

## پیامد روش جداسازی خاکدانه بر الگوی توزیع خاکدانه‌ای اوره‌آز در خاک

صفورا ناهیدان<sup>۱</sup>، فرشید نوربخش<sup>۲</sup>

۱ و ۲- به ترتیب استادیار گروه خاکشناسی دانشگاه بوعلی سینای همدان و

استاد گروه خاکشناسی دانشگاه صنعتی اصفهان

### چکیده

این پژوهش با هدف بررسی تاثیر روش جداسازی خاکدانه بر فعالیت آنزیم‌های درون خاکدانه‌ای انجام گرفت. بدین منظور جداسازی خاکدانه‌ها با دو روش الک تر و خشک انجام گرفت و فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاکدانه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در روش الک تر درصد ریز خاکدانه‌ها بیشتر از درشت خاکدانه‌ها هستند و در روش الک خشک عکس چنین الگویی مشاهده گردید. فعالیت اوره‌آز در درشت خاکدانه‌های بدست آمده با روش الک تر بیشتر از الک خشک بودند در حالی که در روش الک خشک یا تفاوت معنی‌داری بین خاکدانه‌های ۴-۰/۲۵ میلی‌متر وجود نداشت و یا در ریزخاکدانه‌ها بیشتر بود. درصد بازیابی آنزیم اوره‌آز نیز در روش الک تر کمتر از روش الک خشک دیده شد. بنابراین انتخاب روش جداسازی خاکدانه به منظور مطالعه آنزیم‌های درون خاکدانه‌ای می‌بایست مورد توجه قرار گیرد. واژه‌های کلیدی: الک تر، الک خشک، آنزیم اوره‌آز

### مقدمه

ساختمان خاک یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد خاک‌ها محسوب می‌شود. خاکدانه‌ها جزء تشکیل‌دهنده ساختمان خاک هستند. طرز آرایش خاکدانه‌ها در کنار یکدیگر منجر به ایجاد منافذ با اندازه‌های مختلف در خاک می‌شود. گزارش شده است که درشت‌خاکدانه‌ها منافذی به قطر  $25 \mu\text{m}$ ، در حالی که ریزخاکدانه‌ها منافذی به قطر  $6-0.2 \mu\text{m}$  ایجاد می‌کنند (Vargas and Hattori, 1986). چنین منافذی در درون و یا بین خاکدانه‌ها باعث توزیع متفاوت هوا، آب، عناصر غذایی و مواد آلی در خاک می‌شوند. بنابراین چنین انتظار می‌رود که ایجاد شرایط فیزیکی و شیمیایی متفاوت در مناطق مختلف خاک در اثر تشکیل خاکدانه‌ها بر توزیع جانداران خاکزی بسته به اندازه و نیازهای تغذیه‌ای منحصر به فردشان نیز تاثیر بگذارد (Hassink et al., 1993).

به منظور مطالعه خاکدانه‌ها، روش‌های متعددی برای جداسازی آن‌ها در اندازه‌های مختلف وجود دارد. از جمله این روش‌ها می‌توان به روش‌های الک تر و الک خشک اشاره کرد. روش الک تر که اولین بار توسط یدر در سال ۱۹۳۶ ایجاد گردید از مرسوم‌ترین روش‌هایی است که برای جداسازی خاکدانه‌ها و استفاده از آنها به منظور مطالعه جامعه میکروبی در سطح زیستگاه آنها استفاده شده است. در این روش خاکدانه‌های پایدار در آب در اثر تکان دادن عمودی خاک بر روی سری الک‌ها با اندازه‌های مختلف در درون آب جمع‌آوری می‌شوند. در روش الک خشک خاکدانه‌ها تنها با استفاده از تکان دادن شدید خاک هوا-خشک بر روی سری الک‌ها در غیاب آب جداسازی خواهند شد (Yoder, 1936). واضح است که انرژی وارد شده به خاک در این دو روش متفاوت بوده و در نتیجه مستقیماً بر مقدار خاکدانه‌های پایدار بدست آمده تاثیر خواهند گذاشت. از طرف دیگر حرکت آب در روش الک تر ممکن است منجر به جابجایی عناصر و ریزجانداران بین خاکدانه‌ها گردد. بنابراین چنین انتظار می‌رود که دو روش جداسازی خاکدانه آثار مستقیمی بر جامعه میکروبی درون آنها بگذارد (Blaud et al., 2017).

مطالعات اندکی در رابطه با تاثیر روش الک تر و خشک بر جداسازی خاکدانه‌ها صورت گرفته است و اکثر مطالعات نیز در ارتباط با تاثیر روش الک کردن بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک انجام گرفته است. این مطالعات نشان داده‌اند که الک خشک باعث باقی ماندن خاکدانه‌های بزرگ شده در حالی که در اثر الک تر خاکدانه‌های کوچک (پایدار در آب) باقی می‌مانند.

مانند. الک تر منجر به کاهش کربن و نیتروژن در خاکدانه های کوچکتر از ۲۵۰ میکرون در مقایسه با الک خشک می شود (Ashman et al., 2003). سیچ و بیچامپ (۱۹۸۸) عنوان کردند که الک تر منجر به تخمین نادرست ذخایر کربن و نیتروژن خاک می شود. سانجو (۲۰۰۶) نشان داد که روش الک تر در مقایسه با الک خشک منجر به کاهش نیتروژن توده زنده میکروبی می گردد در حالی که کربن زنده میکروبی بسته به نوع خاک کاهش یا افزایش می یابد. در مطالعه دیگری بیچ و هافموکل (۲۰۱۴) دریافتند که روش الک تر باعث افزایش فعالیت آنزیم های موثر در چرخه کربن می شود. با وجود چنین مطالعاتی هنوز دانسته ها در زمینه تاثیر روش های جداسازی خاکدانه بر فعالیت میکروبی درون خاکدانه ها اندک و نیازمند به بررسی بیشتری است. بنابراین مطالعه اخیر با هدف بررسی تاثیر روش الک تر و خشک بر جداسازی خاکدانه ها و الگوی تغییرات آنزیم اوره آز درون خاکدانه ها صورت گرفت. چنین فرض گردید که روش جداسازی خاکدانه بر الگوی توزیع فعالیت اوره آز درون خاکدانه ها متاثر است.

## مواد و روش ها

### نمونه برداری خاک

به منظور بررسی اهداف تحقیق، ۵ نوع خاک مرتعی با ویژگی های فیزیکی و شیمیایی متفاوت (جدول ۱) از منطقه فریدن استان اصفهان انتخاب گردید. نمونه برداری از عمق ۰-۱۰ سانتی متری در سه تکرار و به صورت مرکب انجام شد. نمونه های خاک ابتدا هواخشک و سپس از الک ۴ میلی متر عبور داده شدند.

جدول ۱. ویژگی های عمومی خاک های مورد مطالعه

| خاک | کربن آلی<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | نیتروژن کل<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | pH  | EC<br>(dS m <sup>-1</sup> ) | آهک<br>% | رس<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | شن<br>(g kg <sup>-1</sup> ) | سیلت<br>(g kg <sup>-1</sup> ) |
|-----|-----------------------------------|-------------------------------------|-----|-----------------------------|----------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| ۱   | ۱۷/۸                              | ۱/۴                                 | ۸/۱ | ۰/۴۰                        | ۴/۵      | ۱۳۲                         | ۱۶۱                         | ۷۰۷                           |
| ۲   | ۱۴/۳                              | ۱/۱                                 | ۷/۹ | ۰/۳۱                        | ۲/۰      | ۹۷                          | ۱۹۷                         | ۷۰۶                           |
| ۳   | ۱۱/۹                              | ۰/۹                                 | ۸/۰ | ۰/۲۸                        | ۳/۳      | ۱۰۷                         | ۱۴۶                         | ۷۴۷                           |
| ۴   | ۱۰/۶                              | ۰/۹                                 | ۸/۲ | ۰/۲۶                        | ۵/۸      | ۲۳۲                         | ۱۱۰                         | ۶۶۷                           |
| ۵   | ۱۴/۱                              | ۱/۲                                 | ۸/۰ | ۰/۴۱                        | ۴/۳      | ۸۶                          | ۹۶                          | ۸۱۸                           |

### جداسازی خاکدانه ها

به منظور جداسازی خاکدانه ها به روش الک تر ابتدا ۵۰ گرم نمونه های خاک عبور داده شده از الک ۴ میلی متری بر روی سری الک ها به ترتیب از بالا به پایین با اندازه ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۰۵ میلی متر ریخته شد و با سرعت ۵۰ نوسان در دقیقه به مدت ۲ دقیقه به صورت عمودی در آب تکان داده شد. سپس الک ها به آرامی از آب خارج گردیدند و خاکدانه های روی الک ها هوا-خشک و سپس توزین شدند (Elliot, 1986).

به منظور جداسازی خاکدانه ها به روش الک خشک، ۵۰ گرم نمونه خاک هوا-خشک (<4 mm) بر روی سری الک ها به ترتیب از بالا به پایین با اندازه ۲، ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۰۵ میلی متر ریخته شد و به مدت ۹۰ ثانیه توسط دستگاه با سرعت ۲ تکان داده شد. در نهایت خاکدانه های روی هر الک جمع آوری شدند (Mendes et al., 1999).

### اندازه گیری آنزیم اوره آز

ابتدا ۵ گرم خاک به وسیله ۰/۲ میلی لیتر تولوئن تیمار شد. سپس ۹ میلی لیتر محلول بافر تریس هیدروکسی متیل آمینو متان (THAM) ۰/۱ مولار با pH=۹ و ۱ میلی لیتر محلول سوبسترا (محلول ۰/۲ مولار اوره) به سوسپانسیون فوق افزوده شد و



به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوباسیون گردید. بلافاصله پس از انکوباسیون، ۳۵ میلی لیتر محلول KCl- $Ag_2SO_4$  (۲/۵ مولار نسبت به KCl و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر نسبت به  $Ag_2SO_4$ ) به آن اضافه و پس از مخلوط شدن و سرد شدن نمونه‌ها در محیط، توسط محلول KCl- $Ag_2SO_4$  به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد. سپس مقدار آمونیوم آزاد شده در سوسپانسیون به روش تقطیر با بخار آب تعیین گردید. به موازات این اندازه‌گیری یک تیمار شاهد نیز در نظر گرفته شد. تیمار شاهد نمونه‌ای است که پس از پایان انکوباسیون، سوبسترا دریافت می‌کند. از کسر نمودن مقدار آمونیوم تیمار شاهد از تیمار اصلی، فعالیت آنزیم بر حسب  $mg\ NH_4^+-N\ Kg^{-1}\ h^{-1}$  گزارش گردید (Tabatabai, 1994).

درصد بازیابی آنزیم در خاکدانه‌ها از طریق فرمول زیر بدست آمد (Bach and Hofmockel, 2014):

$100 * (\text{فعالیت آنزیم در خاک} / \text{مجموع فعالیت آنزیم در خاکدانه‌ها}) = \text{درصد بازیابی}$

### تجزیه و تحلیل آماری

پژوهش حاضر در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. داده‌ها توسط تجزیه واریانس یک طرفه مورد ارزیابی قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها بین دو روش جداسازی خاکدانه‌ها و همچنین بین خاکدانه‌ها در هر روش برای هر خاک به صورت جداگانه توسط آزمون LSD انجام گرفت. از آن جایی که هدف، مقایسه الگوی توزیع خاکدانه‌ای فعالیت آنزیم با استفاده از دو روش جداسازی خاکدانه بود، مقایسه میانگینی بین خاک‌ها انجام نگردید.

### نتایج و بحث

#### توزیع اندازه خاکدانه

جداسازی خاکدانه‌ها با روش الک تر در خاک‌های مورد مطالعه نشان داد که با کاهش اندازه خاکدانه، درصد جرمی ریزخاکدانه‌ها و همچنین رس و سیلت خاک افزایش می‌یابد. تفاوت معنی‌داری بین درصد جرمی خاکدانه‌های در اندازه کوچکتر از ۰/۵ میلی متر دیده نشد. در روش الک خشک عکس چنین الگویی مشاهده شد؛ بدین ترتیب که بیشترین درصد خاکدانه‌ها مربوط به خاکدانه‌های در اندازه ۲-۴ میلی متر بود و سپس با کاهش اندازه خاکدانه درصد خاکدانه‌ها کاهش یافتند. با مقایسه دو روش الک تر و خشک نیز مشخص گردید که درصد خاکدانه‌های در اندازه بیش از ۰/۵ میلی متر (۲-۴)، ۱-۲ و ۰/۵-۱ میلی متر) در الک خشک بیشتر از الک تر بودند و در مورد خاکدانه‌های در اندازه کوچکتر از ۰/۵ میلی متر، درصد خاکدانه‌های جدا شده توسط الک تر بیشتر از الک خشک مشاهده گردید (جدول ۲). در حقیقت نیروی اعمال شده به توسط الک خشک منجر به جمع آوری خاکدانه‌های پایدار و ناپایدار در آب می‌گردد در حالی که در روش الک تر تنش‌های ایجاد شده از طرف آب به خاکدانه‌ها منجر به آزاد شدن هوای محبوس درون آن‌ها شده در نتیجه خاکدانه‌های بزرگتر به خاکدانه‌های کوچکتر شکسته می‌شوند. بنابراین نتایج الک تر نشان می‌دهد که درصد خاکدانه‌های بزرگ پایدار در آب نسبت به خاکدانه‌های کوچکتر کاهش می‌یابد. نتایج اخیر با نتایج دیگر پژوهشگران (Bach and Hofmockel, 2014) مبنی بر اینکه الگوی توزیع خاکدانه‌ها در روش الک تر و خشک متفاوت است همخوانی دارد.

جدول ۲. تاثیر روش های الک تر و خشک بر درصد خاکدانه های با اندازه مختلف

|     |         | اندازه خاکدانه |          |           |            |             |         |
|-----|---------|----------------|----------|-----------|------------|-------------|---------|
| خاک | روش     | ۲-۴mm          | ۱-۲mm    | ۰/۵-۱mm   | ۰/۲۵-۰/۵mm | ۰/۰۵-۰/۲۵mm | <۰/۰۵mm |
| ۱   | الک خشک | ۴۳/۴۶Ba        | ۳۹/۹۵Aa  | ۳۷/۶۵Aa   | ۳۸/۹۹Aa    | ۳۸/۹۸Aa     | ۱۹/۳۲Ab |
|     | الک تر  | ۶۴/۷۸Aa        | ۳۰/۶۱Bbc | ۳۴/۲۹Ab   | ۲۸/۹۱Acd   | ۲۵/۰۷Bd     | ۱۵/۳۰Be |
| ۲   | الک خشک | ۳۴/۷۷Ba        | ۳۵/۱۰Ba  | ۳۸/۹۷Ba   | ۳۳/۴۲Aa    | ۳۵/۷۸Aa     | ۲۲/۶۱Ab |
|     | الک تر  | ۷۵/۹۵Aa        | ۵۵/۵۶Ab  | ۴۸/۷۶Ac   | ۳۴/۶۹Ad    | ۲۰/۶۳Be     | ۱۹/۲۲Ae |
| ۳   | الک خشک | ۳۰/۳۸Ba        | ۲۶/۷۴Ba  | ۲۰/۳۸Ab   | ۲۷/۶۸Aa    | ۲۰/۳۸Acb    | ۱۱/۴۸A  |
|     | الک تر  | ۳۷/۹۷Ab        | ۷۴/۴۶Aa  | ۲۳/۰۸Ac   | ۲۴/۸۲Ac    | ۱۳/۰۶Bd     | ۱۱/۰۳Ad |
| ۴   | الک خشک | ۱۹/۲۱Babc      | ۱۶/۴۲Bcd | ۱۷/۵۰Bbcd | ۲۳/۶۸Aa    | ۲۲/۳۰Aab    | ۱۲/۳۵Bd |
|     | الک تر  | ۴۶/۹۱Aa        | ۴۷/۲۰Aa  | ۲۰/۴۴Ab   | ۲۳/۸۲Ab    | ۱۹/۹۶Ac     | ۱۷/۵۱Ad |
| ۵   | الک خشک | ۲۷/۳۳Bb        | ۳۰/۹۳Bb  | ۲۶/۳۵Bb   | ۴۲/۶۲Aa    | ۳۵/۶۳Aab    | ۱۶/۸۱Ac |
|     | الک تر  | ۶۱/۴۳Aa        | ۴۵/۹۱Ab  | ۴۰/۸۱Ac   | ۳۳/۷۲Ad    | ۲۴/۰۹Be     | ۱۳/۸۷Af |

حروف بزرگ نشان دهنده مقایسه میانگین بین دو روش، و حروف کوچک نشان دهنده مقایسه میانگین بین اندازه خاکدانه ها است.

### توزیع فعالیت اوره آز درون خاکدانه ها

تفاوت معنی داری در مقدار فعالیت اوره آز درون خاکدانه های جداسازی شده توسط روش الک تر دیده شد. بیشترین فعالیت اوره آز در خاکدانه های ۲-۴ و یا ۱-۲ میلی متری مشاهده شد و سپس با کاهش اندازه خاکدانه کاهش یافت. در روش الک خشک چنین الگویی مشاهده نگردید. در خاک ۱ و ۲، بین خاکدانه های ۴-۰/۰۵ میلی متری تفاوت معنی داری از نظر فعالیت اوره آز دیده نشد. در مورد خاک ۳ الگوی مشخصی بین خاکدانه های ۴-۰/۰۵ میلی متری نبود. با وجود این، خاکدانه های ۰/۲۵-۰/۰۵ و ۰/۰۵-۰/۲۵ میلی متری در خاک های ۴ و ۵ دارای بیشترین فعالیت اوره آز بودند. در همه خاکها، بخش سیلت و رس کمترین فعالیت اوره آز را نشان دادند (جدول ۳). نتایج بدست آمده با نتایج دیگر محققان مبنی بر اینکه درشت خاکدانه های پایدار در آب نسبت به ریزخاکدانه های پایدار در آب دارای بیشترین فعالیت بیولوژیک هستند هم خوانی دارد (Bach and Hofmockel, 2014; Gupta and Germida, 1988). بر اساس نظریه سلسله مراتب خاکدانه سازی تیسدال و اودز (۱۹۸۲) خاکدانه های بزرگتر از اجتماع خاکدانه های کوچکتر ایجاد شده اند که موجب مشاهده تجمع کربن و نیتروژن بیشتری در خاکدانه های بزرگتر می شود. به نظر می رسد که وجود کمیت بیشتر سوبسترای ریزجانداران و آنزیم ها در خاکدانه های پایدار در آب بزرگتر در مقایسه با خاکدانه های کوچکتر می تواند یکی از دلایل چنین تغییرات مشاهده شده ای باشد. با وجود این، نتایج حاکی از آن بود که روش جداسازی خاکدانه ها توسط الک خشک از نظریه سلسله مراتب خاکدانه سازی تبعیت نمی کند و این مسئله میتواند به دلیل اعمال انرژی مکانیکی متفاوت به خاک توسط این روش باشد. همان طور که قبلا اشاره گردید در روش الک خشک نه تنها خاکدانه های پایدار در آب بلکه خاکدانه های ناپایدار در آب نیز جداسازی شده و بنابراین همین مسئله می تواند بر الگوی تغییرات فعالیت آنزیم اوره آز تاثیر بگذارد.

جدول ۳. تاثیر روش جداسازی خاکدانه بر فعالیت اوره آز درون خاکدانه ها

| خاک            | بازیابی %      |               |
|----------------|----------------|---------------|
|                | الک خشک        | الک تر        |
| ۱              | ۹۸/۴۴a         | ۶۴/۸۹b        |
| ۲              | ۱۰۵/۱۴a        | ۸۱/۴۳b        |
| ۳              | ۱۵۱/۲۲a        | ۹۰/۰۱b        |
| ۴              | ۱۰۹/۵۵a        | ۱۲۴/۹۴a       |
| ۵              | ۸۳/۶۷a         | ۷۴/۱۶a        |
| <b>میانگین</b> | <b>۱۰۹/۶۰A</b> | <b>۸۷/۰۹B</b> |

حروف بزرگ نشان دهنده مقایسه میانگین بین دو روش، و حروف کوچک نشان دهنده مقایسه میانگین بین اندازه خاکدانه ها است.

تاثیر روش الک تر و خشک بر فعالیت اوره آز نیز از طریق محاسبه شاخص بازیابی (recovery) مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۴). این شاخص نشان داد که بازیابی آنزیم در روش الک تر ۶۹/۸۹ تا ۱۲۴/۹۴ درصد (میانگین ۸۷/۰۹ درصد) و در مورد روش الک خشک ۸۳/۶۷ تا ۱۵۱/۲۲ درصد (میانگین ۱۰۹/۶۰ درصد) در بین خاکها است. بنابراین نتایج نشان می دهد که روش الک کردن تاثیر افزایشدهنده و کاهشدهنده بر فعالیت اوره آز خاک بسته به نوع خاک می گذارد. با وجود این، میانگین درصد بازیابی روش الک خشک نسبت به روش الک تر بیشتر بود. کاهش بیشتر فعالیت آنزیم در روش الک تر احتمالاً به دلیل تاثیر آب بر سلول های زنده که دارای آنزیم های درون سلولی هستند و همچنین بر بخشی از آنزیم های برون سلولی آزاد در خاک است.

جدول ۴. تاثیر روش جداسازی خاکدانه بر بازیابی آنزیم اوره آز درون خاکدانه ای

| خاک | روش     | اندازه خاکدانه |        |         |            |             |         |
|-----|---------|----------------|--------|---------|------------|-------------|---------|
|     |         | ۲-۴mm          | ۱-۲mm  | ۰/۵-۱mm | ۰/۲۵-۰/۵mm | ۰/۰۵-۰/۲۵mm | <۰/۰۵mm |
| ۱   | الک خشک | ۳۳/۲Aa         | ۲۸/۲Ab | ۱۷/۸Ac  | ۷/۹Bd      | ۷/۷Bd       | ۵/۳Bd   |
|     | الک تر  | ۴/۸Bd          | ۱۱/۹Bc | ۱۱/۹Bc  | ۱۳/۱Ac     | ۲۵/۰Ab      | ۳۳/۱Aa  |
| ۲   | الک خشک | ۲۸/۹Aa         | ۲۹/۹Aa | ۲۱/۴Ab  | ۷/۸Bc      | ۷/۴Bcd      | ۴/۲Bd   |
|     | الک تر  | ۰/۸Bd          | ۴/۴Bd  | ۱۰/۹Bc  | ۱۴/۱Ac     | ۳۲/۵Ab      | ۴۰/۷Aa  |
| ۳   | الک خشک | ۳۲/۸Aa         | ۳۵/۲Aa | ۱۸/۰۱Ab | ۵/۸Bc      | ۳/۹Bc       | ۴/۰Bc   |
|     | الک تر  | ۰/۷Bd          | ۳/۱Bd  | ۸/۶Bc   | ۱۱/۰Ac     | ۲۷/۵Ab      | ۴۸/۹Aa  |
| ۴   | الک خشک | ۳۷/۹Aa         | ۳۲/۴Ab | ۱۸/۴Ac  | ۵/۲Bd      | ۳/۱Bd       | ۲/۹Bd   |
|     | الک تر  | ۰/۷Bf          | ۳/۵Be  | ۶/۹Bd   | ۱۲/۴Ac     | ۳۱/۷Ab      | ۴۴/۸Aa  |
| ۵   | الک خشک | ۳۶/۹Aa         | ۳۳/۲Aa | ۱۷/۸Ab  | ۵/۹Bc      | ۳/۷Bc       | ۲/۷Bc   |
|     | الک تر  | ۱/۸Bf          | ۶/۷Be  | ۱۲/۳Bd  | ۱۴/۰Ac     | ۲۲/۶Ab      | ۳۸/۵Aa  |

حروف متفاوت نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ بین دو روش است.

نتایج نشان داد که روش های الک تر و الک خشک تاثیر متفاوتی بر توزیع خاکدانه ها می گذارد به طوری که الگوی تغییرات جرم خاکدانه ها در روش الک تر عکس الگوی بدست آمده از روش الک خشک است. همچنین الگوی تغییرات فعالیت اوره آز در خاکدانه های بدست آمده در روش الک تر و خشک متفاوت بود و به نوع خاک بستگی داشت. تفاوت فعالیت اوره آز بین خاکدانه های جدا شده توسط روش الک تر واضح تر از روش الک خشک بود و تفاوت معنی داری بین خاکدانه ها مشاهده شد.



با این حال روش الک تر موجب از دست رفتن فعالیت آنزیم اوره آز به دلیل تاثیر آب در مقایسه با روش الک خشک گردید. نتایج بدست آمده فرضیه این پژوهش را مبنی بر تاثیرپذیری فعالیت اوره آز از روش جداسازی خاکدانه مورد تایید قرار می دهد. شایان ذکر است که روش الک خشک نمی تواند به عنوان روشی مشابه جایگزین روش الک تر شود. از طرف دیگر به منظور توصیه در انتخاب روش جداسازی خاکدانه نیاز به مطالعات بیشتر و با تعداد خاک بیشتر و کاربری های متفاوت می باشد. به طور کلی، روش جداسازی خاکدانه از جمله مسائلی است که می بایست در تفسیر نتایج بدست آمده از مطالعات پارامترهای بیولوژیک در مقیاس خاکدانه ها مورد توجه قرار گیرد.

## منابع

- Ashman M.R., Hallett P.D. and Brookes P.C. 2003. Are the links between soil aggregate size class, soil organic matter and respiration rate: artifacts of the fractionation procedure? *Soil Biology and Biochemistry*. 35(3): 435-444.
- Bach E.M. and Hofmockel K.S. 2014. Soil aggregate isolation method affects measures of intra-aggregate extracellular enzyme activity. *Soil Biology and Biochemistry*. 69: 54-62.
- Blaud A., Menon M., Van der Zaan B., Lair G.J. and Banwart, S.A. 2017. Effects of Dry and Wet Sieving of Soil on Identification and Interpretation of Microbial Community Composition. In: Sparks, D.L., Banwart, S.A. (Eds.). *Quantifying and Managing Soil Functions in Earth's Critical Zone: Combining Experimentation and Mathematical Modeling*. Advances in Agronomy, 142. Academic Press, London, Uk, pp. 119-142.
- Elliott E.T. 1986. Aggregate structure and carbon, nitrogen, and phosphorus in native and cultivated soils. *Soil Science Society of America Journal*. 50: 627-633.
- Gupta V. and Germida J. 1988. Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 777-786.
- Hassink J., Bouwman L., Zwart K. and Brussaard L. 1993. Relationships between habitable pore space, soil biota and mineralization rates in grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 25: 47-55.
- Mendes I.C., Bandick A.K., Dick R.P. and Bottomley, P.J. 1999. Microbial biomass and activities in soil aggregates affected by winter cover crops. *Soil Science Society of America Journal*. 63: 873-881.
- Sainju U.M. 2006. Carbon and nitrogen pools in soil aggregates separated by dry and wet sieving methods. *Soil Science*. 171(12): 937-949.
- Seech A.G. and Beauchamp E.G. 1988. Denitrification in soil aggregates of different sizes. *Soil Science Society of America Journal*. 52: 1616-1621.
- Yoder R.E. 1936. A direct method of aggregate analysis of soils and a study of the physical nature of soil erosion losses. *American Society of Agronomy*. 28: 337-351.
- Tisdall J. and Oades J.M. 1982. Organic matter and water stable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science*. 33: 141-163.
- Vargas R. and Hattori T. 1986. Protozoan predation of bacterial cells in soil aggregates. *FEMS Microbiology Letter*. 38: 233-242.

## The effect of aggregate isolation method on aggregate distribution of urease in soil

S. Nahidan<sup>1</sup>, F. Nourbakhsh<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Assistant Professor of Soil Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

<sup>2</sup>Professor of Soil Science, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

### Abstract

This study was conducted to investigate the effect of aggregate isolation method on aggregate distribution of enzyme activity. Soil aggregates were separated by wet and dry sieving methods. Results showed that by wet sieving method, amounts of microaggregates were greater than those of macroaggregates. The reverse pattern was observed when dry sieving was used for aggregates separation. Urease activity was greater in macroaggregates separated by wet sieving. Dry-sieved microaggregates had generally higher urease activity than other size of aggregates. Meanwhile, no significant differences or even specific trend were observed between dry-sieved 4-0.25 mm fractions. Mean percent recovery of urease activity was significantly lower in wet sieving than in dry sieving method. Overall, selection of soil fractionation procedures should be considered for studying enzyme activity in soil aggregates.

Key words: Wet sieving, Dry sieving, Urease activity