

سینتیک معدنی شدن نیتروژن در یک خاک تیمار شده با کمپوست، ورمی کمپوست و کود دامی

صاحب سودایی مشاعی*، ناصر علی اصغرزاده و شاهین اوستان^۱

(تاریخ دریافت: ۸۵/۲/۱۲؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۱۲)

چکیده

آگاهی بر سرعت معدنی شدن نیتروژن از منابع مختلف آلی یک عامل کلیدی برای تعیین نیاز کودی نیتروژن گیاه با حداقل آثار منفی زیست محیطی است. به منظور بررسی سرعت معدنی شدن نیتروژن کمپوست، ورمی کمپوست و کود دامی یک آزمایش انکوباسیون گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار، چهار تیمار (کمپوست، ورمی کمپوست، کود دامی و شاهد) در دو سطح دمایی (۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و دو سطح رطوبتی (۵۰ و ۸۵ درصد ظرفیت مزرعه‌ای) به مدت ۹۰ روز انجام گردید. آمونیم و نترات حاصل از فرایند معدنی شدن به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. مدل‌های مختلف سینتیک با داده‌های معدنی شدن نیتروژن برازش داده شد. نتایج نشان داد که مدل سینتیک ترکیب مرتبه صفر-مرتبه اول بهترین مدل سینتیک برازش یافته با داده‌هاست. بیشترین مقدار نیتروژن معدنی شده (N_{min}) از کود دامی ($87/78 \text{ mgN/kg}$ معادل $14/54$ درصد نیتروژن کل) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و کمترین مقدار ($22/62 \text{ mgN/kg}$ معادل $4/62$ درصد نیتروژن کل) از تیمار کمپوست در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد حاصل شد که این محاسبه، فرضیه کمتر بودن تجزیه‌پذیری کود کمپوست را تقویت می‌کند. شاخص قابلیت دسترسی نیتروژن (N_0k) برای تیمارهای کودی به ترتیب کود دامی < ورمی کمپوست < کمپوست بود. با افزایش دما و افزایش رطوبت خاک، معدنی شدن نیتروژن افزایش یافت و تأثیر دما بیشتر از تأثیر رطوبت خاک بود. مقدار نیتروژن معدنی شده (N_{min}) با نیتروژن قابل معدنی شدن بالقوه (N_0) ($r=0/583^*$) و شاخص قابلیت دسترسی نیتروژن (N_0k) ($r=0/834^{**}$) هم‌بستگی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: معدنی شدن نیتروژن، مدل‌های سینتیک، کمپوست، ورمی کمپوست، کود دامی

مقدمه

(۱۷). معدنی شدن (Mineralization) نیتروژن، یکی از مهم‌ترین فرایندهای پیچیده چرخه نیتروژن در خاک است که در آن انواع مختلفی از میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها، قارچ‌ها، اکتینومیست‌ها) ترکیبات متنوعی از مواد بستر (بقایای محصول، هوموس خاک، بافت‌های مرده میکروبی و کودهای آلی) را تحت شرایط محیطی مختلف خاک (دما، رطوبت و

سرعت معدنی شدن نیتروژن از منابع مختلف آلی در اراضی زراعی برای حفظ حاصل‌خیزی خاک قابل اغماض نیست. دانستن کمیّت نیتروژن فراهم شده در دوره رشد گیاه از معدنی شدن مواد آلی خاک در بهبود کارایی کودهای نیتروژنی و کاهش خطرات آلودگی منابع آبی و اتمسفر اهمیت فراوانی دارد

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: s_soodaie78@yahoo.com

آلی خاک، هر کدام با سرعت تجزیه ویژه خود، ممکن است به طور مستقیم معدنی شوند (۶). بنابراین با تقسیم کردن نیتروژن آلی قابل معدنی شدن خاک به اجزای مختلف با فرض این که هر کدام طبق سینتیک مرتبه اول معدنی می‌شوند، مدلی توسعه یافته که به صورت معادله زیر بیان می‌شود:

$$N_m = \sum_{i=1}^n N_{oi} [1 - e^{-(k_i t)}] \quad [3]$$

که در آن i یک جزء ویژه نیتروژن آلی، n تعداد کل اجزاء، N_{oi} نیتروژن بالقوه قابل معدنی شدن در جزء i ام و k_i ثابت سرعت معدنی شدن برای جزء i ام می‌باشد (۶). آدیسکات (۲) دریافت که معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های روتامستد با مرطوب نگه‌داشتن قبل از انکوباسیون می‌تواند به وسیله مدل سینتیکی مرتبه صفر توصیف شود. ماری و همکاران (۱۵) نشان دادند که سینتیک معدنی شدن نیتروژن در مزرعه وقتی خطی است که بخش کوچکی از نیتروژن آلی معدنی شود و وقتی غیرخطی است که بخش بزرگ‌تری از نیتروژن آلی معدنی شود. برخی محققین نشان دادند که با آزمایش‌های انکوباسیون ممکن است اندازه‌گیری کمی معدنی شدن بالقوه نیتروژن خاک ممکن نباشد، زیرا جزء نیتروژنی که به آهستگی معدنی می‌شود، از سینتیک مرتبه صفر پیروی می‌کند (۱۲). این تحقیق استفاده از یک مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر و مرتبه یک را پیشنهاد کرد که از مدل نمایی دوگانه گرفته شده است:

$$N_m = N_L [1 - \exp(-k_L t)] + kt \quad [4]$$

که در آن N_L مقدار نیتروژن قابل معدنی شدن از منبع ساده تجزیه‌پذیر در شروع انکوباسیون، k_L ثابت سرعت مرتبه اول و k ثابت سرعت مرتبه صفر است. هاسن و همکاران (۸) معدنی شدن نیتروژن مواد آلی غنی شده از عناصر سنگین Cu ، Zn و Cd اضافه شده به خاک را با استفاده از مدل سینتیکی مرتبه اول بررسی نمودند. این محققان، مقدار N_0 را برای کمپوست بین ۸۰ تا ۵۶۸ میلی‌گرم در کیلوگرم، برای کود دامی ۸۷ تا ۵۶۵ میلی‌گرم در کیلوگرم و برای لجن فاضلاب بین ۸۲ تا ۷۸۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آوردند و مقدار k را بین ۰/۰۰۱

تهویه) تجزیه کرده و آمونیم تولید می‌کنند (۱۱)، سپس آمونیم از طریق نیتریفیکاسیون و فرایندهای بیولوژیک دیگر که در آن باکتری‌های کمولیتوتروف دخیل هستند، به نترات تبدیل می‌شود. نترات تولید شده می‌تواند به وسیله گیاهان استفاده شود، در طی دنیتریفیکاسیون به اتمسفر برگردد، به وسیله میکروارگانیسم‌های خاک غیر متحرک یا آلی شود، در خاک تجمع کند و یا از سیستم خاک-گیاه آبشویی یابد (۱۹). سینتیک فرایندهای شیمیایی خاک یکی از مهم‌ترین و در حین حال پیچیده‌ترین مباحث در شیمی خاک و محیط است. نخستین مطالعه بر روی سینتیک فرایندهای شیمیایی خاک در حدود سال ۱۸۵۰ به وسیله توماس‌وی روی تبادل یونی انجام شد (۲۱). استفورد و اسمیت (۲۲) نیتروژن بالقوه قابل معدنی شدن (N_0) را به عنوان بخشی از نیتروژن آلی خاک که مستعد معدنی شدن با ثابت سرعت معدنی شدن k ، مطابق با سینتیک مرتبه اول است، تعریف کردند.

$$\frac{dN}{dt} = -kN \quad [1]$$

که در آن N مقدار مواد بستری (نیتروژن قابل معدنی شدن) و t زمان است. در نهایت با انتگرال‌گیری از این معادله و جانشین کردن $N_0 - N_m$ به جای N_t به معادله زیر رسیدند:

$$N_m = N_0 [1 - e^{(-kt)}] \quad [2]$$

که در آن N_m نیتروژن معدنی شده در زمان t است با استفاده از معادله ۲ استفورد و اسمیت (۲۲) دریافتند که مقادیر N_0 در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۹ خاک از ایالات متحده آمریکا در دامنه‌ای بین ۱۸ تا ۳۰۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک تخمین زده می‌شود و مقادیر k در دامنه‌ای بین ۰/۰۳۵ تا ۰/۰۹۵ ($week^{-1}$) با یک میانگین وزنی ۰/۰۵۴ ($week^{-1}$) است. مدل سینتیک مرتبه اول برای توصیف معدنی شدن نیتروژن خاک‌های تحت زمین‌نماهای مختلف، محصول و شرایط اقلیمی مختلف استفاده شدند. در مقایسه، لیندن و کاردنر (۱۳) دریافتند که مدل سینتیکی مرتبه اول برای توصیف معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب نامناسب است. محققان مختلفی پیشنهاد کرده‌اند که بیش از یک جزء از نیتروژن

در سه تکرار مخلوط گردید. یک تیمار شاهد نیز در سه تکرار، بدون افزودن کود در نظر گرفته شد. ظرفیت مزرع‌ای خاک با استفاده از دستگاه صفحه فشاری تعیین، سپس با اضافه کردن ۳۳/۸ و ۵۷/۵ میلی‌لیتر آب مقطر به خاک به ترتیب به رطوبت ۵۰٪ و ۸۵٪ ظرفیت مزرع‌ای رسانده شد، و آنگاه به مدت ۹۰ روز در دو سطح دمایی ۸ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتورهای جداگانه نگهداری شدند. گلدان‌های مورد نظر دارای درب سوراخ‌دار از ورق آلومینیومی بودند تا تبادل اکسیژن به خوبی صورت بگیرد و با شرایط محیط به صورت هوازی باقی بماند. در مدت انکوباسیون، هر سه روز یک‌بار گلدان‌ها توزین شده و کاهش وزن حاصل از تبخیر آب با افزودن آب مقطر جبران شد. در زمان‌های صفر (اولیه)، ۲، ۴، ۹، ۱۶، ۲۳، ۳۰، ۴۵، ۶۵ و ۹۰ روز پس از شروع انکوباسیون (۱۲ و ۱۴)، پنج گرم خاک از هر گلدان نمونه‌برداری شده و به آن ۵۰ میلی‌لیتر محلول سولفات پتاسیم یک درصد اضافه گردید و به مدت یک ساعت شیک شد (با سرعت ۱۹۰ دور در دقیقه). بعد از آن سوسپانسیون حاصل به وسیله کاغذ صافی، صاف گردید، مقادیر آمونیم و نیترات موجود در این عصاره‌ها به روش اسپکتروفتومتری (آمونیم در طول موج ۶۳۰ نانومتر و نیترات در طول موج ۴۱۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر) اندازه‌گیری گردید (۲) و معدنی شدن نیتروژن با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$N_{\min}(\text{mgN/kg}) = \frac{[(\text{NO}_3^- - \text{N}) + (\text{NH}_4^+ - \text{N})]_a}{[(\text{NO}_3^- - \text{N}) + (\text{NH}_4^+ - \text{N})]_b} \quad [5]$$

که در آن $[(\text{NO}_3^- - \text{N}) + (\text{NH}_4^+ - \text{N})]_a$ مقادیر نیترات و آمونیم تیمارهای کودی در هر زمان اندازه‌گیری و $[(\text{NO}_3^- - \text{N}) + (\text{NH}_4^+ - \text{N})]_b$ مقادیر نیترات و آمونیم تیمار شاهد در همان زمان‌ها و N_{\min} کل نیتروژن معدنی شده است (۳) با محاسبه نیتروژن معدنی شده به صورت تجمعی، نمودارهای مربوط به کمپوست، ورمی‌کمپوست و کود دامی در شرایط مختلف دمایی و رطوبتی و با استفاده از نرم‌افزار Excell و Curve Expert (V. 1.3) رسم شده و پس از برآزش معادلات سینتیکی (جدول ۱) ضرایب هم‌بستگی، خطای استاندارد و ضرایب معادلات مربوط محاسبه گردید.

تا 0.303 week^{-1} برآورد کردند که ترتیب مقدار معدنی شدن نیتروژن در تیمارها به صورت زیر بود:

خاک > کمپوست + خاک > کود دامی + خاک > لجن فاضلاب + خاک کمپل و همکاران (۸) حاصل ضرب N_0k در مدل‌های سینتیکی را سرعت بالقوه معدنی شدن نیتروژن نامیدند. اکثر محققان پیشنهاد کرده‌اند که حاصل ضرب N_0k نسبت به N_0 تنها، شاخص بهتری از قابلیت دسترسی نیتروژن در خاک می‌باشد، به عبارت دیگر N_0k معیاری از ظرفیت فراهمی نیتروژن خاک (Soil- N-Supplying Capacity) برای گیاه است (۶).

به دلیل تولید روز افزون زباله‌های شهری و از طرفی تضمین استفاده دراز مدت از کمپوست حاصل از زباله‌ها در کشاورزی و فضای سبز و هم‌چنین جایگزینی مناسب برای کود دامی به دلیل کمبود و گران بودن آن، بررسی خصوصیات کیفی کمپوست و ورمی‌کمپوست به مطالعات دقیق و همه‌جانبه نیاز دارد. این تحقیق اهداف زیر را دنبال می‌کند:

الف) مقایسه کیفیت کمپوست، ورمی‌کمپوست و کود دامی از لحاظ فراهمی نیتروژن برای گیاه
ب) برآزش مدل‌های سینتیکی با داده‌ها و انتخاب بهترین مدل
ت) تعیین بیشترین مقدار نیتروژن معدنی شده در طول انکوباسیون

مواد و روش‌ها

کودهای آلی مورد مطالعه در این آزمایش شامل کمپوست (حاصل از زباله شهری)، ورمی‌کمپوست (حاصل از کود دامی) و کود دامی (پوسیده) بودند که از شرکت تولید کود آلی شهرداری تبریز تهیه شدند. این کودها ابتدا هوا خشک شده و پس از خرد شدن به وسیله آسیاب از الک یک میلی‌متری عبور داده شدند تا از نظر اندازه ذرات وضعیت یک‌نواختی حاصل شود (۳). نمونه‌های ۵۰۰ گرمی از عمق ۱۵-۰ سانتی‌متری خاک مزرعه تحقیقاتی دانشگاه تبریز (ایستگاه تحقیقات خلعت‌پوشان) نمونه‌برداری گردیده و پس از عبور دادن از الک ۲ میلی‌متری با ۱۰ گرم (معادل ۵۰ تن در هکتار) از کودهای آلی مورد مطالعه،

جدول ۱. مدل‌های سینتیکی برازش یافته به داده‌ها

شماره	مدل	معادله	منبع
۱	مرتبه صفر (خطی)	$N_{min} = b_0 + k_0 t$	Addiscott(1983)
۲	نمایی	$N_{min} = N_0 e^{kt}$	Ringuelet and Bachmeire (2002)
۳	لگاریتمی	$N_{min} = N_0 + k \ln(t)$	Marion and Black(1987)
۴	توانی	$N_{min} = N_0 t^k$	Broadbent (1988)
۵	مرتبه اول	$N_{min} = N_0 [1 - e^{-kt}]$	Stanford and smith(1972)
۶	سه‌موی	$N_{min} = N_0 t / (k N_0 + t)$	Juma et al. (1984)
۷	مدل گمپرتز	$N_{min} = N_0 e^{-\text{hexp}(-kt)} - N_0 e^{-h}$	Simard and Ndayegamiye (1993)
۸	مدل مرتبه صفر - مرتبه اول	$N_{min} = N_0 [1 - e^{-kt}] + pt$	Bonde and Rosswall(1987)
۹	مدل الویج	$N_{min} = (1/k) \ln(N_0/k) \ln t$	Sparks (1988)

نتایج و بحث

خصوصیات مهم خاک مورد آزمایش در جدول ۲ نشان داده شده است. این خاک غیر شور، دارای بافت لوم شنی بوده، مقدار آمونیم قابل دسترس خاک بیشتر از مقدار نترات آن است که به نظر می‌رسد نیتروفیکاسیون نسبت به آمونیفیکاسیون در خاک هوا خشک شده کمتر بوده است. شمارش جمعیت میکروبی خاک به روش محتمل‌ترین تعداد (MPN) نشان داد که حداکثر تعداد میکروب $6/55 \times 10^7$ و حداقل آن $2/99 \times 10^6$ می‌باشد و بین این دو حد محتمل‌ترین تعداد $1/4 \times 10^7$ در هر گرم خاک می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه کودهای مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است. چنانچه ملاحظه می‌شود بیشترین مقدار نیتروژن مربوط به کود دامی و کمترین مقدار مربوط به کود کمپوست است. هم‌چنین نسبت C/N کمپوست کمتر از کود دامی و ورمی‌کمپوست حاصل شد که به نظر می‌رسد کمپوست یک مرحله تجزیه را نسبت به دیگر کودهای آلی طی کرده که سبب کاهش نسبت C/N و به تبع آن افزایش مقدار آمونیم در کمپوست شده است. مقدار نترات کمپوست نسبت به دو کود دیگر کمتر است که به نظر می‌رسد کمپوست در مرحله رسیدگی یک مرحله گرمایی ناشی از فعل و انفعالات میکروارگانیسم‌های گرمادوست (۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد) را طی کرده که در این دما نیتروفیکاتورها قادر به فعالیت نبودند (۴ و ۲۳).

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۴) که اثر نوع کود، دما و زمان انکوباسیون در سطح احتمال ۰/۱ درصد بر سرعت نیتروفیکاسیون و آمونیفیکاسیون معنی‌دار است. بدین ترتیب که در فرایند نیتروفیکاسیون اثر متقابل کود \times دما، کود \times رطوبت و دما \times رطوبت به ترتیب در سطوح ۰/۱، ۱ و ۵ درصد و در فرایند آمونیفیکاسیون، اثر متقابل تیمارهای ذکر شده به ترتیب در سطوح ۰/۱، ۵ و ۵ درصد معنی‌دار بوده است. مدل‌های سینتیکی ذکر شده در جدول ۱ برای داده‌های نیتروژن معدنی شده برازش یافته و پارامترهای موجود در مدل و ضرایب هم‌بستگی آنها محاسبه شد. مدل‌هایی که دارای ضریب هم‌بستگی بیشتر و خطای استاندارد کمتر بوده شامل سه مدل سینتیکی زیر می‌باشند:

۱- مدل سینتیکی مرتبه اول $N_{min} = N_0 [1 - e^{-kt}]$

۲- مدل گمپرتز (Gompertz model) $N_{min} = N_0 e^{-\text{hexp}(-kt)} - N_0 e^{-h}$

۳- مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر - مرتبه اول $N_{min} = N_0 [1 - e^{-kt}] + pt$

پارامترهای مربوط به این سه مدل محاسبه شده و در جداول (۵، ۶ و ۷) ارائه شده‌اند. کل نیتروژن معدنی شده در دامنه‌ای بین ۲۰/۶ میلی‌گرم در کیلوگرم برای کمپوست تا ۹۸/۷۹ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم برای کود دامی حاصل شد. مقادیر N_0 به دست آمده از مدل سینتیکی مرتبه اول بین ۲۰/۶۶ تا ۹۸/۹۳ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم بوده که به ترتیب N_0 کود

جدول ۲. نتایج تجزیه فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیک خاک مورد آزمایش (۲ و ۱۶)

مقادیر	مقادیر	مقادیر	مقادیر
۸/۴۸۱	آمونیم اولیه (mgN/kg)	۱/۴×۱۰ ^۷	MPN
۰/۰۳۵	نیتروژن کل (%)	۱۳/۵۲	رطوبت FC (%)
۸/۸۹	کربنات کلسیم معادل (%)	۷/۴	pH (گل اشباع)
۰/۳۹۸	کربن آلی (%)	۱۱/۹۴	CEC (me/۱۰۰g)
۱۹/۵	رس (%)	۲/۳	EC _e (mS/cm)
۱۶/۵	سیلت (%)	۱۱/۳۴	نسبت C:N
۶۴	شن (%)	۱/۸۲۳	نترات اولیه (mgN/kg)

*: تعداد کل میکروبها در یک گرم خاک

جدول ۳. نتایج تجزیه فیزیکی و شیمیایی کودهای آلی مورد آزمایش (۲ و ۱۶)

کود دامی	ورمی کمپوست	کمپوست	خصوصیات
۲۵/۳۹	۲۲/۰۲	۱۲/۱۶	کربن آلی (درصد)
۲/۱۸۵	۱/۶۷۸	۱/۵۵۱	نیتروژن کل (درصد)
۲۰/۸۱۲	۱۹/۷۴۳	۲۵/۵۲۳	آمونیم اولیه (mgN/kg)
۹۱/۲۵۱	۳۰/۹۵۱	۲/۶۷۱	نترات اولیه (mgN/kg)
۱۱/۴۸	۱۳/۱۲	۷/۸۵	C:N
۶۲/۵	۸/۹	۱۶/۴	EC _e (mS/cm) (نسبت ۱:۲، آب: کود)
۸/۱	۸/۰	۷/۸	pH (نسبت ۱:۲، آب: کود)
۱۲/۹۳	۴/۵۱	۱/۴۱	رطوبت هوا خشک (درصد وزنی)

جدول ۴. تجزیه واریانس مقادیر نترات و آمونیم اندازه گیری شده

میانگین مربعات		درجه	منابع تغییرات	میانگین مربعات		درجه	منابع تغییرات
نیتروفیکاسیون آمونیفیکاسیون		آزادی		نیتروفیکاسیون آمونیفیکاسیون		آزادی	
۰/۱۸۸***	۰/۹۰۷***	۲۷	کود × زمان	۰/۰۱۷	۰/۰۰۷	۲	تکرار
۰/۱۷۷***	۱/۷۵۶***	۹	دما × زمان	۱/۵۷۱***	۱۲/۵۴۸ ^{xxx}	۳	کودهای آلی
۰/۰۵۰***	۰/۲۸۴***	۲۷	کود × دما × زمان	۰/۰۰۰	۳/۵۲۴***	۱	دما
۰/۰۶۷***	۰/۲۱۰**	۹	رطوبت × زمان	۰/۰۷۰***	۰/۵۶۴***	۳	کود × دما
۰/۰۲۸***	۰/۰۸۹ ^{n.s}	۲۷	کود × رطوبت × زمان	۰/۰۰۰	۰/۰۸۲ ^{n.s}	۱	رطوبت
۰/۰۰۸	۰/۰۳۷	۹	دما × رطوبت × زمان	۰/۰۲۵*	۰/۳۲۸**	۳	کود × رطوبت
۰/۰۱۹	۰/۰۵۵	۲۷	کود × دما × رطوبت × زمان	۰/۰۴۷*	۰/۲۹۶*	۱	دما × رطوبت
۰/۰۰۹	۰/۰۷۴	۳۱۸	خطا	۰/۰۶۱**	۰/۰۶۹**	۳	کود × دما × رطوبت
		۴۷۹	کل	۱/۵۵۹***	۴/۶۲۲***	۹	زمان

n.s, *, **, و ***: به ترتیب بیانگر غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۰.۵٪، معنی دار در سطح ۱٪ و معنی دار در سطح ۰.۱٪.

جدول ۵. فاکتورهای محاسبه معدنی شدن نیتروژن با مدل $N_{min}=N_0[1-e^{-kt}]$

SE	$T_{1/2}$ (day)	r	N_0k mg/(kg day)	k (day ⁻¹)	N_0 (mg/kg)	N_{min} (mg/kg)	تیمارها		
							رطوبت (FC%)	دما (°C)	کودهای آلی
۰/۱۴	۸/۰۶	۰/۹۸۹	۲/۳۷۵	۰/۰۸۶	۲۷/۴۶	۲۷/۴۰	۵۰	۸	کمپوست
۰/۲۸	۸/۹	۰/۹۷۸	۳/۱۳۶	۰/۰۷۸	۳۹/۸۵	۳۹/۸۰	۸۵	۲۵	
۰/۲۳	۶/۳	۰/۹۶۰	۲/۳۷۶	۰/۱۱۵	۲۰/۶۶	۲۰/۶۰	۵۰	۸۵	
۰/۶۵	۴/۹۵	۰/۸۴۰	۶/۱۸۷	۰/۱۴۴	۴۲/۹۷	۴۲/۹۰	۸۵	۵۰	
۰/۳۳	۱۵/۸	۰/۹۸۳	۱/۸۶۴	۰/۰۴۴	۴۱/۹۸	۴۱/۲۰	۵۰	۸	ورمی کمپوست
۰/۲۱	۱۵/۸	۰/۹۹۳	۲/۰۹۱	۰/۰۴۴	۴۷/۱۰	۴۶/۲۳	۸۵	۲۵	
۰/۵۳	۷/۷	۰/۹۴۷	۴/۸۸	۰/۰۹۳	۵۲/۲۵	۵۲/۱۰	۵۰	۸۵	
۰/۶۵	۱۱/۶	۰/۹۲۸	۳/۷۵	۰/۰۶۸	۵۴/۹۹	۵۴/۷۹	۸۵	۵۰	
۰/۵۰	۱۵/۵	۰/۹۸۳	۳/۶۱	۰/۰۴۷	۷۵/۸۸	۷۴/۸۲	۵۰	۸	کود دامی
۰/۶۷	۱۲/۷	۰/۹۶۷	۳/۸۹	۰/۰۵۵	۷۰/۷۹	۷۰/۲۵	۸۵	۲۵	
۱/۱۰	۸/۲	۰/۹۵۴	۸/۵۲	۰/۰۸۶	۹۸/۹۳	۹۸/۷۹	۵۰	۸۵	
۱/۳۱	۴/۷	۰/۸۸۹	۱۱/۹۸	۰/۱۵۸	۷۵/۹۵	۷۵/۸۸	۸۵	۵۰	

N_0 مقدار نیتروژن قابل معدنی شدن بالقوه برحسب میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم، k ثابت سرعت معدنی شدن بر حسب (day^{-1}) ، N_0k به عنوان سرعت بالقوه اولیه معدنی شدن نیتروژن بر حسب میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم در روز، h ؛ ثابت تناسب در مدل گمپرتز، r ضریب هم‌بستگی، p ثابت معدنی شدن مدل سینتیکی مرتبه صفر بر حسب میلی گرم نیتروژن بر کیلوگرم در روز، $T_{1/2}$ زمان مربوط به نیمه عمر ($T_{1/2}=0.693/k$) و SE خطای استاندارد مدل.

ورمی کمپوست < کمپوست بود. ثابت سرعت (مرتبه اول) نیز در دامنه‌ای بین ۰/۰۲۵ تا ۰/۰۶۵ (day^{-1}) و شاخص N_0k در دامنه‌ای بین ۲/۰۸ تا ۲۱/۰۶ میلی گرم در کیلوگرم در روز و ثابت معدنی شدن مدل مرتبه صفر (p) در دامنه‌ای بین ۰/۰۵۸ تا ۰/۲۹۵ ($\text{mgkg}^{-1}\text{day}^{-1}$) به دست آمد. بیشترین مقدار N_{min} برای کود دامی (۸۷/۷۸ میلی گرم بر کیلوگرم) به دست آمد و بیشترین مقدار شاخص N_0k یا قابلیت دسترسی نیتروژن برای کود دامی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد (۲۱/۰۶ میلی گرم بر کیلوگرم در روز) حاصل شد. با توجه به نتایج فوق، مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر-مرتبه اول نسبت به مدل‌های دیگر بهتر برازش یافته و دارای ضریب هم‌بستگی بیشتر و خطای استاندارد کمتری بود. هم‌بستگی خطی (پیرسن) (Pearson) بین فاکتورهای معدنی شدن نیتروژن در مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر-مرتبه اول (بهترین مدل برازش یافته) در جدول ۸ آورده شده است. مقدار نیتروژن معدنی شده (N_{min}) با نیتروژن قابل معدنی شدن

دامی < N_0 ورمی کمپوست < N_0 کمپوست بودند. ثابت سرعت (k) در دامنه‌ای بین ۰/۰۴۴ تا ۰/۱۵۸ (day^{-1}) به دست آمد (جدول ۵). در مدل گمپرتز، مقادیر k دامنه‌ای بین ۰/۰۴۶ تا ۰/۱۶۹ (day^{-1}) داشت ولی N_0 محاسبه شده با این مدل بیشتر از N_0 مدل مرتبه اول تخمین زده شد، که دامنه‌ای بین ۱۰۶/۴۲ تا ۱۰۶/۴۲ میلی گرم در کیلوگرم برای تیمار کمپوست در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد تا ۵۷/۵۷/۸ میلی گرم در کیلوگرم برای تیمار کود دامی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دست آمد. شاخص N_0k نیز بین ۹/۰۵ تا ۹۷۳/۱ میلی گرم در کیلوگرم در روز برای تیمار کمپوست تا ۹۷۳/۱ میلی گرم در کیلوگرم در روز برای تیمار کود دامی به دست آمد (جدول ۶). ضریب تناسب (h) دامنه‌ای بین ۰/۰۱۲ تا ۰/۱۴۵ داشت. در مدل ترکیب مرتبه صفر-مرتبه اول (جدول ۷)، مقدار N_0 دامنه‌ای بین ۱۶/۸۹ تا ۶۳/۲۳ میلی گرم در کیلوگرم به دست آمد که برای سه تیمار به کار رفته مقادیر N_0 به ترتیب کود دامی <

جدول ۶. فاکتورهای محاسبه معدنی شدن نیتروژن با مدل $N_{min}=N_0e^{-hexp(-kt)}-N_0e^{-h}$

SE	$T_{1/2}$ (day)	r	h	N_0k mg/(kg day)	k (day ⁻¹)	N_0 (mg/kg)	N_{min} (mg/kg)	تیمارها		
								رطوبت (FC%)	دما (°C)	کودهای آلی
۱/۸	۷/۳	۰/۹۸۸	۰/۲۹۷	۱۰/۱۱	۰/۰۹۵	۱۰۶/۴۲	۲۷/۳۲	۵۰	۸	
۳/۱	۸/۸	۰/۹۷۷	۰/۱۴۵	۲۴/۵۱	۰/۰۸۳	۲۹۵/۳۲	۳۹/۷۵	۸۵		کمپوست
۲/۰	۶/۱	۰/۹۶۱	۰/۰۱۶	۹/۰۵	۰/۱۱۵	۱۳۲۳/۳	۲۰/۶۲	۵۰	۲۵	
۷/۴	۹/۷	۰/۸۵۵	۰/۰۷۲	۹۰/۰۹	۰/۱۴۵	۶۲۱/۳۵	۴۲/۹۵	۸۵		
۲/۹	۱۴/۳	۰/۹۸۸	۰/۰۵۴	۴۰/۲۸	۰/۰۴۹	۸۲۲/۱۱	۴۲/۵۱	۵۰	۸	
۲/۱	۱۳/۹	۰/۹۹۴	۰/۰۴۳	۵۲/۹۵	۰/۰۴۶	۱۱۵۱/۱۸	۴۶/۶۷	۸۵		ورمی کمپوست
۵/۷	۷/۲	۰/۹۵۰	۰/۰۹۸	۵۴/۳۸	۰/۰۹۷	۵۶۰/۶۲	۵۲/۰۳	۵۰	۲۵	
۶/۸	۹/۱	۰/۹۲۰	۰/۰۱۵	۲۷۳/۷	۰/۰۷۷	۳۹۱۰/۲	۵۷/۳۹	۸۵		
۵/۶	۱۳/۷	۰/۹۸۹	۰/۰۳۸	۱۱۵/۶۲	۰/۰۵۸	۱۹۹۳/۴۵	۷۴/۹۱	۵۰	۸	
۷/۴	۱۲/۶	۰/۹۶۱	۰/۰۲۳	۱۶۹/۰۸	۰/۰۵۵	۳۰۷۴/۲۳	۷۰/۲۵	۸۵		کود دامی
۱۱/۹	۷/۹	۰/۹۴۱	۰/۰۹۵	۹۵/۵۸	۰/۰۸۶	۱۰۸۶/۱	۹۸/۸۵	۵۰	۲۵	
۱۴/۲	۴/۵	۰/۹۲۱	۰/۰۱۲	۹۷۳/۱	۰/۱۶۹	۵۷۵۷/۸	۷۵/۸۴	۸۵		

جدول ۷. فاکتورهای محاسبه معدنی شدن نیتروژن با مدل $N_{min}=N_0[1-e^{-kt}]+pt$

SE	$T_{1/2}$ (day)	r	p mg/(kg.day)	N_0k mg/(kg.day)	k (day ⁻¹)	N_0 (mg/kg)	N_{min} (mg/kg)	تیمارها		
								رطوبت (FC%)	دما (°C)	کودهای آلی
۰/۱۷۸	۱۲/۳۸	۰/۹۸۸	۰/۰۵۹	۲/۸۹	۰/۰۵۶	۲۵/۱۱	۳۰/۲۶	۵۰	۸	
۰/۴۲۵	۱۷/۷۷	۰/۹۸۶	۰/۱۰۱	۴/۰۹	۰/۰۳۹	۲۹/۲۶	۳۷/۴۷	۸۵		کمپوست
۰/۳۸۳	۱۰/۶۷	۰/۹۷۸	۰/۰۵۸	۲/۰۸	۰/۰۶۵	۱۶/۸۹	۲۲/۶۲	۵۰	۲۵	
۰/۳۰۹	۱۶/۱۲	۰/۹۷۳	۰/۱۲۳	۳/۹۷	۰/۰۴۳	۲۴/۳۱	۳۴/۸۴	۸۵		
۰/۳۱۴	۱۵/۷۵	۰/۹۷۱	۰/۱۲۱	۶/۸۶	۰/۰۴۴	۴۱/۵۳	۵۱/۵۶	۵۰	۸	
۰/۳۶۸	۲۲/۳۶	۰/۹۹۳	۰/۱۰۸	۵/۷۴	۰/۰۳۱	۴۱/۲۳	۴۸/۲۸	۸۵		ورمی کمپوست
۰/۳۶۵	۱۶/۵۰	۰/۹۹۴	۰/۱۶۹	۶/۹۲	۰/۰۴۲	۳۲/۷۸	۴۷/۲۲	۵۰	۲۵	
۰/۷۶۱	۲۱/۶۶	۰/۹۹۱	۰/۲۰۵	۷/۷۵	۰/۰۳۲	۳۲/۶۹	۴۹/۳۴	۸۵		
۰/۳۹۵	۲۱/۶۶	۰/۹۸۱	۰/۲۱۶	۱۳/۶۴	۰/۰۳۲	۵۴/۹۷	۷۱/۵۱	۵۰	۸	
۰/۹۵۲	۲۷/۷۲	۰/۹۷۵	۰/۱۹۹	۹/۹۸	۰/۰۲۵	۴۴/۵۶	۵۸/۰۹	۸۵		کود دامی
۱/۳۶۷	۱۸/۲۴	۰/۹۷۷	۰/۲۹۵	۲۱/۰۶	۰/۰۳۸	۶۳/۲۳	۸۷/۷۸	۵۰	۲۵	
۱/۰۳	۲۶/۶۶	۰/۹۷۶	۰/۲۵۸	۱۰/۹۵	۰/۰۲۶	۳۸/۵۲	۵۷/۴۰	۸۵		

جدول ۸. ضرایب هم‌بستگی (Pearson) بین فاکتورهای معدنی شدن نیتروژن محاسبه شده مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر - مرتبه اول

							۱/۰۰۰	N_{min}
						۱/۰۰۰	۰/۵۸۳*	N_0
					۱/۰۰۰	-۰/۲۹۸	۰/۵۰۵	k
				۱/۰۰۰	۰/۸۶۷**	-۰/۰۹۸	۰/۷۵۱**	p
		۱/۰۰۰	۰/۸۷۹**	۰/۸۶۳**	۰/۱۸۳	۰/۸۳۴**	۰/۸۳۴**	N_0k
	۱/۰۰۰	-۰/۰۶۶	-۰/۳۰۶	-۰/۳۰۴	۰/۵۷۴	-۰/۱۳۵	-۰/۱۳۵	C/N
	۱/۰۰۰	-۰/۲۴۲	۰/۶۴۹*	۰/۴۹۹	۰/۵۰۶	۰/۳۶۶	۰/۶۳۹*	N کل %
۱/۰۰۰	۰/۵۵۳	۰/۵۴۳	۰/۴۶۸	۰/۱۶۳	۰/۰۴۲	۰/۹۲۳**	۰/۷۴۴**	C کل %
C کل %	N کل %	C/N	N_0k	p	k	N_0	N_{min}	ضرایب

بارباریکا و همکاران (۵) با بررسی عوامل موثر بر معدنی شدن نیتروژن در خاک‌های تیمار شده با لجن فاضلاب نشان دادند که عواملی نظیر درصد نیتروژن کود، دما و طول دوره انکوباسیون با سرعت معدنی شدن نیتروژن هم‌بستگی مثبت و با نسبت کربن به نیتروژن خاک و کود هم‌بستگی منفی دارد. جدیدی و همکاران (۱۰) اظهار نمودند که فرایندهای معدنی شدن و غیرمتحرک (آلی) شدن نیتروژن به طبیعت مواد آلی، درجه پایداری و مقدار نیتروژن آنها بستگی دارد.

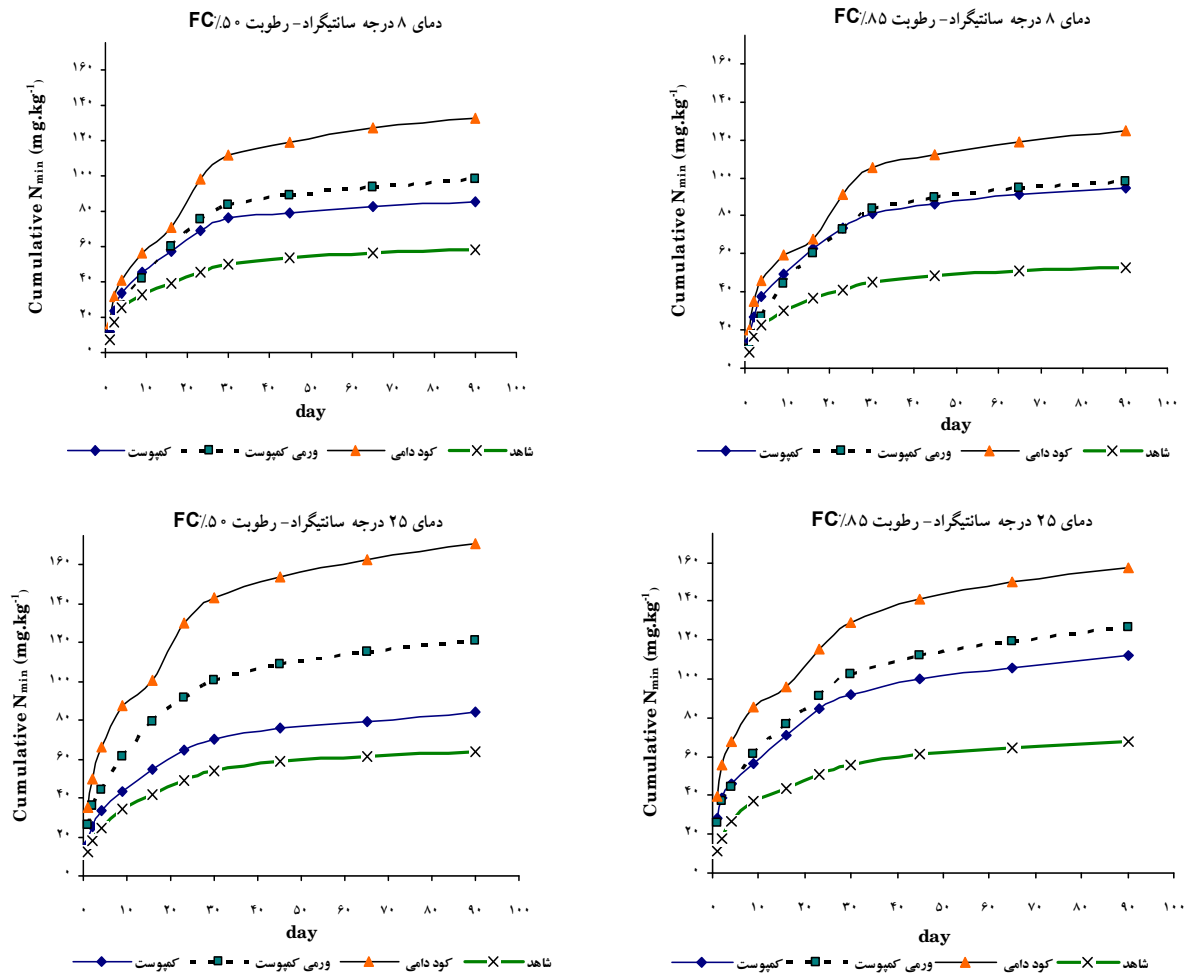
نمودار معدنی شدن تجمعی نیتروژن در تیمارهای مختلف نیز نشان می‌دهد (شکل ۱) که مقادیر نیتروژن معدنی شده به ترتیب مربوط به تیمارهای کود دامی، ورمی‌کمپوست و کمپوست می‌باشد که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مقادیر بیشتر را نسبت به دمای ۸ درجه سانتی‌گراد نشان دادند. در ۳۰ روز اول انکوباسیون شیب منحنی زیاد بوده که بیشترین مقدار معدنی شدن در این مدت رخ داده است.

در آزمایش حاضر بیشترین مقدار نیتروژن معدنی شده برای تیمار کود دامی معادل ۱۴/۵۴ درصد نیتروژن کل و کمترین مقدار معادل ۴/۶۲ درصد نیتروژن کل برای تیمار کمپوست، برای تیمار ورمی‌کمپوست مقدار نیتروژن معدنی شده معادل ۹/۸۳ درصد نیتروژن کل حاصل شد که این محاسبه، فرضیه کمتر بودن تجزیه‌پذیری کود کمپوست را تقویت می‌کند. مقدار کل نیتروژن نیز در کمپوست کمتر از دو کود آلی دیگر بود (جدول ۳). چون کود کمپوست قبل از افزوده شدن به خاک مراحل مقدماتی تجزیه

بالقوه (N_0) ($r=0/583^*$)، با سرعت معدنی شدن بالقوه اولیه (N_0k) ($r=0/834^{**}$) و هم‌چنین کربن کل اولیه ($r=0/744^{**}$) و نیتروژن آلی اولیه ($r=0/693^*$) هم‌بستگی داشت.

در آزمایشی که توسط اسبیا و همکاران (۱۸) در مورد تعیین مقدار کل نیتروژن معدنی شده (N_{min}) در خاک‌هایی که با کود دامی تیمار شده و در مدت ۵۶ هفته در رطوبت ۸۵٪ ظرفیت مزرعه‌ای انکوبه شدند مقدار آن بین ۸۸ تا ۲۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم تعیین کردند. و ثابت سرعت نیز در دامنه‌ای بین ۰/۳۲ تا ۰/۸۸ (day^{-1}) به دست آوردند. هم‌چنین این محققان نشان دادند که معدنی شدن نیتروژن (N_{min}) با معدنی شدن کربن ($r=0/79^{***}$) N_0 ($r=0/90^{***}$)، k ($r=0/42^{**}$)، نیتروژن کل ($r=0/74^{***}$) و کربن کل ($r=0/77^{**}$) هم‌بستگی دارد و با درصد شن هم‌بستگی منفی ($r=-0/71^{**}$) و با درصد سیلت ($r=0/72^{***}$) و درصد رس ($r=0/63^{**}$) هم‌بستگی مثبت نشان داد.

رینگبولت و بچمیز (۱۷) برای مدل سینتیکی ترکیب مرتبه صفر - مرتبه اول مقادیر N_0 را بین ۲۰ تا ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و مقادیر k را بین ۰/۳۹ تا ۰/۱۵۷ (day^{-1})، مقدار p را در دامنه‌ای بین ۰/۱۵ تا ۰/۵۷ ($mgkg^{-1}day^{-1}$) و نیتروژن معدنی شده برای خاک را بین ۴۴ تا ۱۸۷ میلی‌گرم در کیلوگرم به دست آوردند. سیمارد و اندیگامی (۲۰) مدل گمپرتز را برای خاک‌های مرتعی استفاده کردند و N_0 را در دامنه ۱۲۹ تا ۱۰۹۸ میلی‌گرم در کیلوگرم برآورد کردند و ثابت تناسب (h) را نیز در دامنه‌ای بین ۲/۱۲ تا ۷/۷۷ به دست آوردند.



شکل ۱. مقادیر تجمعی معدنی شدن نیتروژن در طول انکوباسیون برای همه تیمارها

سینتیک ترکیب مرتبه صفر - مرتبه اول می‌باشد. تیمارهای کودی دمای ۸ درجه سانتی گراد برازش بهتری نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نشان دادند. N_{0k} که معیاری از کیفیت و مرغوبیت ماده آلی می‌باشد برای کود دامی بیشترین مقدار را نشان داد که به نظر می‌رسد به دلیل نیتروژن آلی بالاتر در آن نسبت به بقیه کودهای آلی به کار رفته می‌باشد، با توجه به این که تحقیق حاضر نشان داد که سرعت معدنی شدن نیتروژن در کمپوست کمتر است و نمی‌تواند همانند کود دامی در تأمین نیتروژن گیاه، عمل کند لذا پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده مقدار کمی کود شیمیایی نیتروژن برای غنی‌سازی کمپوست و یا روش‌های دیگر برای بهینه‌سازی تهیه کمپوست حاصل از زباله شهری مورد بررسی قرار گیرد.

را در زمان کمپوست شدن طی کرده است، به نظر می‌رسد بخش قابل توجهی از نیتروژن قابل معدنی شدن آن پیش از اضافه شدن به خاک معدنی شده است و لذا نیتروژن آلی باقی مانده در کمپوست پس از افزوده شدن به خاک با سرعت کمتری معدنی می‌شود، لذا اگر چه نسبت کربن به نیتروژن کود کمپوست کمتر از ورمی کمپوست و کود دامی است، ولی ترکیبات آلی پایدارتر و مقاوم‌تر آلی که نیتروژن را در بر گرفته است، مانع از آزاد شدن سریع نیتروژن می‌گردد (۱). تحقیقات بالکوم و همکاران (۴) و توریس و همکاران (۲۳) این نتایج را نیز تأیید می‌کند.

نتیجه گیری

بهترین مدل برازش یافته با داده‌های معدنی شدن نیتروژن، مدل

منابع مورد استفاده

۱. نوربخش، ف. ۱۳۸۲. اثر مقادیر مختلف لجن فاضلاب بر معدنی شدن خالص نیتروژن در خاک. آب و فاضلاب ۴۸: ۳۳-۳۸.
2. Addiscott, T.M. 1983. Kinetics and temperature relationships of mineralization and nitrification in Rothamsted soils with differing histories. *Soil Sci.* 34: 343-353.
3. Alef, K. and P. Nannipieri 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press., Harcourt Brace and Company Pub., London.
4. Balkcom, K.S., J.F. Adams, D.L. Hartzog and C.W. Woodm. 2001. Mineralization of composted municipal sludge under field conditions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 32: 1589-1605.
5. Barbarika, A., L.J. Sikara and D. Colacicco. 1985. Factors affecting the mineralization of nitrogen in sewage sludge applied to soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 49: 1403-1410.
6. Benbi, D. K. and J. Richter. 2002. A critical review of some approaches to modeling nitrogen mineralization. *Biol. Fertil. Soils* 35:168-183.
7. Bonde, T.A. and T. Rosswall. 1987. Seasonal variation of potentially mineralizable nitrogen in four cropping systems. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 15: 1508-1514
8. Campbell, C.A., G.P. Lafond, A.J. Leyshon, R.P.Zentner and H.H. Janzen. 1991. Effect of cropping practices on the initial potential rate of nitrogen mineralization in a thin black chernozem. *Can. J. Soil Sci.* 71: 43-53.
9. Hassen, A., N. Jedidi, M. Cherif, A. Mhiri, A. Boudabous and O. Van Cleemput. 1998. Mineralization of nitrogen in a clayey loamy soil amended with organic wastes enriched with Zn, Cu and Cd. *Biores. Technol.* 64: 39-45.
10. Jadidi, N., O.V. Cleemput, M.A. Hiri and O. Van Cleemput. 1995. Quantification of nitrogen mineralization and immobilization in soil in the presence of organic amendments. *Can. J. Soil Sci.* 75: 85-91.
11. Juma, N.G., E.A. Paul and B. Mary. 1984. Kinetic analysis of net nitrogen mineralization in soil. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 48: 753-757.
12. Kumar, K., C. J. Rosen and S. C. Gupta 2002. Kinetics of nitrogen mineralization in soils amended with sugar beet processing by-products. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 33: 3635-3651.
13. Lindemann W. C. and M. Cardenas. 1984. Nitrogen mineralization potential and nitrogen transformations of sludge-amended soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 50: 325-326.
14. Marion, G.M. and C.H. Black. 1987. The effect of time and temperature on nitrogen mineralization in Arctic Tundra soils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* 51: 1501-1508.
15. Mary, B., N. Beaudion, E. Justes and J.M. Machet. 1999. Calculation of nitrogen mineralization and leaching in fallow soils using simple dynamic model. *Eur. J. Soil Sci.* 50: 549-566.
16. Page, A.L., R.H. Miller and D.R. Keeney. 1982. *Methods of Soil Analysis. Part 2, Chemical and Microbiological Properties.* 2nd edition., Madison, Wisconsin. USA.
17. Ringuet, A. and O.A. Bachmeier. 2002. Kinetics of soil nitrogen mineralization in soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33: 3703-3721.
18. Sbih, M., A. N'Dayegamiye and A. Karam. 2003. Evaluation of carbon and nitrogen mineralization rates in meadow soils from dairy farms under transit to biological cropping systems. *Can. J. Soil Sci.* 83: 25-33.
19. Shukla, S., S. Mostaghimi and J. A. Burger. 2000. Laboratory measurements and modeling nitrogen mineralization potential in Virginia Coastal plain agricultural, fallow and forest soils. *Amer. Soc. Agric. Engin.* 43: 315-325.
20. Simard, R.R. and A. N'Dayegamiye. 1993. Nitrogen mineralization potential of meadow soils. *Can. J. Soil Sci.* 73: 27-38.
21. Sparks, D. L. 1988. *Kinetics of Soil Chemical Process.* Academic Press, INC.
22. Stanford, G. and S. J. Smith. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 36: 465-472.
23. Thuries, L., M. Pansu, C. Feller, J.C. Herrmann and J.C. Remy. 2001. Kinetics of added organic matter decomposition in a Mediterranean sandy soil. *Soil Biol. Biochem.* 33: 997-1010.