

استفاده از روش رزونانس مغناطیسی هسته H^1 و C^{13} در مطالعه کربن آلی خاک تحت پوشش درختان جنگلی

ماریه نادى^۱، احمد گلچین^۲، ابراهیم صداقتی^۳، سعید شفیعى^۴،
سید جواد حسینی فرد^۵ و جورج فولکی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۳/۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۲۰)

چکیده

مواد آلی خاک بزرگ‌ترین منبع کربن آلی در سطح خاک است که نقش بسیار زیادی در برقراری تعادل و پایداری محیط زیست، عناصر موجود در خاک و شرایط اقلیمی دارد. مواد آلی به‌طور مستقیم و غیرمستقیم بر خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک و در نتیجه حاصلخیزی خاک مؤثر است. میزان، نوع و ترکیب شیمیایی مواد آلی در خاک‌های مختلف و در شرایط اقلیمی مختلف، متفاوت است. اجزای مختلف خاک مقدار و ترکیب متفاوتی از مواد آلی را در خود نگهداری می‌نمایند. در این مطالعه نمونه‌برداری از سه جنگل بکر، صنوبر و توسکا در استان گیلان، ایران انجام پذیرفت. میزان مواد آلی موجود در نمونه‌های اصلی و جزء به جزء شده در سه بخش شن، سیلت و رس اندازه‌گیری شد و با استفاده از روش رزونانس مغناطیسی هسته کیفیت کربن آلی (C^{13}) و هیدروژن (H^1) موجود در هر جزء مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج حاصله میزان کربن آلی موجود در نمونه‌های اصلی در جنگل توسکا بیشترین بود. همچنین از بین سه جزء، رس بیشترین میزان کربن آلی را در خود جای داده بود. نتایج رزونانس مغناطیسی هسته کربن و هیدروژن حضور متفاوت ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک در نمونه‌های مختلف را نشان داد. جنگل بکر بالاترین نسبت کربن آلیکیلی به آلیکیلی اکسیژن‌دار و جنگل توسکا بیشترین نسبت کربن آلیفاتیک به آروماتیک را نشان دادند. هر دو نسبت فوق در جزء رس نسبت به دو جزء دیگر بالاتر بود.

واژه‌های کلیدی: جنگل بکر، جنگل توسکا، جنگل صنوبر، رزونانس مغناطیسی هسته، کربن آلی

۱. گروه خاکشناسی، دانشگاه سنت اشتوان، گودولو

۲. گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

۳. گروه گیاهپزشکی، دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان

۴. گروه خاکشناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جیرفت

۵. موسسه تحقیقات پسته کشور، رفسنجان

*: مسئول مکاتبات: پست الکترونیکی: Nadi@pri.ir

مقدمه

ماده آلی خاک شامل بقایای گیاهی و جانوری در مراحل مختلف تجزیه، سلول‌های ریشه‌های موجودات زنده، ریشه‌های گیاهان و مواد مترشحه آنها و همچنین میکروارگانیسم‌های خاک و بقایای آنها است. خاک و رسوبات شامل مواد آلی متنوعی هستند که می‌توان آنها را به دو گروه مواد هومیکی و غیرهومیکی تقسیم کرد. خواص فیزیکی و شیمیایی مواد غیرهومیکی شناخته شده است و این مواد شامل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، پپتیدها، آمینواسیدها، چربی‌ها، واکس‌ها (موم‌ها) و اسیدهای آلی با وزن مولکولی کم هستند. اغلب این ترکیبات به سادگی مورد حمله میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و زندگی بسیار کوتاهی در خاک دارند (۱۷). مواد هومیکی در واقع پلیمرهای بی شکل به رنگ قهوه‌ای تیره هستند که از تخریب شیمیایی و بیولوژیکی بقایای گیاهی و جانوری و همچنین سنتز دوباره این مواد توسط میکروارگانیسم‌ها حاصل می‌گردند (۱۷). بررسی‌ها نشان دادند که مواد هومیکی در ابتدای فرایند تجزیه ترکیبات ساده خود را از دست می‌دهند و در ادامه با انجام فرایندهای اکسیداسیون، پلیمریزاسیون- تراکم مواد باقیمانده، ترکیباتی با ساختار پایدار به وجود می‌آید (۱). بخش نرم مواد آلی، قابل تجزیه بوده به سرعت مصرف شده و تشکیل زیست‌توده و متابولیت‌های مختلف میکروبی می‌دهد و قسمت‌های سخت مواد آلی به طور موقت در خاک تجمع می‌نماید. این عمل در محیطی اتفاق می‌افتد که متخلخل بوده و سطح بسیار زیادی را برای جذب زیست‌توده و متابولیت‌های میکروبی عرضه می‌نماید (۱۲). نیمه عمر یک دسته از پلیمرهای آلی بدون حضور خاک در حدود چند ماه برآورد گردید، همان پلیمرها وقتی در خاک تولید شوند نیمه‌عمری در حدود چند دهه خواهند داشت. بعضی از محققان نشان دادند که دسته‌ای از ترکیبات آلی در بعضی از خاک‌ها برای هزاران سال باقی می‌مانند (۱۹). جزء نهایی مواد آلی خاک، هوموس می‌باشد که پس از تجزیه کامل شیمیایی و بیولوژیکی بقایای گیاهی و جانوری در خاک باقی می‌ماند و حدود ۸۰-۶۰ درصد ماده آلی را تشکیل می‌دهد. هوموس

بخش پایدار مواد آلی خاک بوده و تقریباً به حملات میکروبی مقاوم می‌باشد (۱۶). خواص هوموس بسته به فاکتورهای منشاء آن شامل: نوع خاک، پوشش گیاهی، شرایط اقلیمی و فاکتورهای وابسته به دست بشر متفاوت است. خواص شیمیایی بقایای گیاهی موجود در مواد هومیکی فاکتور اصلی تشکیل‌دهنده خواص این مواد و همچنین طول دوره تجزیه آنها است (۵). ترکیب مولکولی مواد هومیکی بسته به سن و منشاء آنها متغیر است و به همین دلیل است که این ترکیبات بیشتر از اینکه نقش ساختاری داشته باشند نقش کاربردی دارند (۲۱). این مواد می‌توانند با ترکیبات مختلف مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، چربی‌ها، ترکیبات بیولوژیکی فعال و کانی‌ها پیوند برقرار نمایند. بسیاری از واکنش‌هایی که در خاک روی می‌دهد تحت تأثیر اجزاء متنوع مواد آلی آن است. ون کمپنهوت و همکاران (۲۵) ترکیبات شیمیایی موجود در ماده آلی را که با سود عصاره‌گیری شده بود در جنگل‌های معتدله در بلژیک بررسی کردند. پوشش‌های جنگلی براساس گونه درختی غالب منطقه شامل پوشش‌های *Pinus sylvestris*, *Fagus sylvatica*, *Quercus robur*, *Populus* بود. آنها گزارش کردند که تفاوت در ماده آلی عصاره‌گیری شده به تغییرات موجود در منطقه مرتبط بوده به نحوی که مهم‌ترین عوامل مؤثر بر ماده آلی در منطقه عبارت است از: نوع گونه درختی غالب منطقه، تاریخچه کشت در منطقه، خصوصیات خاک، ذخیره کربن کل و شاخص‌های فعالیت میکروبی. روابط همبستگی نشان داد که نوع گونه درختی بیشتر از سایر فاکتورها بر این ویژگی مؤثر است. ترکیب ماده آلی عصاره‌گیری شده به شدت به کیفیت بقایای اضافه شده به خاک و مقادیر عناصر غذایی قابل دسترس در این بقایا وابسته است. در جنگل‌های فقیر از لحاظ عناصر غذایی و بقایای کم، تجزیه ترکیبات مقاوم در برابر واکنش‌های شیمیایی و بیولوژیکی دچار مشکل شده و این بقایا بیشتر در خاک تجمع می‌یابند. اگر شرایط بستر مطلوب باشد حتی در شرایط رطوبتی بالا هم ترکیبات مقاوم به تجزیه در خاک تجمع نمی‌کنند. طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته (NMR) مهمترین

شده و در استان‌های گیلان (آستانه اشرفیه) و مازندران (نوشهر) کشت گردیده‌اند که با توجه به سرشت آبدوستی گونه صنوبر و در دسترس بودن میزان رطوبت کافی در خاک این مناطق بدون عملیات آبیاری از شرایط رویشی و رشدی خوبی برخوردار است تا ضمن پاسخگویی به نیاز چوبی کشور از فشار بهره‌برداری وارده بر جنگل‌های طبیعی کاسته شود. از آنجا که گونه صنوبر معمولاً به صورت خالص کشت می‌شود اثرات زیانباری بر خاک و اکوسیستم جنگلی داشته و موجب فقیر شدن خاک از عناصر غذایی، شیوع آفات و امراض، آتش سوزی و نظایر آن می‌گردد. لذا این مطالعه در ایستگاه تحقیقات صنوبر صفرا بسته به عنوان متولی مطالعات صنوبر کشور در کیلومتر ۵ جاده آستانه اشرفیه - کیاسر در نزدیکی رودخانه سفید رود با ارتفاع ۱۵ متر بالاتر از سطح دریای خزر با موقعیت $49^{\circ}57'$ تا $49^{\circ}60'$ طول شرقی و $37^{\circ}19'$ تا $37^{\circ}22'$ عرض شمالی انجام گردید. شکل ۱ موقعیت منطقه مورد مطالعه را نشان می‌دهد.

بر اساس آمار ایستگاه سینوپتیک هواشناسی شهرستان آستانه اشرفیه مقدار بارندگی 1200 میلی‌متر در سال و متوسط درجه حرارت سالانه $11/6$ درجه سانتی‌گراد بود که حداکثر آن ($20/2$ درجه سانتی‌گراد) در مرداد ماه و حداقل درجه حرارت ($2/4$ درجه سانتی‌گراد) در دی ماه گزارش شد. نمونه‌برداری خاک از سه جنگل شامل جنگل بکر و جنگل‌های کشت شده صنوبر و توسکا (27 ساله) انجام شد و براساس خواص مورفولوژیکی، خاک سایت مورد مطالعه در رده اینسپتی سول قرار گرفت. نمونه‌برداری خاک از لایه A (صفر تا 20 سانتی‌متر) به صورت مرکب انجام شد، نمونه‌ها پس از هوا خشک شدن از الک 2 میلی‌متری عبور داده شدند و جهت انجام سایر تجزیه‌ها آماده گردیدند.

تجزیه فیزیکی و شیمیایی نمونه‌ها

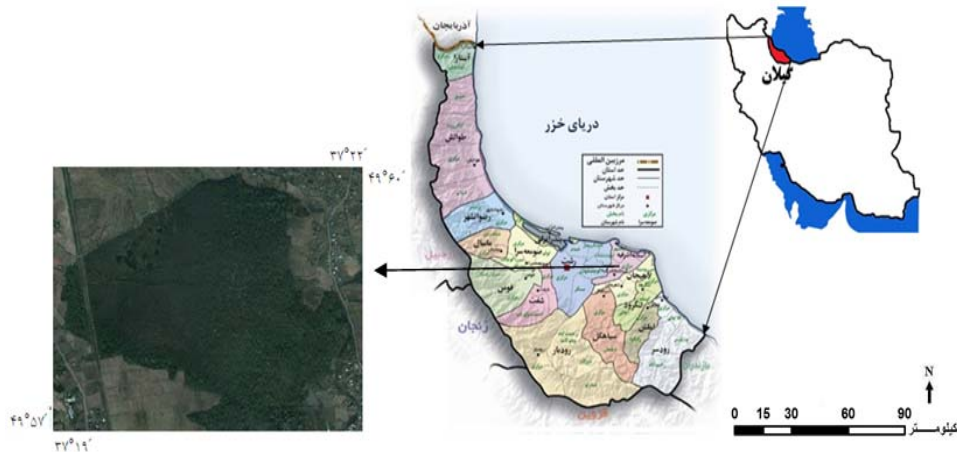
مواد آلی نمونه‌ها با استفاده از آب اکسیژنه در حرارت ملایم حذف گردید، سپس بافت خاک به روش پیتپیت اندازه‌گیری (4)

روش برای تعیین ترکیب شیمیایی مواد آلی شناخته شده است در این روش شکاف انرژی بین حالات مختلف هسته اتم‌ها در حضور یک میدان مغناطیسی خارجی اندازه‌گیری می‌شود و در مورد هسته اتم‌هایی قابل اجرا است که هسته دارای میدان مغناطیسی بوده و یا دارای گشتاور مغناطیسی باشند از هسته‌هایی که دارای گشتاور مغناطیسی هستند می‌توانیم کربن (C^{13}) و هیدروژن (H^1) اشاره کنیم. برای اندازه‌گیری شکاف انرژی هسته اتم‌ها، جابجایی شیمیایی اندازه‌گیری می‌شود و بر مبنای جابجایی شیمیایی انواع مختلف ترکیبات شناسایی می‌شود ($14, 15$). آزمایشات مختلف ارزشمندی با استفاده از این روش وجود دارد که اطلاعات مختلفی در زمینه شیمی مواد آلی فراهم می‌کند. رایج‌ترین استفاده از این روش در زمینه مواد آلی تعیین گروه‌های عاملی و انواع کربن موجود در این مواد مانند آلکیل، آریل، کربوکسیل و غیره بوده است. امروزه با بسط این روش ادغام آن با روش‌های دیگر دانشمندان به نتایج بهتری در زمینه شناسایی ترکیب شیمیایی مواد آلی دست می‌یابند (18). هدف از این مطالعه بررسی خواص کیفی کربن آلی در اجزاء شن، سیلت و رس خاک در سه پوشش گیاهی جنگل بکر، صنوبر و توسکا با استفاده از روش رزونانس مغناطیسی هسته می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

استان گیلان در جبهه شمالی سلسله جبال البرز به اتفاق استان‌های مازندران و گلستان رویشگاه جنگلی شمال کشور هستند. یکی از گونه‌های ارزشمند جنگلی صنوبر به نام سفید پلت به‌طور پراکنده در سراسر استان‌های مزبور در اراضی جلگه‌ای رویش طبیعی دارد که در شهرستان آستانه اشرفیه در حاشیه رودخانه سفید رود توده انبوهی از آن در سالیان گذشته وجود داشته و اکنون نیز به همراه گونه توسکا و لرگ توده نسبتاً وسیعی از آن وجود دارد که متأسفانه رو به فنا بوده و سیر قهقرائی دارد. هم‌زمان با توجه جهانی به کشت و توسعه صنوبرکاری، ارقام اصلاح شده و سریع‌الرشد خارجی وارد ایران



شکل ۱. موقعیت جغرافیایی منطقه مورد مطالعه

به حجم می‌رسانند سپس سیلت و رس موجود در سیلندر را براساس قانون استوکس و به روش رسوبگذاری از یکدیگر جدا می‌گردد به این صورت که سیلندر را با همزن دستی به همزده تا ذرات به حالت تعلیق در آیند سپس آن را رها کرده و پس از گذشت ۸ ساعت ۱۰ سانتی‌متر از محلول رویی را با سیفون کردن جدا می‌کنند و مجدداً سیلندر را با آب مقطر به حجم یک لیتر رسانده و بعد از هم زدن و گذشت ۸ ساعت ۱۰ سانتی‌متر رویی را با سیفون کردن جدا می‌کنند این عمل را آن قدر ادامه می‌یابد تا مایع درون سیلندر کاملاً زلال گردد و عاری از رس شود اجزاء باقیمانده در سیلندر و اجزاء سیفون شده را در دستگاه آون، خشک و به‌عنوان جزء سیلت و رس جدا می‌گردد. میزان مواد آلی موجود در هر جزء با استفاده از روش‌های متداول در سه تکرار اندازه‌گیری شد. میزان مواد آلی در سه سایت مورد بررسی و اجزاء مختلف خاک با کمک نرم افزار SAS و آزمون t مورد مقایسه قرار گرفتند. نتایج معنی‌دار داده‌ها در سطح ۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت.

طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)

جهت جداسازی مواد هومیکه هر جزء و انجام طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته، ۲/۵ گرم از نمونه‌های جزء به جزء شده خاک با استفاده از ۱۰ میلی لیتر محلول ۵٪ نرمال NaOH

میزان هدایت الکتریکی با استفاده از دستگاه هدایت سنج الکتریکی در عصاره اشباع و اسیدیته خاک در حالت گل اشباع و با استفاده از دستگاه pH متر الکتروود شیشه‌ای اندازه‌گیری شد. جزء به جزء کردن اندازه‌های مواد آلی به روش فراصوتی (۱۰) و با استفاده از دستگاه اولتراسونیک انجام گرفت. برای اعمال تخریب در نمونه‌ها از دستگاه اولتراسونیک لوله‌ای (UP200H2006, Hielscher Ultrasonics GmbH) استفاده شد. برای دیسپرس کردن ذرات از میله سونوتروود ۲۴ کیلوهرتز استفاده و دستگاه در ۵۰ درصد از توان و قدرت آن تنظیم شد. مقدار ۵۰ گرم نمونه خاک در بطری‌های پلاستیکی با نسبت آب به خاک ۱:۵ ریخته شد و سپس با استفاده از دستگاه اولتراسونیک به‌مدت ۵ دقیقه مورد تخریب قرار گرفت. نمونه‌های تخریب شده مطابق روش جداسازی ذرات شن، سیلت و رس که در اندازه‌گیری بافت خاک استفاده می‌گردد جدا شدند بدین صورت که ابتدا نمونه‌های التراسوند شده بر روی الک ۰/۵ میلی‌متر ریخته شد و سطح الک را کاملاً با آب مقطر شسته تا فقط ذرات بزرگتر از ۰/۵ میلی‌متر روی آن باقی بماند ذرات باقیمانده روی الک را در آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا خشک شوند. سپس این جزء را به عنوان جزء شن از سطح الک جدا نموده و توزین می‌کنند. خاک باقیمانده را داخل سیلندر یک لیتری ریخته و آن را با آب مقطر

جدول ۱. برخی از خواص فیزیکی و شیمیایی نمونه‌ها

| نمونه | شن % | سیلت % | رس % | بافت خاک | مواد آلی % | هدایت الکتریکی (μscm^{-1}) | ph |
|------------|---------|-----------|---------|---------------|---------------|--|-----|
| جنگل بکر | ۲۰/۳ | ۵۷/۳ | ۲۲/۴ | سیلتی لوم | ۲/۸ | ۲/۴ | ۷/۴ |
| جنگل صنوبر | ۲۵/۹ | ۵۴/۷ | ۱۹/۳ | سیلتی لوم | ۲/۷ | ۲/۵ | ۷/۴ |
| جنگل توسکا | ۱۹/۳ | ۵۱/۴ | ۲۹/۳ | سیلتی رسی لوم | ۶/۳ | ۱/۴ | ۷/۳ |

جدول ۲. میزان کربن آلی، نیتروژن کل و نسبت C:N در سه جنگل مورد بررسی

| نمونه | کربن آلی (%) | نیتروژن کل (%) | نسبت C:N |
|------------|------------------|--------------------|-------------------|
| جنگل بکر | ۳/۳ ^b | ۰/۱۲۴ ^a | ۲۸/۷ ^b |
| جنگل صنوبر | ۳/۰ ^b | ۰/۱۱۴ ^a | ۲۴/۶ ^b |
| جنگل توسکا | ۷/۰ ^a | ۰/۱۲۸ ^a | ۵۵/۰ ^a |

می‌باشد. سلیک (۳) در خصوص تأثیر ماده آلی بر روی ویژگی‌های فیزیکی خاک در جنوب مدیترانه ترکیه اظهار داشت که پوشش سرو در افق‌های سطحی دارای مقادیر کربن آلی بیشتری نسبت به جنگل پهن برگ بوده اما درصد پایداری خاکدانه‌ها در آنها ضعیف‌تر از جنگل پهن برگ است.

از آنجا که رس منجر به ایجاد پیوند با ترکیبات آلی و تجمع آنها می‌گردد و میزان رس در بافت خاک جنگل توسکا بیشتر از دو نمونه دیگر شامل جنگل بکر و صنوبر بود (جدول ۱)، بیشتر بودن میزان رس در این نمونه می‌تواند دلیل مضاعفی برای بیشتر بودن میزان کربن آلی در این نمونه باشد. معمولاً رابطه بسیار نزدیکی بین میزان ماده آلی و مقدار رس خاک‌ها وجود دارد (۱۲). چنین رابطه‌ای منجر به این نتیجه‌گیری شد که ذرات رس سرعت تجزیه مواد آلی را کند می‌کنند. اودز اظهار داشت که ممکن است ذرات رس عامل مستقیم در افزایش ماده آلی نباشند، چون خاک‌های رسی معمولاً حاصلخیزتر از خاک‌های شنی بوده و بقایای گیاهی تولیدی و در نتیجه کربن ورودی به این خاک‌ها بیشتر است (۱۲). مطالعات آزمایشگاهی در بررسی تأثیر رس بر سرعت تجزیه مواد آلی، استنباط اولیه مبنی بر اینکه ذرات رس سرعت تجزیه مواد آلی را کاهش می‌دهند

عصاره گیری شد (۱۷). عصاره‌های حاصله به روش انجماد خشک به پودری نرم تبدیل گردیدند، ۲۰ میلی گرم از مواد هومیکی پودر شده در ۰/۶ میلی لیتر محلول ۰/۱ مولار NaOD/D₂O حل شدند (۱). طیف‌های C^{13} و H^1 مواد هومیکی با استفاده از دستگاه طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته مدل Bruker Avance ۴۰۰ Ultrashield به ترتیب در طیف‌های ۴۰۰/۲۲ و ۱۰۰/۶۳ مگا هرتز اندازه‌گیری و کیفیت ترکیبات کربن دار در اجزاء نمونه‌ها تعیین گردید.

نتیجه و بحث

تجزیه فیزیکی و شیمیایی

نتایج مربوط به برخی خواص فیزیکی و شیمیایی نمونه‌ها قبل از فرایند جزء به جزء کردن شامل: درصد هر یک از اجزاء شن، سیلت و رس، بافت خاک، درصد مواد آلی، درصد کربن آلی، میزان هدایت الکتریکی و اسیدیته خاک در جدول (۱) نشان داده شده است.

میزان کربن آلی موجود در نمونه خاک مربوط به جنگل توسکا به طور معنی داری بیشتر از دو جنگل بکر و صنوبر بود (جدول ۲). این امر احتمالاً به دلیل ورودی بیشتر ماده آلی و نوع ماده آلی وارد شده به خاک تحت پوشش جنگل توسکا

جدول ۳. میزان کربن آلی، نیتروژن کل و نسبت C:N در سه جزء و سه جنگل مورد بررسی

| نمونه | اجزاء جدا شده | کربن آلی (%) | نیتروژن کل (%) | نسبت C:N |
|------------|---------------|------------------|---------------------|--------------------|
| جنگل بکر | شن | ۲/۳ ^c | ۰/۰۶۸ ^{cd} | ۳۳/۹ ^{bc} |
| | سیلت | ۱/۲ ^d | ۰/۰۲۳ ^d | ۵۴/۷ ^b |
| | رس | ۶/۴ ^a | ۰/۳۴۲ ^a | ۱۸/۷ ^c |
| جنگل صنوبر | شن | ۲/۸ ^c | ۰/۰۲۷ ^d | ۱۰۵/۱ ^a |
| | سیلت | ۰/۹ ^d | ۰/۰۳۰ ^{cd} | ۳۵/۱ ^{bc} |
| | رس | ۴/۳ ^b | ۰/۲۳۵ ^b | ۱۸/۴ ^c |
| جنگل توسکا | شن | ۶/۱ ^a | ۰/۰۵۴ ^{cd} | ۱۱۱/۵ ^a |
| | سیلت | ۴/۰ ^b | ۰/۰۷۵ ^c | ۵۹/۴ ^b |
| | رس | ۶/۴ ^a | ۰/۳۱۶ ^a | ۲۰/۲ ^c |

کربن آلی در این مواد است. همانطور که مورد انتظار است این نسبت در جزء رس به کمترین میزان خود رسیده است (جدول ۳). خاک‌های غنی از ذرات ریز با مکانیسم‌های فیزیکی و شیمیایی کربن آلی خاک را در برابر تجزیه میکروبی محافظت می‌کنند در عوض خاک‌های با بافت درشت عموماً دارای سطوح پایینی از کربن آلی هستند به دلیل اینکه مکانیسم‌های محافظت کننده ضعیف و سرعت معدنی شدن بالایی دارند (۱۳).

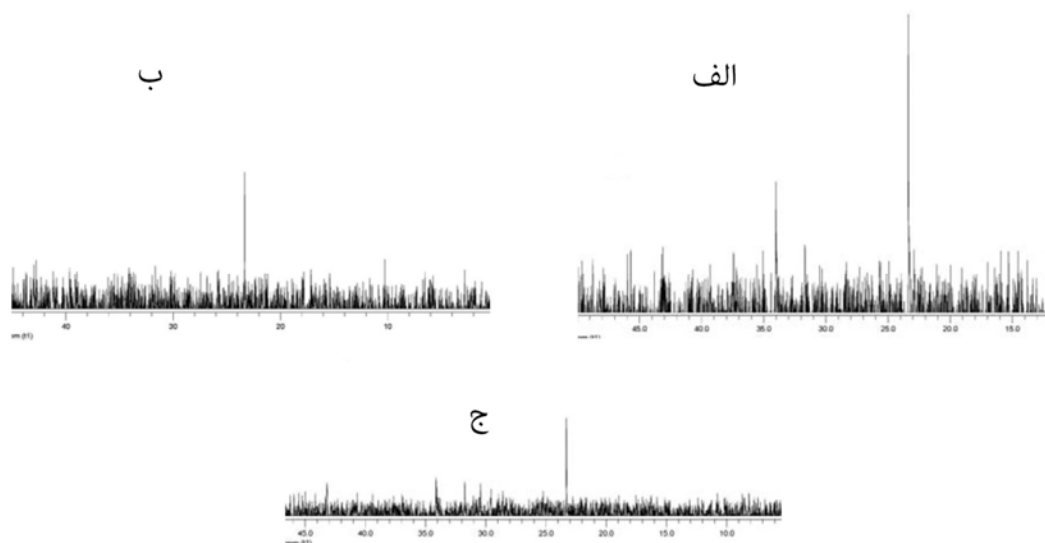
طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته

نتایج طیف سنجی کربن ۱۳ و هیدروژن ۱ وجود انواع مختلف ترکیبات آلی اعم از ترکیبات آلکیلی، آلکیلی اکسیژن‌دار، آروماتیک و غیره را در اجزای رس، سیلت و شن جدا شده از نمونه‌ها تایید نمود. (شکل ۲) طیف های کربن ۱۳ مربوط به ترکیبات آلکیلی جزء رس در دامنه ۴۵ ppm- نمونه‌ها را نشان می‌دهد. طیف های هیدروژن ۱ (شکل ۳) در دامنه ۲/۵ ppm- حضور این ترکیبات را در جزء رس تایید می‌کنند. ترکیب شیمیایی مواد آلی خاک در درجه اول توسط ترکیب شیمیایی وارد شده به خاک کنترل می‌شود (۲) در نتیجه نوع پوشش گیاهی هر نمونه نقش بسزایی در ترکیب شیمیایی مواد آلی آن دارد. با توجه به طیف‌های رزونانس مغناطیسی هسته نمونه‌ها،

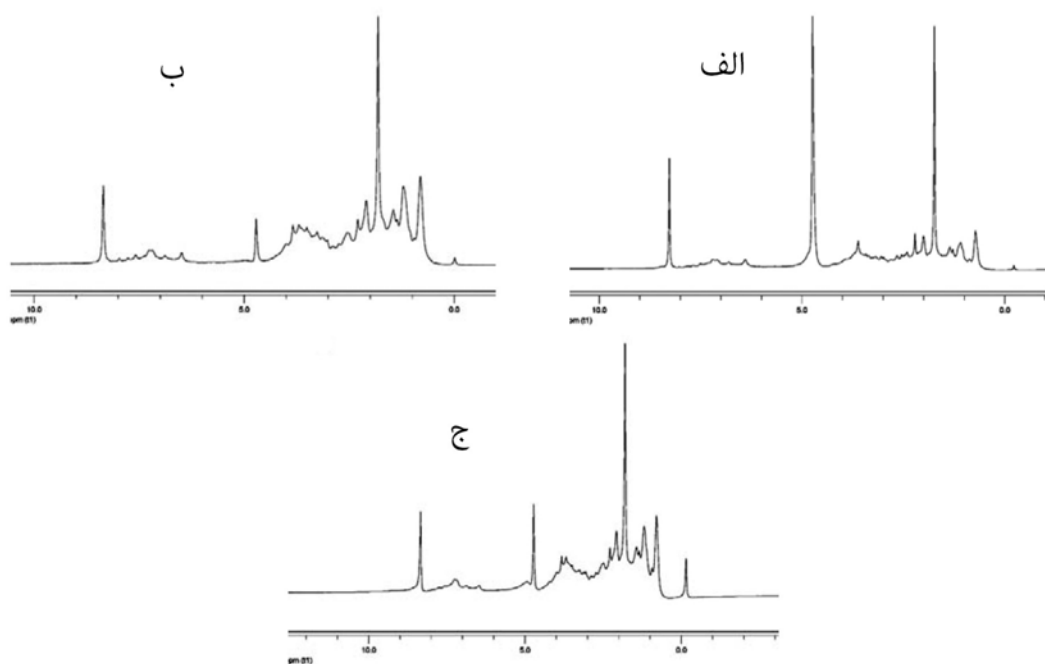
را مورد تأیید قرار داد (۱۱).

میزان نیتروژن کل در نمونه‌ها تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول ۲). نسبت C:N به طور معنی دار در جنگل توسکا بیشتر از دو جنگل دیگر بود که دلیل آن میزان بیشتر کربن آلی در این نمونه می‌باشد (جدول ۲). نتایج حاصل از بررسی میزان کربن آلی، اختلاف معنی دار موجود در سه جزء شن، سیلت و رس را نشان داد. همانطور که انتظار می‌رفت جزء رس بیشترین میزان کربن آلی و جزء سیلت کمترین مقدار را به خود اختصاص دادند (جدول ۳). میزان نیتروژن کل در جزء رس به طور معنی دار از دو جزء دیگر بیشتر بود (جدول ۳).

تفاوت معنی دار در نسبت C:N اجزاء جدا شده در جدول ۳ نشان داده شده است، این نسبت در جزء شن بیشترین و در جزء رس کمترین مقدار را به خود اختصاص داد. مقدار زیاد این نسبت در جزء شن نشان‌دهنده تازگی و جوان بودن مواد آلی در این جزء است که با گذشت زمان و طی فرایند پوسیدگی مواد آلی نسبت C:N نیز کاهش می‌یابد. کاهش نسبت C:N به دنبال تبدیل بخش زیادی از کربن موجود در ترکیبات آلی به گاز CO₂ و خروج از خاک صورت می‌پذیرد. میزان نسبت C:N در جزء سیلت از جزء شن کمتر و از جزء رس بیشتر است که این نشان‌دهنده تأثیر فرایند پوسیدگی بر میزان



شکل ۲. طیف‌های کربن ۱۳ جزء رس در دامنه ۴۵-۰ ppm (نمونه‌ها: الف) جنگل بکر، ب) جنگل صنوبر و ج) جنگل توسکا



شکل ۳. طیف‌های هیدروژن ۱ جزء رس در دامنه ۱۰-۰ ppm (نمونه‌ها: الف) جنگل بکر، ب) جنگل صنوبر و ج) جنگل توسکا

مطالعه می‌تواند توضیحی برای آن باشد (۸، ۲۲، ۲۵). براساس برخی تحقیقات در طول فرایند هموسی شدن میزان کربن‌های آلکیلی افزایش یافته و از تعداد کربن‌های آلکیلی اکسیژن‌دار کاسته می‌شود (۶، ۹، ۲۳). یک فرضیه متداول برای این

بیشترین ترکیبات آلیفاتیکی موجود در همه نمونه‌ها و اجزاء آنها ترکیبات آلکیلی بود. افزایش کربن آلکیلی در طول فرایند هموسی شدن توسط عده ای از محققان گزارش گردیده و افزایش چربی‌های قابل استخراج و پیوندی در مواد آلی مورد

جدول ۴. پارامترهای حاصل از طیف سنجی رزونانس مغناطیسی هسته در بررسی کیفی ترکیبات آلی نمونه‌ها و اجزاء آنها

| پارامترها | اجزاء خاک | نمونه‌ها | | |
|--------------------------|-----------|----------|------------|------------|
| | | جنگل بکر | جنگل صنوبر | جنگل توسکا |
| آلکیل اکسیژن‌دار / آلکیل | رس | ۳/۰ | ۲/۵ | ۲/۴ |
| | سیلت | ۲/۱ | ۲/۰ | ۱/۸ |
| | شن | ۲/۷ | ۱/۷ | ۲/۰ |
| آروماتیک / آلیفاتیک | رس | ۱۲ | ۱۴ | ۲۱ |
| | سیلت | ۱۱/۳ | ۱۳/۵ | ۱۹/۵ |
| | شن | ۱۰/۰ | ۱۳/۰ | ۱۸/۰ |

تفاوت‌های بین اجزاء احتمالاً نتیجه اختلاف در درجه پوسیدگی مواد آلی موجود است. کاهش میزان کربن آلکیلی اکسیژن‌دار در سیلت و شن نتیجه مصرف کربوهیدرات‌های با قابلیت تجزیه‌شوندگی آسان توسط میکروارگانیسم‌های خاک و حفاظت انتخابی کربن‌های آلکیلی و آروماتیکی مقاوم مربوط به مواد گیاهی بکر می‌باشد (۲).

نسبت کربن آلیفاتیک به آروماتیک در نمونه‌ها و اجزاء مختلف آنها متفاوت بود، بیشترین میزان این نسبت مربوط به جزء رس جنگل توسکا بود (جدول ۴). این نسبت در شن و سیلت کمتر از رس بود، این امر نشان‌دهنده وجود ترکیبات ساده‌تر در جزء رس است. با پیشرفت فرایند هوموسی شدن، ترکیبات آروماتیکی به ترکیبات آلی ساده‌تر با ساختارهای آلیفاتیکی بیشتر تبدیل می‌شوند. نتایج این مطالعه با دبسکا و همکاران (۵) که بر ارتباط فرایند هوموسی شدن و افزایش میزان ترکیبات با اندازه کوچک‌تر تأکید نمودند، همخوانی دارد. بیشترین نسبت کربن آلیفاتیک به آروماتیک در نمونه جنگل توسکا و کمترین آن در جنگل بکر مشاهده شد (جدول ۴). دلیل این امر احتمالاً وجود ترکیبات آلی اضافه شده به خاک جنگل توسکا که ترکیباتی ساده‌تر با بافتی شکننده‌تر، میزان لیگنین کمتر و در نتیجه حاوی میزان بیشتر ترکیبات آلیفاتیکی نسبت به آروماتیکی است، می‌باشد. در حالیکه حضور ترکیبات آروماتیکی پیچیده‌تر با تنوع بیشتر و

موضوع، مصرف کربن‌های آلکیلی اکسیژن‌دار توسط جمعیت میکروبی خاک است که منجر به افزایش ترکیبات مقاوم‌تر مانند آلکیل‌ها و کربن‌های آروماتیکی می‌گردد (۶، ۹، ۲۳). بیشترین میزان ترکیبات آلکیلی در بخش رس و کمترین آن در بخش شن نمونه‌ها مشاهده گردید. نتایج این تحقیق حضور ترکیبات آلی پوسیده‌تر در بخش رس خاک را تأیید می‌نماید. نسبت کربن آلکیلی به آلکیلی اکسیژن‌دار به‌عنوان شاخصی برای تشخیص میزان پوسیدگی مواد آلی می‌باشد (۷). به‌طوریکه نسبت بالاتر، وجود ترکیبات آلکیلی بیشتر و در نتیجه پوسیدگی وسیع‌تر را نشان می‌دهد.

بیشترین میزان این نسبت در بین نمونه‌ها متعلق به جزء رس جنگل بکر بود (جدول ۴). تنوع زیستی گیاهی و میکروبی و ترکیبات آلی رها شده توسط آنها، سن زیاد پوشش گیاهی و اثر متقابل جمعیت‌های مختلف میکروبی در جنگل بکر به احتمال زیاد منجر به پیشرفت فرایندهای پوسیدگی و هوموسی شدن مواد آلی و نسبت بیشتر ترکیبات آلکیلی در این نمونه می‌باشد. از طرفی تلفات ترکیبات ناپایدار در زمان جایگزینی پوشش گیاهی بومی با دیگر گونه‌ها یا کاربری‌ها افزایش می‌یابد.

در بین سه جزء رس، سیلت و شن، جزء رس بالاترین میزان نسبت کربن آلکیلی به آلکیلی اکسیژن‌دار را در هر سه نمونه به خود اختصاص داد (جدول ۴)، از آنجا که منشاء هر سه جزء در هر نمونه از پوشش گیاهی یکسان بود در نتیجه

در نتیجه دیر تجزیه شونده در جنگل بکر منجر به کمتر بودن نسبت کربن آلیفاتیک به آروماتیک در این نمونه است. براساس زچ و همکاران ساختارهای اولفین و آروماتیک در ترکیبات لیگنینی و تانین‌ها یافت می‌گردد (۲۴). میزان بیشتر کربن آروماتیک در یک نمونه احتمالاً ناشی از نگهداری انتخابی لیگنین باشد.

منابع مورد استفاده

1. Baglieri, A., A. Ioppolo, M. Negre and M. Gennari. 2007. A method for isolating soil organic matter after the extraction of humic and fulvic acids. *Org. Geochem.* 38: 140-150.
2. Baldock, J., J. Oades, A. Waters, X. Peng, A. Vassallo and M. Wilson. 1992. Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ^{13}C NMR spectroscopy. *Biogeochemistry* 16:1-42.
3. Celik, I. 2005. Land-use effects on organic matter and physical properties of soil in a southern Soil Till. *Res.* 83: 270-277.
4. Day, P. R. 1965. Particle fractionation and particle-size analysis. PP. 545-565. *In*: Black, C.A. (Ed.), *Methods of soil analysis*. Part 1. American Society of Agronomy, Madison, WI.
5. Debska, B., M. Drag and M. Banach-Szott. 2007. Molecular size distribution and hydrophilic and hydrophobic properties of humic acids isolated from forest soil. *Soil Water Res.* 2:45-53.
6. Deshmukh, A. P., Y. Chen, J. Tarchitzky, B. Chefetz and P. G. Hatcher. 2002. Structural characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agricultural soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66: 129-141.
7. Gregorich, E., M. Beare, J. Skjemstad and U. Mckim. 2006. Chemical and biological characteristics of physically uncomplexed organic matter. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 975-985.
8. Hempfling, R. and H. R. Schulten. 1989. Selective preservation of biomolecules during humification of forest litter studied by pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Sci. Total Environ.* 81: 31-40.
9. Kogel-Knabner, I. 1997. ^{13}C and ^{15}N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma.* 80: 243-270.
10. Morra, M., R. Blank, L. Freeborn and B. Shafii. 1991. Size fractionation of soil organo-mineral complexes using ultrasonic dispersion. *Soil Sci.* 152: 239-313.
11. Oades, J. M 1988. The retention of organic matter in soils. *Biogeochemistry* 5: 35-70.
12. Oades, J. M 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma.* 56: 377-400.
13. Pandey, C. B., G. Singh, S. Singh and R. Singh. 2010. Soil nitrogen and microbial biomass carbon dynamics in native forests and derived agricultural land uses in a humid tropical climate of India. *Plant. Soil.* 333: 453-467.
14. Preston, C. M. 1996. Applications of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. *Soil Sci.* 161: 144-166.
15. Preston, C. M. 2001. Carbon-13 solid-state NMR of soil organic matter-using the technique effectively. *Can. J. Soil Sci.* 81: 255-270.
16. Rasmussen, P. E. and H. P. Collins. 1991. Long-term impacts of tillage, fertilizer, and crop residue on soil organic matter in temperate semiarid regions. *Adv. Agron.* 45: 93-134.
17. Schnitzer, M. and S. U. Khan. 1989. *Soil Organic Matter*. P. 319.
18. Smernik, R. J., E. Eckmeier and M. W. I. Schmidt. 2008. Comparison of solid-state ^{13}C NMR spectra of soil organic matter from an experimental burning site acquired at two field strengths. *Aust. J. Soil. Res.* 46: 122-127.
19. Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. PP. 512. John Wiley & Sons Inc, Westminister, USA.
20. Vancampenhout, K., B. De Vos, K. Wouters, H. Van Calster, R. Swennen, P. Buurman and J. Deckers. 2010. Determinants of soil organic matter chemistry in maritime temperate forest ecosystems. *Soil. Bio. Biochem.* 42: 220-233.
21. Yates, L. M. and R. Von Wandruszka. 1999. Effects of pH and metals on the surface tension of aqueous humic materials. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 1645-1649.
22. Zech, W., R. Hempfling, L. Haumaier, H. R. Schulten and K. Haider. 1990. Humification in subalpine Rendzinas: chemical analyses, IR and ^{13}C NMR spectroscopy and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. *Geoderma.* 47: 123-138.
23. Zech, W., N. Senesi, G. Guggenberger, K. Kaiser, J. Lehmann, T. M. Miano, A. Miltner and G. Schroth. 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma* 79: 117-161.
24. Zech, W., F. Ziegler, I. Kögel-Knabner and L. Haumaier. 1992. Humic substances distribution and transformation in

- forest soils. *Sci. Total Environ.* 117: 155-174.
25. Ziegler, F. and W. Zech. 1989. Distribution pattern of total lipids and lipid fractions in forest humus. *J. Plant Nutr. Soil Sc.* 152: 287-290.

Using Nuclear Magnetic Resonance ^1H and ^{13}C in the Study of Soil Organic Matter Covered by Forest Trees

M. Nadi^{1*}, A. Golchin², E. Sedaghati³, S. Shafie⁴, S. J. Hosseini fard⁵ and G. Füleky¹

(Received: May 27-2014 ; Accepted: July 10-2016)

Abstract

Soil organic matter is the largest source of organic carbon in the soil surface which plays an enormous role in restoring balance, environmental sustainability, soil elements and climatic conditions. Organic materials directly and indirectly influence physical, chemical and biological properties of soil and thus soil fertility. The amount, type and composition of organic matter are different in different soil and climatic conditions. Different soil components can hold different combination of soil organic matter. In this study soil samples were collected from virgin, Populus and Alnus forests from Guilan Province, Iran. The amount of organic matter in the original samples and sand, silt and clay fractions were measured and the quality of organic carbon (^{13}C) and hydrogen (^1H) was determined in fractions by Nuclear Magnetic Resonance. Based on the results, the original samples of Alnus forest showed the highest amount of organic carbon. Among fractions, clay showed the highest amount of organic carbon. The result of Nuclear Magnetic Resonance showed presence of different aliphatic and aromatic carbons and hydrogen in different samples. Virgin forest had the highest proportion of alkyl to oxygenated alkyl carbon ratio and Alnus forest showed the highest ratio of aliphatic to aromatic carbon. Both of above mentioned ratios was higher in clay fraction than two other fractions.

Keywords: Alnus forest, Nuclear Magnetic, organic carbon, Populus forest, Resonance, Virgin forest

1. Dept. of Soil Sci. and Agric. Chemistry, Institute of Environ. Sci., Szent Istvan Univ., Godollo. Hungary.

2. Dept. of Soil Sci. Faculty of Agric., Zanjan Univ., Zanjan, Iran.

3. Dept. of Plant Protection, Faculty of Agric., Vali-e-Asr Univ. of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.

4. Dept. of Soil Sci., Faculty of Agric., Jiroft Univ., Jiroft, Iran.

5. Dept. of Water and Soil, Iranian Pistachio Res. Institute, Rafsanjan, Iran.

*: Corresponding Author, Email: Nadi@pri.ir