لانزيم الفوسفاتيز القاعدي ولمستويي الملوحة (6 و 8 ديسي سيمنز.م$^{-1}$) على التوالي . في حين كانت نسبة التثبيط لهذين الانزيمين منخفضة في التربة الرملية المزيجة اذ بلغت (26.1% و 46.4%) لانزيم اليوريز و (13.5%و 39.6%) لانزيم الفوسفاتيز القاعدي ولمستويي الملوحة (6 و 8 ديسي سيمنز.م$^{-1}$) على التوالي .

اما انزيم الفوسفاتيز الحامضي فقد كانت النسبة المئوية لتثبيط فعاليته عالية في التربة الرملية المزيجةاذ بلغت (33.4% و 59.2%) لمستويي الملوحة (6 و 8 ديسي سيمنز.م$^{-1}$) على التوالي ومنخفضة في التربة المزيجةالطينية الغرينية اذ بلغت (24.7% و 52.3%) لمستويي الملوحة (6 و 8 ديسي سيمنز.م$^{-1}$) على التوالي . وقد يعود السبب في تباين قيم النسبة المئوية لتثبيط فعالية الانزيمات الثلاث بين التربتين الى دور الاحياء اذ ان الاحياء المنتجة لانزيمي اليوريز والفوسفاتيز القاعدي تكون قد تأثرت بالملوحة في التربة المزيجةالطينية الغرينية اكثر من التربة الرملية المزيجة. في حين كان تاثر الاحياء المنتجة لانزيم الفوسفاتيز الحامضي بالملوحة اقل في التربة المزيجة الطينية الغرينية .

جدول (5) النسبة المئوية لتثبيط انزيمي اليوريز والفوسفاتيز (القاعدي والحامضي) .

التربة	الانزيم	المستوى الملحي (ديسي سيمنز.م$^{-1}$)		
		بدون تمليح	6	8
مزيجة طينية غرينية	يوريز	–	39.6	55.6
	فوسفاتيز قاعدي	–	17	41.9
	فوسفاتيز حامضي	–	24.7	52.3
رملية مزيجة	يوريز	–	26.1	46.4
	فوسفاتيز قاعدي	–	13.5	39.6
	فوسفاتيز حامضي	–	33.4	59.2

المصادر

- السالم ، هتاف عبد الملك احمد 1997 تحلل اليوريا وفعالية انزيم اليوزير في الترب المعاملة بالنفط الاسود ومبيد الاترازين . رسالة ماجستير . قسم التربة .كلية الزراعة . جامعة بغداد.
- جار الله ، عباس خضير عباس . 1998 . التحولات البايولوجية لسماد اليوريا وصفاته الحركية في الترب المتأثرة بالملوحة . رسالة ماجستير . قسم التربة . كلية الزراعة. جامعة بغداد .
- Al- Ansari, A- M.S., M.A. Abdul Kareem and L.A. Omar. 1999a. Characterestics of enzymes in recently reclaimed land: II Alkaline and acid phosphatases activity. Ieaqi-J- Agric. Sci 30 (2): 563-572.
- AL- Ansari, A.M.S, M.A. Abdul Kareem and L.A. Omar 1999b. Chara cterestics of enzymes in recently reclaimed land: III Kinetics parameters of phosphatase. Iraqi-J- Agric. Sci 30: 573-581.
- Al- Rashidi , R.K.1985. Urease activity and its kinetic properties in saline soils. ZANCO.3 (4) : 113-123.
- Alexander, M. 1977. Introdaction to soil microbiology. John wiley and sons, Inc. New Yourk.
- Black , C,A . (ed) . 1965 b.Methods of soil analysis. Parts2. Chemical and Microbiological properties. Am. Soc. Agron . In : publisher , Madison , Wisconsin , USA.
- Black , C.A .(ed). 1965a. Methods of soil analysis. Part 1. physical and Mineralogical properties. Am. Soc. Agron. In : publisher, Madison, Wisconsin, USA.
- Burns , R.G,. A.H.. Pukite and A. D. Mclaren. 1972 . Concerning the location and persistence of soil urease. Soil Sci . Soc. Am. Proc. 36:308-311.
- Cesareo , S., and S. Langton. 1992. kinetic properties of Helicobacter – pylori Urease compared with Jack bean Urease. FEMS Microbiol Lett. 99:15-21.
- Cookson , P. and G.L. Lepiece,. 1996. Ureas enzyme activity of soils of the Batinah region of sultanate of Oman. Journal of arid enviroments. 32:225-238.
- Dalali. R-C. 1975. Urease activity in some Triniddad soils. Soil . Biol. 7:5-8.
- Fauval, B. and Rouqu erol, T. 1970 . the phosphatase test considered zas an index of soil activity and evolution .Revue Ecol. Soil .7:393-406.

- Fishbein , W.; and P. carbone. 1965. Ureas catalysis II. Inhibtion of the enzyme by Hydroxy urea, Hydroxyl amine and Aceto hydroxamic Acid. J. biol, chem . 240: 231-239.
- Frankenberger , W.T.Jr. and F.T. Bingham. 1982 Influence of salinity on soil enzyme activites. Soil. Sci. Soc. Am.J.46:1173-1177.
- Frankenberger , W.T. and W.A. Dick. 1983. Relationships between enzyme activates and microbial growth and activity indices in soil. Soils Sci. Soc. Am. J. 47: 945 – 951.
- Frankenberger, W.T.Jr. and M.A. Tabatabai – 1980 Amidase activity in soils : 1: Methods of assay . Soil Sci. Soc. Am. J. 44: 282-287.
- Galstyan , A.S. 1960. Enzyme activity in saline soils. Doklady Akad. Nauk. Armyan. S.S.R. 30: 61-64.
- Keeney, D.R. and D.W. Nelson. 1982. Nitrogen inroganic forms. In : Methods of soil analysis. Part2 , 2nd ed. (Page , A.L.; R.H . Miller and D.R. Keeneg eds) Am. Soc. Agron. Inc. publisher. Madison , Wisconsin , USA. P. 643-698.
- Ladd , J.N. and R.B. Jackson. 1982. Biochemistry of ammonification urea , urease , In: Nitrogen in Agricalture Soil Stevenson, F. J.E. ed.) publisher Madison, Wisconsin, USA. P.208-228.
- Ladd, J.N. and J.H. A. Butler. 1973. Humus – anzyme systems and synthetic organic polymer – enzyme analogus. In: Soil Biochemistry (Mclaren, A.D. and E.A. paul, eds.) In. press , Marcel Dekker , New. York.
- Laura , R.D. 1974. Effet of neutral salts on carpon and nitrogen mineralization of orgcic matter in soil : plant and Soil : 41 : 113-127 .
- Mclaren , A.D., G.H. Peterson and I. Barshad. 1958. The adsorption and reactions of enzymes and proteins on clayminerals: IV. Kaolinite and Montmorillonite. Soil Sci. Soc. Am. Proc.22: 239-244.
- Monreal, C.W. B. Mc Gill and M. Nybory. 1986. Spatail heterogeneity of substrates: Effects on hydrolysis, immobilization and nitrification of urea. N.can. J.SoilSAci. 66: 499-511.
- O' Tool , P.; M.A. Morgan ; and S.J. Mc Garry . 1985. Acomparative study of urease activities in pasture and tillage soils. Commun. Soil Sci.plant Anal. 16(7):733-759.
- Perucci, P., P.L. Giusquiani and L. Scarponi. 1982. Nitrogen losess from added urea and ureas activity of aclay – loam soil amended with crop residues. Plant and Soil 69 : 457-463
- Rowell, M.J.,J.N. Ladd and E.A.paul .1973. Enzymically active complexes of proteases and humic acid analogues. Soil Biol – Biochem. 5: 699-703.

- Stephen , A.B. and M. Mortland. 1985. Urease activity on (clay comlex organic. Soil Sci .Soc. Am. Proc.14: 619-622.
- Tabatabai , M.A. 1973 . Michealis constants of urease soils and soil fractions. Soil Sci. Am. Proc. 37: 707-710.
- Tabatabai , M.A. 1982. Soil enzymes. In : Method of soil analysis. Parts2, 2nd ed.(page , A.L., R.H. Miller and P.R. Keeny eds). Am. Soc. Agron. Inc. Publisher. Madison. Wisconsin, USA. P. 903- 947.
- Tabatabai , M.A. and W.A.Dick . 1979. Distribution and stability of pyrophosphatase in soils.Bio. Biochem. 11: 655-659.
- Tabatatbai , M.A. and J.M. Bremner. 1972. Assay of urease activity in soils. Soil. Biochem. 4: 471-487.
- USDA 1954. Diagnosis and improvement of saline and a lkali USDA. Hand Book. No.60 Wa shington.
- Vindokumar and R.J. Wagenet. 1984 . Urease and Kinetic of urea transformation in soils. Soil Sci . 137: 263-269
- Zantua, M.I., L.C. Dumenil and J.M. Bremmer. 1977. Relation ships between Soil urease activity and other soil properties. Soil Sci- Soc. Am. Proc. 41: 350-352.

Some kinetic properties of Urease and phosphatase (alkaline and acid)and enfluence of temperature and salinity

Luma. S.J. Al- Taweel
University of Qadisiya – Education College .Dept. of biology

Abstract :

Two soils were choosen the first was silty clay loam (SiCL) and the second was loamy sand (LS) from Diwaniyah city. Two enzymes were choosen They were urease and phosphatase (a lkaline and acid) to study some kinetic properties for enzymes in soil and to study some factors effected on enzymes activity in soil (temperature degrees and salinity). The results showed that (Vmax) and (Km) in (SiCL) soil was higher than (LS) soil for both enzymes Urease and phosphatase (alkaline and acid). (Km) values were very lowest when the (Vmax) values were very highest in both soils and both enzymes.

The results showed that the Urease and phoslphatase (alkaline and acid) activity were increased with increasing of temperature degrees in both soils.

The highest values of activity were in the (SiCL) soil for both enzymes. The increasing of soil salinity decreased enzymes activity in both soils, and highest inhibitor percent was in the (SiCL) soil for urease and alkaline phosphatase but acid phosphatase, has a highest inhibitor percent in (LS) soil.