

## KHẢO SÁT MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA HÀM LƯỢNG LÂN VÀ HOẠT TÍNH ENZYME PHOSPHATASE TRÊN ĐẤT PHÈN CHUYÊN CANH KHÓM TẠI TÂN PHƯỚC - TIỀN GIANG

Tất Anh Thư và Nguyễn Văn Quý

Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ

### ABSTRACT

Phosphatases that are enzymes catalysing the hydrolysis of both esters and anhydrides of phosphoric acid play an important role in the mineralization processes of organic phosphorus leading to the release of phosphate available to plants. The study aimed at investigating the correlation between phosphatase activities and soil characteristics in pineapple cultivated acid sulfate soils at Tan Phuoc district, Tien Giang province. Soil samples (0 - 20cm) were taken from 20 different pineapple fields at Tan Phuoc district, with five samples per field as replications, to analyze soil chemical and biological properties. The results showed that there was no correlation between phosphatase and total soil nitrogen as well as microbial density grown in TSA environment. Whereas phosphatase activities were strongly correlative to pH, EC, soil organic matter, CEC, total P, available N, available P and microbial density grown in Pikowskaya environment containing easily soluble P ( $KH_2PO_4$ ) and insoluble P ( $Ca_3(PO_4)_2$ ). The analysis of multiple linear regression showed that  $pH_{H_2O}$ ,  $P_{H_2O}$  and  $P_{Broy2}$  were important factors in explaining the activity of phosphatases; therefore they could be used to evaluate phosphatase activities in the soils. The sensitivity analysis result of the model indicated that pH was the factor that most affected phosphatase activities in the soils among others.

### TÓM TẮT

Enzyme phosphatase là enzyme tham gia xúc tác sự thủy phân các esters và phosphomonesterases phosphoric acid, giữ vai trò quan trọng trong các tiến khoáng hóa lân hữu cơ dẫn đến phóng thích lân hữu dụng cho cây trồng. Mục đích của nghiên cứu là nhằm đánh giá mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và một số đặc tính đất canh tác khóm trên vùng đất phèn tại Tân Phước- Tiền Giang. Mẫu đất (0-20 cm) được thu tại 20 ruộng canh tác khóm thuộc huyện Tân Phước mỗi ruộng thu 5 mẫu xem như 5 lần lặp lại, dùng để phân tích các chỉ tiêu hóa học và sinh học đất. Kết quả nghiên cứu cho thấy không có mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase với đạm tổng số, mật số vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường TSA. Ngược lại, hoạt tính enzyme phosphatase có mối tương quan chặt với pH, EC, chất hữu cơ, CEC, lân tổng số, N dễ tiêu, P dễ tiêu, mật số vi sinh vật nuôi cấy trên môi trường Pikovskaya có chứa lân dễ hòa tan ( $KH_2PO_4$ ) và lân khó hòa tan  $Ca_3(PO_4)_2$ . Kết quả phân tích hồi qui đa biến cho thấy các tính chất của đất như  $pH_{H_2O}$ ,  $P_{H_2O}$  và  $P_{Broy2}$  có vai trò quan trọng giúp giải thích hoạt tính enzyme phosphatase, và vì vậy có thể dựa vào kết quả phân tích các chỉ tiêu này để đánh giá hoạt tính enzyme phosphatase. Kết quả phân tích độ nhạy của phương trình hồi qui đa biến cho thấy, pH đất và  $P_{H_2O}$  là hai yếu tố ảnh hưởng nhiều nhất lên hoạt tính enzyme phosphatase trong đất.

### Thông tin chung:

Ngày nhận: 18/03/2016

Ngày chấp nhận: 25/05/2016

### Title:

Correlation between phosphatase activities and phosphorus content in pineapple-growing acid sulphate soils at Tan Phuoc district - Tien Giang province

### Từ khóa:

Cây khóm, enzyme phosphatase, đất phèn, hồi qui đa biến, tương quan

### Keywords:

Pineapple, acid sulfate soils, correlation, phosphatase, multiple regression

Trích dẫn: Tất Anh Thư và Nguyễn Văn Quý, 2016. Khảo sát mối tương quan giữa hàm lượng lân và hoạt tính enzyme phosphatase trên đất phèn chuyên canh khóm tại tân phước - tiền giang. Tạp chí Khoa học Trường Đại học Cần Thơ. 43b: 45-60.

## 1 MỞ ĐẦU

Hoạt tính enzyme đất đóng vai trò rất quan trọng trong các tiến trình sinh hóa xảy ra trong đất như quá trình hình thành và phân hủy chất hữu cơ, các chu trình chuyển biến dinh dưỡng trong đất, sự phân hủy xenobiotics (Verónica Acosta-Martínez *et al.*, 2007). Việc đánh giá hoạt tính enzyme trong đất là đơn giản, đòi hỏi chi phí thấp hơn so với việc phân tích các chỉ tiêu sinh hóa khác (Ndiaye *et al.*, 2000). Nhiều kết quả nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzyme đất thường chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố như đặc tính đất, loại cây trồng, hệ thống canh tác và cách quản lý nguồn tàn dư thực vật của vụ canh tác trước (Deng và Tabatabai, 1997; Zhang *et al.*, 2010). Hoạt tính enzyme trong đất phản ánh được chất lượng đất, kiểu sử dụng đất có thể dự đoán được những thay đổi chất lượng đất thông qua phân tích enzyme đất (Ndiaye *et al.*, 2000; Acosta-Martínez *et al.*, 2007). Theo Gispert và Arcara (1988) đặc tính lý - hóa học đất có thể ảnh hưởng đến tốc độ hô hấp và hoạt tính của saccharase. Hoạt tính enzyme Urease, phosphatase và protease activity có tương quan rất chặt với các tính chất lý hóa học đất. Kết quả nghiên cứu của Bonmati *et al.* (1991) cũng khẳng định hoạt tính enzyme phosphatase có tương quan với enzyme protease, đạm tổng số và carbon hữu cơ. Theo Chhonkar và Tarafdar (1984) hoạt tính phosphatase có tương quan thuận với carbon hữu cơ, lân hữu cơ, các quần thể vi khuẩn, và có mối tương quan nghịch với độ pH của đất, không có mối tương quan đã được tìm thấy giữa hoạt tính phosphatase và hàm lượng sét hoặc mật số xạ khuẩn (soil actionomyces). Theo Jordan và Kremer (1994); Aon và Colaneri (2001) hoạt tính enzyme phosphatase có liên quan đến hàm lượng chất hữu cơ, đạm tổng số và hàm lượng lân hữu cơ trong đất. Theo Turner và Haygarth (2005) hoạt tính enzyme phosphatase có tương quan chặt với một số các đặc tính đất như pH, đạm tổng số, lân hữu cơ và % sét. Kết quả phân tích hồi qui cho thấy CEC, chất hữu cơ, Fe, Mn và % cát là các thông số quan trọng ảnh hưởng đến enzyme acid phosphatase, trong khi pH, Fe và CEC ảnh hưởng và chi phối enzyme phosphatase kiềm (Zachary N. Senwo *et al.*, 2007). Trong số các loại enzyme có trong đất có thể nói enzyme phosphatases là enzyme được tập trung nghiên cứu nhiều nhất trong những năm gần đây vì lân là một trong những nguồn dinh dưỡng thiết yếu cần thiết cho sự sinh trưởng và phát triển của cây trồng. Bên cạnh đó, hầu hết các tiến trình sinh hóa quan trọng diễn ra trong cây đều cần sự có mặt của lân

(Attiwill và Adams, 1993; Redel *et al.*, 2007). Nhiều loại đất mặc dù có hàm lượng lân hữu cơ cao nhưng hàm lượng lân vô cơ hữu dụng cho cây trồng thường chiếm tỷ lệ rất thấp, (không quá 1%) (Richardson *et al.*, 2009). Enzyme Phosphatases (acid và kiềm) là enzyme ngoại bào được vi sinh vật trong đất và cây trồng tiết ra (Bořivoj Šarapatka, 2003). Theo Tabataba (1994), enzyme phosphatases trong đất có nguồn gốc chủ yếu từ vi sinh vật đất và thành phần của cộng đồng vi sinh vật đất có ảnh hưởng rất lớn đến khả năng cung cấp nguồn enzyme này. Enzyme phosphatases có vai trò tác dụng xúc tác thủy phân các acid hữu cơ phosphate este và orthophosphate, giúp liên kết các nhân tố sinh học không hữu dụng trong đất (biologically unavailable) là các enzyme tham gia vào tiến trình khoáng hóa lân, biến đổi lân hữu cơ thành lân vô cơ phóng thích nguồn lân hữu dụng vào môi trường đất, làm cho đất trở nên giàu lân hữu dụng. Sự hiện diện enzyme phosphatases giúp gia tăng đáng kể nguồn lân hữu dụng trong đất do enzyme phosphatase giúp gia tăng tốc độ phóng thích lân vô cơ từ nguồn lân hữu cơ (Jha *et al.*, 1993; Ridvan Kizilkaya *et al.*, 2007; Ratul Nath và Samanta, 2012), giúp đánh giá khả năng khoáng hóa lân, vì vậy enzyme phosphatase được xem như chỉ số đánh giá độ phì nhiêu đất. Hiện nay, hầu như các nghiên cứu về sự thay đổi hoạt tính enzyme phosphatase và mối tương quan giữa phosphatase và các thành phần lân hữu dụng trong đất đặc biệt là đất phèn là rất ít. Vì vậy, thí nghiệm thực sự cần thiết được thực hiện nhằm tìm hiểu thêm về vai trò của enzyme phosphatase cũng như ảnh hưởng của các nguồn dinh dưỡng trong đất, giá trị pH, EC, hàm lượng chất hữu cơ và hoạt tính vi sinh vật trong đất đến sự thay đổi hàm lượng enzyme phosphatase trên đất phèn trồng khóm nhằm có biện pháp cải thiện nguồn lân hữu dụng trên nhóm đất này.

## 2 PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Đối tượng nghiên cứu

**Đối tượng nghiên cứu** là đất phèn chuyên canh khóm tại huyện Tân Phước, tỉnh Tiền Giang. Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 3/2012–8/2013.

### 2.2 Thu mẫu đất

Dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ hiện trạng canh tác tiến hành thu thập ngẫu nhiên mẫu đất của 20 nông hộ canh tác khóm. Mẫu đất được thu vào đầu vụ khóm, ở độ sâu 0-20 cm bằng khoan tay, tại 5 điểm khác nhau của mỗi ruộng và được xem như 5 lần lặp lại. Tổng số mẫu đất được thu là 100 mẫu

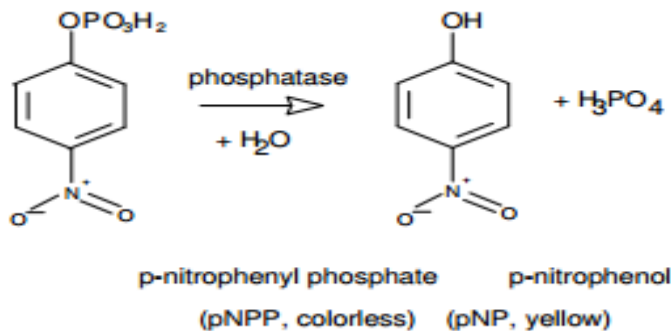
(20 ruộng x 5 mẫu đất/ruộng). Mẫu sau khi thu được xử lý tại phòng thí nghiệm Bộ môn Khoa học Đất, Khoa Nông nghiệp và Sinh học Ứng dụng, Trường Đại học Cần Thơ bằng cách phơi khô ở nhiệt độ phòng, loại bỏ rác, nghiền mịn qua rây có đường kính 0,5 mm dùng để phân tích một số chỉ tiêu hóa học đất như: pH<sub>H2O</sub>, chất hữu cơ, C hữu cơ dễ phân hủy, N hữu dụng (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N và NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N), lân hữu dụng, lân tổng số, đạm tổng số, khả năng hấp thu và trao đổi cation (CEC) và các chỉ tiêu vi sinh vật đất gồm: hoạt tính enzyme phosphatase, tổng mật số vi khuẩn, mật số vi sinh vật có khả năng sống được trên môi trường lân dễ hòa tan và khó hòa tan.

**2.3 Phương pháp phân tích mẫu đất**

– **Chỉ tiêu hóa học đất:** pH đất được đo bằng dung dịch ly trích đất: nước theo tỷ lệ 1:2,5 (Blakemore *et al.*, 1987 và Batjes, 1995). Chất hữu cơ được xác định theo phương pháp Walkley – Black (Walkley và Black, 1934; Nelson và Sommers, 1996). Lân dễ tiêu trong đất được phân tích theo 3 phương pháp (1) Phương pháp Olsen (Olsen và Sommers, 1982); (2) Phương pháp Bray II (Bray và Kurtz, 1945) và (3) Phương pháp Fuhrman *et al.* (2005) phân tích lân dễ hòa tan trong môi trường nước. Lân tổng số (Pts) được xác định bằng cách công phá mẫu đất bằng acid sulphuric đậm đặc và acid perchloric (HClO<sub>4</sub>), hàm lượng lân có trong mẫu sau khi vô cơ được xác định theo phương pháp molybdate - acid ascorbic, so màu trên máy quang phổ ở bước sóng 880 nm (Olsen và Sommers, 1982). Đạm tổng số (%N) có trong mẫu đất được công phá với hỗn hợp H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> đậm đặc K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – CuSO<sub>4</sub> - Se theo tỷ lệ 100-10-1, hàm lượng đạm có trong mẫu sau khi công phá được phân tích theo phương pháp chưng cất

Kjeldahl (Bremmer và Mulvaney, 1982). Đạm hữu dụng trong đất được ly trích bằng KCl 2N, hàm lượng đạm có trong mẫu sau khi ly trích được xác định bằng phương pháp so màu (Katrina *et al.*, 2001). Đạm hữu cơ dễ phân hủy được thủy phân trong dung dịch KCl 2M ở nhiệt độ 100° C trong 4 giờ và hàm lượng NH<sub>4</sub><sup>+</sup> được xác định theo phương pháp so màu. Đạm hữu cơ dễ phân hủy chính là hiệu của đạm NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N đun nóng trừ đi đạm NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N trích bằng KCl 2N (Curtin và Wen, 1999). Khả năng trao đổi cation của đất (CEC) được ly trích bằng BaCl<sub>2</sub> 0,1M và chuẩn độ với EDTA 0,01M. Các cation trao đổi trong đất được trích bằng BaCl<sub>2</sub> đo trên máy hấp thu nguyên tử (Van Reeuwijk, 1993; Katrina *et al.*, 2001).

– **Chỉ tiêu sinh học đất:** Môi trường tổng hợp TSA (Trypton Soya Agar) được dùng để xác định mật số vi khuẩn có trong đất (Subba Rao, 1984; Scot *et al.*, 1987; Ulrich *et al.*, 2008). Mật số vi khuẩn có trong mẫu đất được xác định bằng phương pháp xác định trực tiếp số lượng tế bào thông qua cách đếm số lượng khuẩn lạc phát triển trên môi trường TSA (Trolldenier, 1996). Môi trường Pikovskaya's được sử dụng để đếm mật số vi sinh vật có khả năng sống được trên môi trường lân khó tan và dễ hòa tan (Pikovskaya, 1948; Nautiyal, 1999 và Khuất Lê Uyên Vy, 2012). Hoạt tính enzyme phosphatase (Acid phosphatase và Alkaline phosphatase) được xác định theo phương pháp so màu của Tabatabai (1994) và Alef và Nannipieri (1995) với chất nền p - nitrophenyl phosphate disodium (PNPP 0,115 M) dựa trên nguyên tắc đo sự phóng thích p-nitrophenol của chất nền p-nitrophenyl phosphate (pNPP 0,115M). Phương trình phản ứng xảy ra như sau:



(\*) p-nitrophenyl Phosphate – Chất nền: không màu; sản phẩm tạo thành là pNP có màu vàng

## 2.4 Xử lý số liệu

Phần mềm Microsoft Excel được sử dụng để tính toán giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Phần mềm SPSS 13.5 được sử dụng để phân tích hồi qui tuyến tính đa biến với phương pháp chọn stepwise được sử dụng để xây dựng hàm ước đoán hoạt tính enzyme phosphatase với các biến số độc lập có ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme phosphatase. Để đánh giá tính chính xác của phương trình, sau khi phương trình hồi qui tuyến tính đa biến được xây dựng dựa trên các thông số khác nhau, tính chính xác của phương trình được đánh giá dựa trên các chỉ số thống kê như căn bậc hai của trung bình bình phương sai số (Root Mean Square Error - RMSE), sai số trung bình (mean error ME) và hệ số xác định của phương trình (coefficient of determination - R<sup>2</sup>). RMSE, ME và R<sup>2</sup> được xác định theo các biểu thức sau:

$$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - x_i)^2}{n}}$$

$$ME = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - x_i)$$

$$R^2 = \left[ \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \right]^2$$

**Trong đó:**  $x_i$  là giá trị thực đo thứ  $i$ ;  $y_i$  là giá trị ước đoán thứ  $i$ ;  $n$  là số cặp dữ liệu so sánh thực tế và ước đoán;  $\bar{x}$ : là trung bình của giá trị thực đo; và  $\bar{y}$  là trung bình của giá trị ước đoán. RMSE đo lường giá trị trung bình của sự khác biệt giữa giá trị thực đo và ước đoán, có giá trị từ 0 đến  $+\infty$ . RMSE gần 0 cho thấy mô hình ước đoán tốt giá trị thực đo (Jacovides và Kotoyianis, 1995). ME biểu thị độ lệch của giá trị ước đoán so với giá trị thực đo và cho thấy khuynh hướng ước đoán cao hơn hay thấp hơn giá trị thực đo (Kabat *et al.*, 1995) của phương trình hồi qui. Hệ số xác định  $r^2$  thể hiện mức độ chặt chẽ của mối tương quan tuyến tính giữa giá trị đo lường thực tế và giá trị ước đoán cũng như biểu thị mức độ biến động của biến phụ thuộc  $y$  được giải thích bởi mối quan hệ tuyến tính của các biến độc lập trong phương trình hồi qui. Theo Moriasi *et al.* (2007) giá trị R<sup>2</sup> biến

động trong khoảng 0-1, giá trị càng tiến đến 1 càng tốt và giá trị đạt gần hoặc lớn hơn 0,5 có thể chấp nhận được.

Chương trình SensIt 1.45 (Middleton, 2001) được sử dụng để đánh giá độ nhạy của mô hình hồi qui bằng cách thay đổi  $\pm 5\%$  giá trị đầu vào của các biến độc lập. Trong chương trình SensIt, phương pháp phân tích độ nhạy Tornado cho phép xác định sự ảnh hưởng có ý nghĩa của các biến đầu lên kết quả đầu ra của mô hình (Bodmer, 2014). Trong phương pháp Tornado, mức ảnh của các biến đầu vào được đánh giá dựa trên chỉ số biến động (%) của kết quả đầu ra (Middleton, 2001; Bodmer, 2014). Hệ số biến động được tính theo biểu thức sau:

$$\text{Hệ số biến động (\%)} = \frac{(O_{i_{\max}} - O_{i_{\min}})^2}{\sum (O_{i_{\max}} - O_{i_{\min}})^2} \times 100$$

Trong đó:  $O_{i_{\max}}$  là kết quả đầu ra tương ứng với biến đầu vào thứ  $i+x$  (ngưỡng trên);  $O_{i_{\min}}$  là kết quả đầu ra tương ứng với biến đầu vào thứ  $i-x$  (ngưỡng dưới). Trong đó,  $x$  là % thay đổi của biến đầu vào. Trong nghiên cứu này, giá trị  $x$  được chọn là 5%.

## 3 KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1 Đặc tính hóa học và sinh học đất vùng nghiên cứu

Kết quả trình bày ở Bảng 1 cho thấy đất của khu vực nghiên cứu có độ chua rất cao với pH<sub>H2O</sub> dao động trong khoảng 2,91-3,90 và được đánh giá là rất chua theo thang đánh giá của Phan Thị Công và *ctv.* (2005). Theo Nguyễn Đức Lượng (2004), pH là yếu tố quan trọng nhất ảnh hưởng đến hoạt tính xúc tác của enzyme do làm thay đổi trạng thái ion hóa của enzyme và cơ chất, phức hợp enzyme-cơ chất. Hầu như các enzyme đều rất nhạy cảm với sự thay đổi của pH đất và mỗi một enzyme chỉ hoạt tính mạnh nhất ở một vùng pH xác định gọi là pH tối hảo. Nếu pH quá thấp hoặc quá cao có thể làm giảm hoạt tính enzyme hoặc mất hẳn. Theo Wittmann *et al.* (2003), khoảng pH phù hợp cho hoạt tính của enzyme phosphatase là từ 4,0-5,0. Theo Acosta-Martinez và Tabatabai (2000), Rao *et al.* (2000), đất có pH thấp (pH < 4,8) có thể cản trở quá trình tạo enzyme phosphatase (phosphatase kiềm).

**Bảng 1: Đặc tính hóa học và sinh học đất vùng đất phèn trồng khóm tại Tân Phước - Tiền Giang**

Đặc tính đất	Thấp nhất	Cao nhất	Trung bình	Độ lệch chuẩn
pH <sub>H2O</sub> (1:2,5)	2,91	3,90	3,47	0,29
EC (1:2,5) mS/cm	0,45	1,45	0,94	0,27
P <sub>ts</sub> (% P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0,04	0,16	0,10	0,04
N <sub>ts</sub> (% N)	0,10	0,67	0,42	0,16
Carbon hữu cơ (%C)	7,33	18,15	13,24	3,03
P <sub>Bray 2</sub> (mg P/kg)	4,29	12,83	8,74	2,91
P <sub>Olsen</sub> (mg P/kg)	5,27	10,53	8,08	1,44
P <sub>H2O</sub> (mg P/kg)	0,33	0,70	0,51	0,12
N hữu dụng (mg NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /kg)	11,51	46,71	29,49	11,46
CEC (meq/100g đất)	13,64	27,50	19,32	4,00
Enzyme Phosphatase (mg p-NP/1g đất khô/giờ)(*)	98,08	275,93	188,92	58,91
VSV phân giải lân KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (x10 <sup>3</sup> CFU/1g đất)	147	927	423	219,80
VSV phân giải lân Ca <sub>3</sub> (PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> (x10 <sup>3</sup> CFU/1g đất)	30	55	40	7,14
Mật số vi khuẩn (x10 <sup>3</sup> CFU/1g đất)	550	7.376	2.211	1.969
Tỷ số C:N	27,1	73,3	31,5	
Tỷ số C:P	259,3	733	300,1	

(\*)p-nitrophenol; (N= 20, mỗi mẫu là kết quả của trung bình 5 điểm)

Lân tổng số của tầng canh tác biến động trong khoảng từ 0,04% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> đến 0,16% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> được đánh giá là trung bình (Basu, 2011). Hàm lượng lân dễ tiêu trong đất thuộc loại trung bình và biến động từ 5,27 đến 10,53 mgP/kg. Trong khi đó, theo phương pháp phân tích Bray 2 thì hàm lượng lân dễ tiêu trong đất biến động từ nghèo cho đến trung bình (4,29 - 12,83 mg P/kg). Chất hữu cơ đạt từ khá đến giàu (7,33 - 18,15% C). CEC rất biến động từ thấp đến cao (13,64 - 27,50 meq/100g đất). Giá trị CEC cao biểu hiện đất có khả năng kiềm giữ nhiều cation như Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup>, và các ion khác để cung cấp cho cây trồng. Hầu hết các mẫu đất có hàm lượng đạm tổng số trung bình trên 0,3% và được đánh giá là giàu đạm (IGAC, 2007 trích dẫn bởi Avellaneda-Torres *et al.*, 2013).

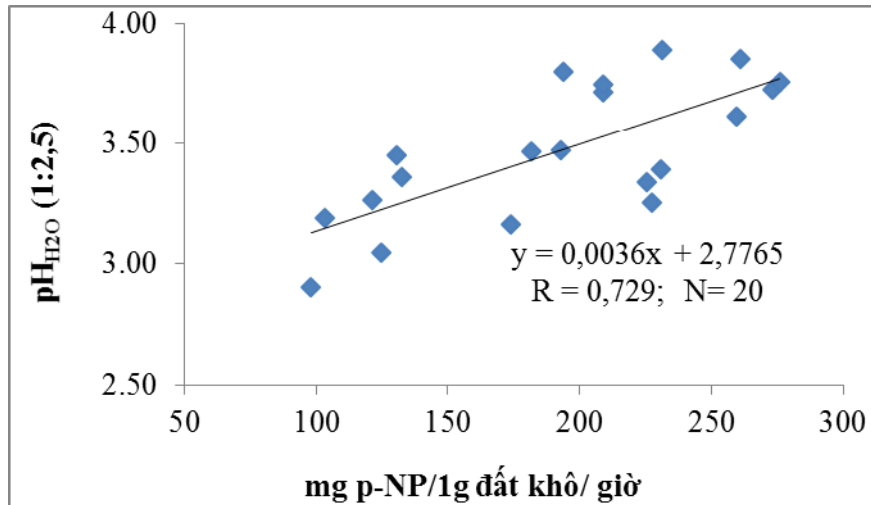
Kết quả nghiên cứu cho thấy mật số vi khuẩn trong đất dao động trong khoảng 550 - 7.376x10<sup>3</sup> CFU/g đất khô, trong khi mật số vi sinh vật có khả năng sống trên môi trường lân dễ tan dao động từ 147 - 927x10<sup>3</sup> CFU/g đất khô và môi trường lân khó tan là 30-55x10<sup>3</sup>CFU/1g đất khô. Hoạt tính enzyme phosphatase trong đất dao động trong khoảng 98,08- 275,93 mg p-NP/g đất khô/giờ với giá trị trung bình là 188,92 mg p-NP/g đất khô/giờ.

**3.2 Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase với một số đặc tính hóa và sinh học đất phèn trồng khóm**

Kết quả phân tích cho thấy không có mối tương

quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase với hàm lượng đạm tổng số và mật số vi sinh vật có khả năng sống trên môi trường TSA. Ngược lại, hoạt tính enzyme phosphatase có mối tương quan chặt với các thành phần sau:

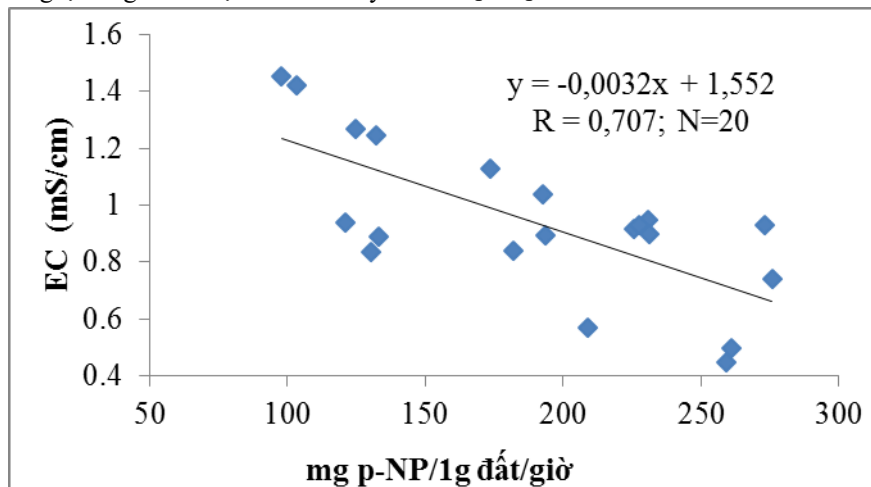
- **pH đất:** Kết quả trình bày ở Hình 1 cho thấy có mối tương quan thuận và chặt giữa hoạt tính enzyme phosphatase với pH đất (r = 0,73; p<0,001). Điều này cho thấy hoạt tính enzyme phosphatase chịu ảnh hưởng rất lớn bởi pH do pH chi phối độ hữu dụng lân trong đất và có thể dựa vào giá trị pH đất để ước đoán hoạt tính enzyme phosphatase trong đất với độ chính xác trên 70%. Ngoài ra, pH đất có ảnh hưởng rất lớn đến hoạt tính enzyme phosphatase là do ảnh hưởng đến độ nhạy của amino acid, nhóm chức năng làm thay đổi những đặc hóa học và các axit amin thiết yếu để liên kết và xúc tác. Giá trị pH cũng có thể ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme bằng cách ảnh hưởng đến nồng độ của chất ức chế hoặc các chất hoạt hóa trong dung dịch đất cũng như nồng độ các chất nền. Theo Lacramioara Opric *et al.* (2011) tốc độ sản sinh, phóng thích và ổn định enzyme phosphatase chịu sự chi phối của pH đất. Nghiên cứu của Acosta-Martinez và Tabatabai (2000) kết luận pH nằm trong khoảng 4,90 và 6,90 hoạt tính alkaline phosphatase và phosphodiesterase trong đất nông nghiệp có mối tương quan thuận với giá trị pH đất và ngược lại acid phosphatase có mối tương quan nghịch với giá trị pH.



Hình 1: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và pH của đất

– **Độ dẫn điện (EC):** EC có thể xem như là chỉ số biểu hiện cho độ mặn hay nồng độ muối trong đất, nhiều nghiên cứu cho thấy hoạt tính enzymes trong đất chịu sự chi phối của độ mặn trong đất do hầu hết các enzyme có trong đất có nguồn gốc chủ yếu từ vi sinh vật (Smith *et al.*, 2002). Kết quả phân tích (Hình 2) cho thấy có mối tương quan nghịch giữa hoạt tính enzyme

phosphatase và EC trong đất với hệ số tương quan  $r=0,71$  ( $p<0,001$ ). Kết quả phân tích tương quan cho thấy hoạt tính enzyme tăng khi giá trị EC dao động từ 0,20-0,35 mS/cm. Ngược lại, nếu giá trị EC nằm trong khoảng 0,40-1,60 mS/cm thì enzyme phosphatase trong đất giảm mạnh. Điều này chứng tỏ EC có ảnh hưởng rất lớn đến hoạt tính enzyme phosphatase.



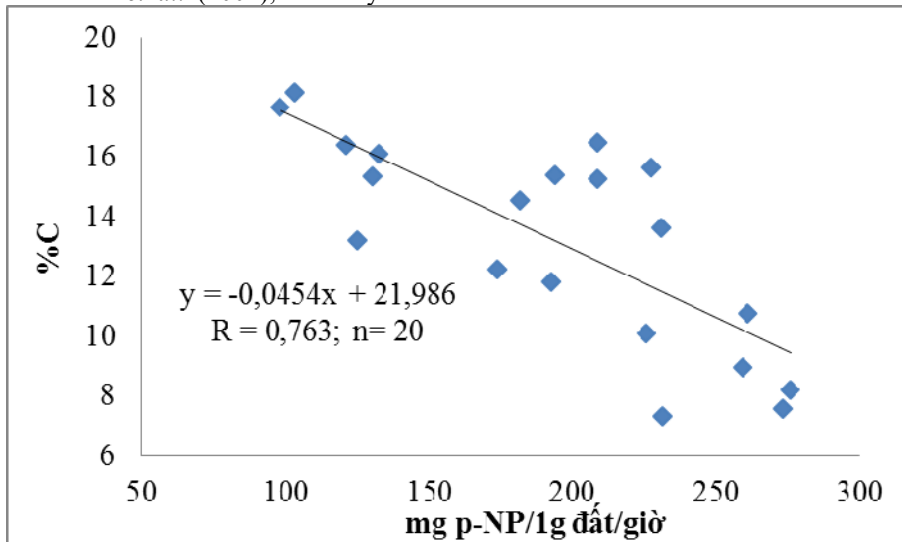
Hình 2: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và EC của đất

– **Hàm lượng carbon trong đất:** Kết quả trình bày ở Hình 3 cho thấy có mối tương quan nghịch, khá chặt giữa enzyme phosphatase với hàm lượng chất hữu cơ trong đất ( $r = 0,76$ ;  $p<0,001$ ), chứng tỏ khi chất hữu cơ trong đất tăng, khả năng tiết enzyme phosphatase của vi sinh vật trong đất giảm. Điều này có thể giải thích là do sự khác biệt về thành phần và chất lượng chất hữu cơ trong đất và chất lượng chất hữu cơ là yếu tố quan trọng ảnh

hưởng đến hoạt tính enzyme phosphatase trong hơn là số lượng chất hữu cơ. Thông thường, hoạt tính enzyme có tương quan với thành phần chất hữu cơ trong đất do chất hữu cơ đóng vai trò như một tiền chất để tổng hợp enzyme (tăng sinh khối vi sinh vật đất đây là một nguồn enzyme). Nghiên cứu của Verónica Acosta-Martínez *et al.* (2007) cũng có kết luận tương tự. Thí nghiệm của Garcia *et al.* (2000) đã cho thấy đất với nguồn chất hữu cơ bền cao, các

enzyme trong đất thường được bảo vệ bởi keo đất (soil colloids) và chu kỳ bán phân hủy kéo dài hoạt tính enzyme trong đất sẽ giảm. Ngược lại, kết thí nghiệm của Crecchio *et al.* (2004); Kizilkaya và

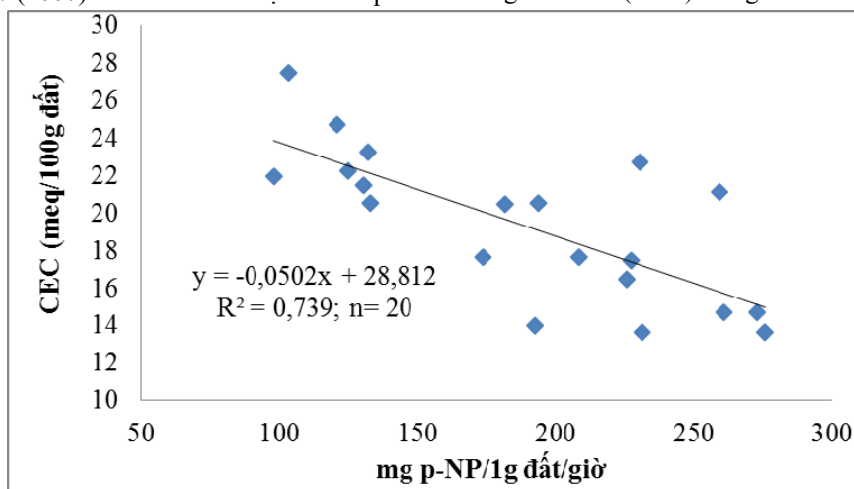
Bayrakli (2005) cho thấy có mối tương quan thuận giữa việc cung cấp thêm chất hữu cơ vào đất với hoạt tính enzyme phosphatase.



Hình 3: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và chất hữu cơ đất

– **Khả năng trao đổi các cation (CEC):** Kết quả phân tích tương quan ở Hình 4 cho thấy có mối tương quan nghịch giữa enzyme phosphatase và CEC với hệ số tương quan là  $r=0,74$  ( $p<0,001$ ). Điều này có thể do đất nghiên cứu có pH thấp trong môi trường đất tồn tại rất nhiều ion  $H^+$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{2+}$  các ion này bám chặt trên bề mặt keo sét và keo hữu cơ làm giảm điện tích âm trên bề mặt keo, giảm khả năng trao đổi và hấp thu cation trong đất. Ngược lại, đất có pH tăng (đất trở nên ít chua), số lượng điện tích âm trên bề mặt keo tăng, vì vậy CEC tăng. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Zachary *et al.* (2007) trên các biểu loại đất có pH

thấp, hàm lượng chất hữu cơ cao, enzyme phosphatase chủ yếu ở dạng Acid phosphatase có mối tương quan nghịch với CEC ( $r = -0,52^{***}$ ), ngược lại đất có pH cao hoặc đất ngập nước enzyme phosphatase (dạng alkaline phosphatase) có tương quan thuận và rất chặt với CEC ( $r = 0,51^{***}$ ), hàm lượng sét ( $r=0,49^{***}$ ), Fe ( $r=0,57^{***}$ ) chất hữu cơ ( $r=0,76^{***}$ ) với  $p<0,001$ . Sự khác biệt này có thể là do sự khác nhau về thành phần chất hữu cơ, hàm lượng khoáng sét (thành phần cơ giới đất), loại khoáng sét và pH đất. Nghiên cứu của Kandeler *et al.* (1999) và Meng Ling-Junet *al.*(2012) cũng có kết luận tương tự.

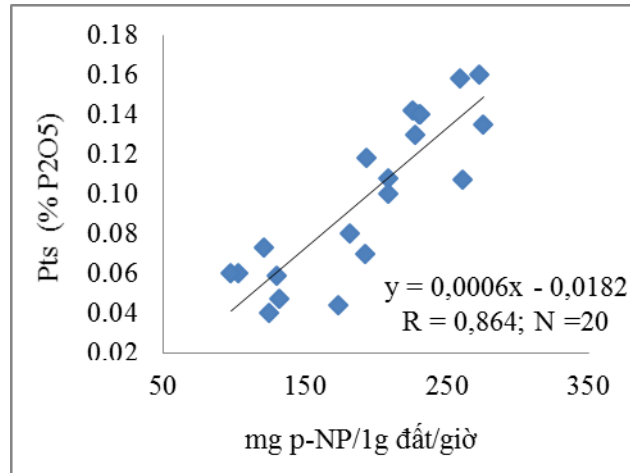


Hình 4: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và CEC của đất

**– Lân tổng số và lân hữu dụng trong đất:**

Hàm lượng lân tổng số trong đất dao động trong khoảng 0,04 - 0,16 %P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Kết quả phân tích (Hình 5) cho thấy có mối tương quan thuận và rất chặt giữa enzyme phosphatase và nguồn lân tổng số trong đất với hệ số tương quan là r=0,87 (p<0,001). Điều này cho thấy lân tổng số trong đất có ảnh hưởng lớn đến hoạt tính enzyme

phosphatase, khi hàm lượng lân tổng số trong đất tăng kéo theo hoạt tính enzyme phosphatase tăng. Kết quả nghiên cứu của Chhonkar và Tarafdar (1984); Yu *et al.* (2006) cũng tìm thấy có mối tương quan thuận giữa phosphatase và nguồn lân tổng số trong đất. Hàm lượng lân hữu cơ trong đất thấp là yếu tố hạn chế hàm lượng enzyme phosphatase trong đất (Ann và Jones, 2007).

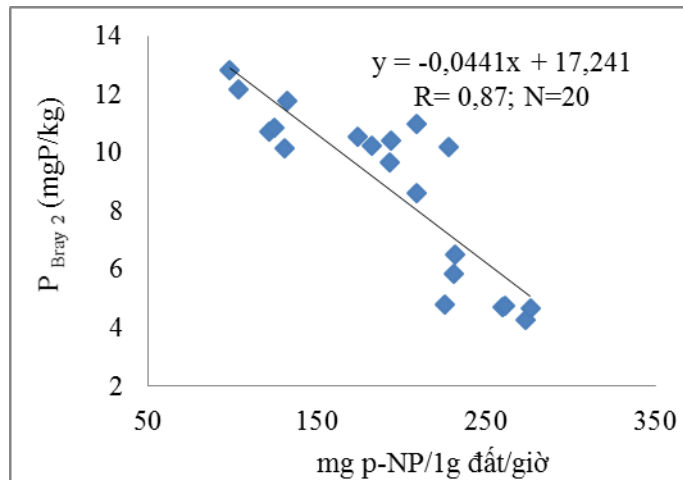


**Hình 5: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và lân tổng số trong đất**

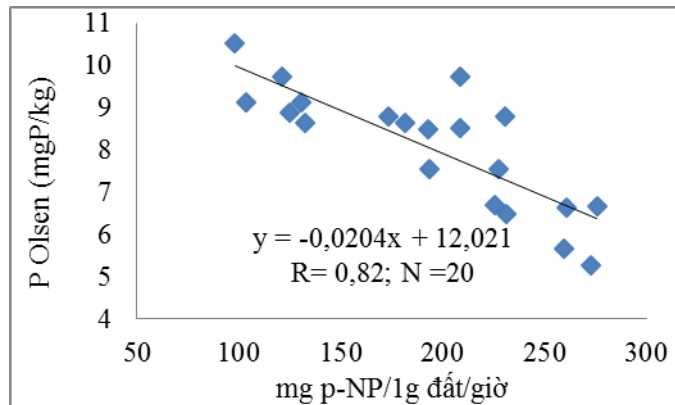
Kết quả trình bày Hình 6a, 6b và Hình 6c cho thấy có mối tương quan nghịch và rất chặt giữa các nguồn lân hữu dụng trong đất trích theo ba phương pháp (trích theo phương pháp Bray 2, phương pháp Olsen và trích bằng nước) với hàm lượng phosphatase trong đất với hệ số tương quan r lần lượt là r=0,87, 0,82 và 0,85 (p<0,001). Điều này chứng tỏ khi môi trường thiếu lân hữu dụng hoạt tính enzyme phosphatase trong đất sẽ gia tăng và ngược lại. Hiện tượng này có thể được giải thích là do có sự ức chế cạnh tranh của phosphatase với ion phosphate hoặc do sự phản hồi ngược của ion phosphate trên gen PHO kết quả là ức chế sự tổng hợp phosphatase của vi sinh vật (Oshima *et al.*, 1996). Kết quả nghiên cứu của Haynes và Swift (1988); Bořivoj Šarapatka (2003); Moscatelli *et al.* (2005); Yu *et al.* (2006) cũng có kết luận lân hữu dụng trong đất có mối tương quan nghịch với hoạt tính enzyme phosphatase trong đất bao gồm cả acid

và alkaline phosphatase, hoạt tính enzyme trong đất giảm khi nồng độ lân hữu dụng trong đất tăng. Tương tự, các nghiên cứu của Acosta-Martínez và *ctv.* (2007) cũng có kết luận hoạt tính enzyme phosphatase trong đất có tương quan với nồng độ lân hữu dụng và hoạt tính enzyme phosphatase sẽ giảm nếu cung cấp thêm lân vào đất (Allison và Vitousek, 2005). Các nghiên cứu của Li *et al.* (2002) cũng có kết luận tương tự hoạt tính enzyme phosphatase tăng cao khi môi trường đất thiếu lân, chủ yếu là nguồn lân hữu dụng vì vậy có thể xem enzyme phosphatase như chất chỉ thị dùng để đánh giá hàm lượng lân trong đất. Theo Karthikeyan *et al.* (2002); Kai *et al.* (2002), khi có dấu hiệu thiếu lân trong đất, acid phosphatase được tiết ra từ rễ cây hoặc vi sinh vật để gia tăng khả năng phóng thích và hòa tan lân từ các nguồn lân khó tan hoặc lân hấp phụ trong đất.

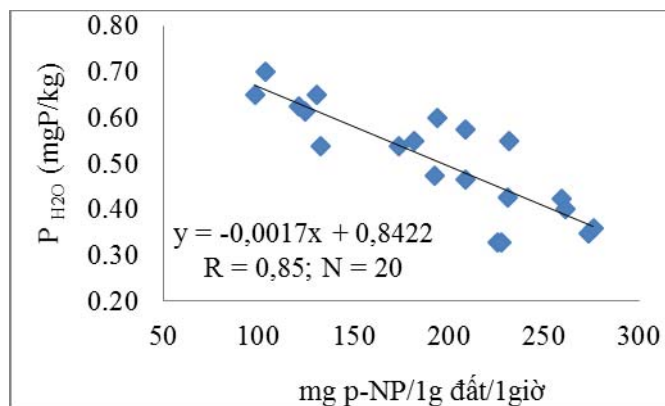




Hình 6a: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và lân hữu dụng (Bray 2) trong đất



Hình 6b: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và lân hữu dụng (Olsen) trong đất



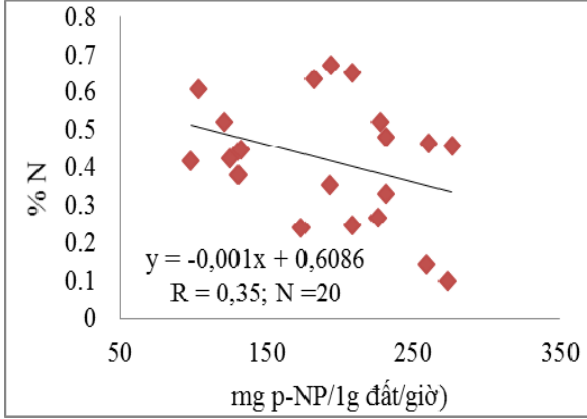
Hình 6c: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và lân hữu dụng (trích nước) trong đất

– **Đạm tổng số và đạm hữu dụng trong đất:**  
 Kết quả phân tích trình bày ở Hình 7 và 8 cho thấy giữa enzyme phosphatase với hàm lượng đạm tổng số có mối tương quan nghịch với hệ số tương rất thấp ( $r=0,35$ ). Điều này có thể do hoạt tính enzyme phosphatase không chịu sự chi phối của nguồn đạm

tổng số trong đất. Tuy nhiên, giữa hoạt tính enzyme phosphatase và hàm lượng đạm hữu dụng trong đất tìm thấy mối tương quan thuận ( $r=0,72$ ;  $p<0,001$ ) (Hình 8). Chứng tỏ đạm hữu dụng trong đất có ảnh hưởng đến sự phóng thích enzyme phosphatase. Kết quả thí nghiệm của Gregory và

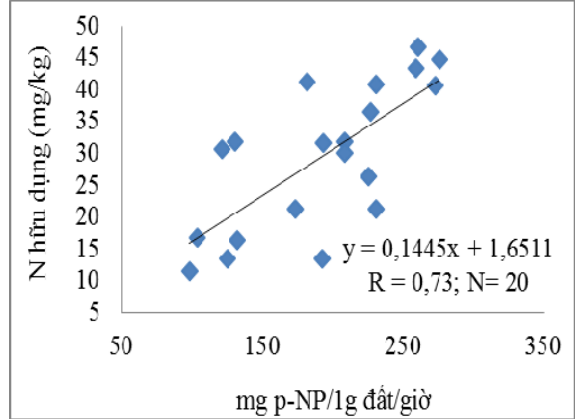
Marzluf (1980); Gabriel và Mihăilă (1996) cho thấy enzyme phosphatase gia tăng khi đạm trong đất tăng và mức độ lân trong đất thấp. Tương tự kết quả nghiên cứu của Sinsabaugh và Moorhead (1994) cũng có kết luận nồng độ hữu dụng của các chất dinh dưỡng thường có tương quan nghịch với

hoạt tính enzyme phóng thích chất dinh dưỡng đó. Khi nguồn dinh dưỡng trong môi trường thiếu vì sinh có thể sản sinh enzyme để huy động, hòa tan nguồn dinh dưỡng trong các hợp chất khó tan (Harder và Dijkhuizen, 1983).



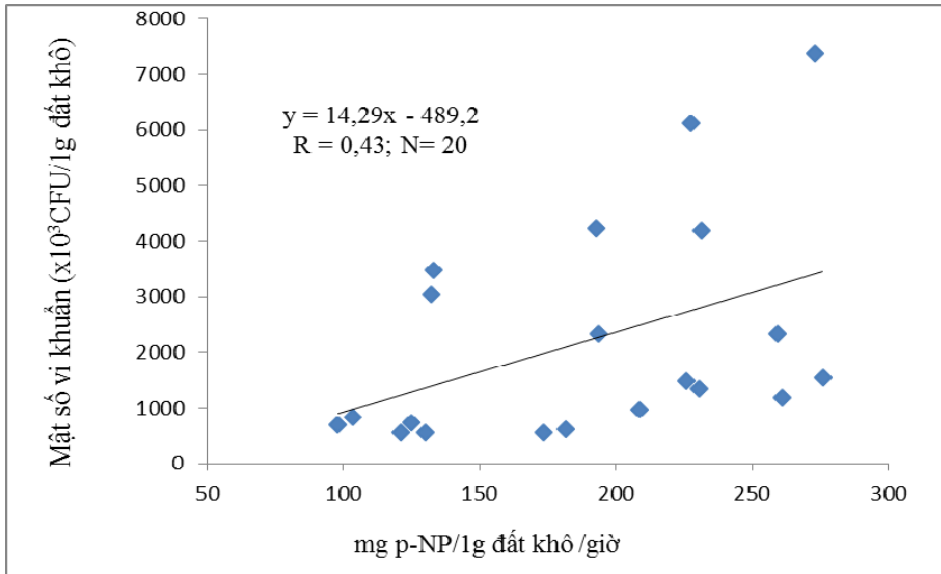
**Hình 7: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và đạm tổng số trong đất**

– **Mật số vi khuẩn trong đất:** Kết quả trình bày ở Hình 9 cho thấy giữa enzyme phosphatase với mật số vi khuẩn có mối tương quan thuận, nhưng với hệ số tương quan rất thấp ( $r=0,42$ ). Điều này có thể do đất khảo sát là đất phèn trồng khóm có pH rất thấp và giá trị EC cao, đây là yếu tố cản trở hoạt tính enzyme phosphatase trong đất. Thêm



**Hình 8: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và đạm hữu dụng trong đất**

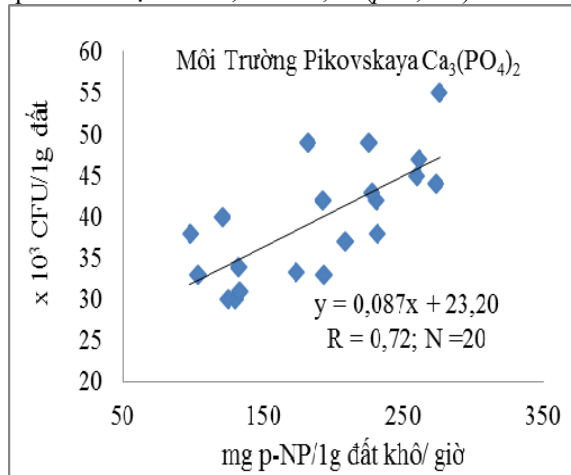
vào đó ở điều kiện pH thấp, hầu hết nấm chiếm ưu thế, vi khuẩn rất ít và hầu hết các enzyme phosphatase có nguồn gốc chủ yếu từ vi khuẩn và một phần rất ít từ nấm và không phải tất cả các vi khuẩn sống trong đất đều có khả năng hòa tan lân (Anwesh Banerjee *et al.*, 2012).



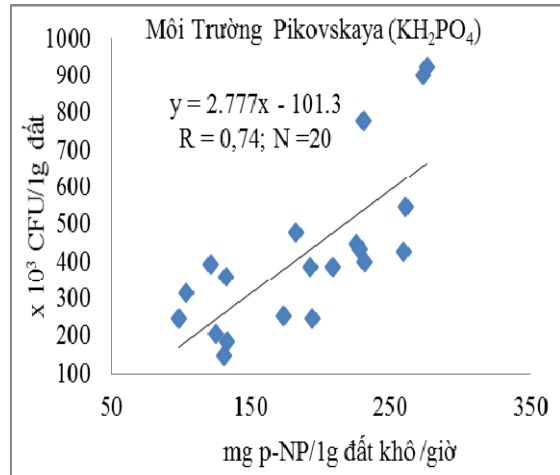
**Hình 9: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và mật số vi khuẩn có khả năng phát triển được trên môi trường TSA**

**Mật số vi sinh vật có khả năng phát triển được trên môi trường lân khó tan và dễ tan:**

Kết quả phân tích tương quan (Hình 10) cho thấy có mối tương quan thuận enzyme phosphatase và mật số vi sinh vật phát triển trên môi trường nuôi cấy Pikovskaya có chứa nguồn lân khó tan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  và dễ tan ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) với hệ số tương quan lần lượt là  $r=0,72$  và  $0,74$  ( $p<0,001$ ). Từ kết



quả phân tích có thể nhận định có sự hiện diện của nhóm vi khuẩn có khả năng hòa tan lân dạng Ca-P, Fe-P và Al-P trong nhóm đất khảo sát. Các vi khuẩn sống trong đất có khả năng hòa tan được nguồn lân khó tan là nhờ tiết ra enzyme phosphatase và các acid hữu cơ như acid gluconic, acid oxalic, acid citric, acid butyric, acid monolic và acid 2-ketogluconic.



**Hình 10: Mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase và mật số vi khuẩn có khả năng phát triển được trên môi trường Pikovskaya có bổ sung thêm lân khó tan  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  và  $\text{KH}_2\text{PO}_4$**

Theo Illmer và Schinner (1995) lân ở dạng khó tan như tricalcium phosphate ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), aluminium phosphate ( $\text{Al}_3\text{PO}_4$ ), iron phosphate ( $\text{Fe}_3\text{PO}_4$ ) có thể chuyển đổi thành nguồn lân dễ tan bởi các vi sinh vật hòa tan lân như: *Aspergillus flavus*, vi khuẩn *Penicillium aurantiogriseum* và *Pseudomonas sp.* do trong quá trình sống các vi sinh vật này tiết ra acid phosphatase đã làm giảm pH của môi trường tạo điều kiện cho lân được hòa tan. Nghiên cứu của Kiriya Sunthongwises *et al.* (2012) khi tiến hành phân lập các vi khuẩn có khả năng hòa tan lân ở hai mô hình canh tác lúa nước và cà tím thuộc vùng đất Kochi prefecture, Japan (đất cát chua:acid sandy soils) đã phân lập được 9 dòng vi khuẩn có khả năng hòa tan được lân ở dạng  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ , trong đó có một số dòng ngoài khả hòa tan lân ở dạng  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  còn có khả năng hòa tan được lân ở dạng  $\text{AlPO}_4$  và  $\text{FePO}_4$ . Nhìn chung, các hợp lân ở dạng khó tan trở thành lân ở dạng dễ tan là kết quả của sự kết hợp nhiều yếu tố như môi trường pH giảm và các acid hữu cơ (acid cacboxylic) do vi sinh vật hoặc rễ cây tiết ra và nguồn enzyme phosphatase có trong đất có thể có do các nhóm vi sinh vật khác tiết ra ngoài nhóm vi khuẩn.

**3.3 Kết quả phân tích hồi qui đa tuyến tính và phương trình ước đoán hoạt tính enzyme phosphatase trong đất phèn trồng khóm**

Việc phân tích hồi qui đa biến sẽ giúp đánh giá và lựa chọn được các đặc tính có ảnh hưởng đến hoạt tính enzyme phosphatase trong đất và có thể dựa vào phương trình hồi qui đa biến để ước đoán được hoạt tính enzyme phosphatase. Kết quả phân tích hồi qui tuyến tính đơn chỉ giúp đánh giá mối tương quan giữa hoạt tính enzyme phosphatase trong đất với từng giá trị riêng lẻ.

Kết quả xây dựng phương trình hồi qui đa biến được trình bày trong Bảng 2 cho thấy có thể dựa vào phương trình hồi qui đa biến (phương trình 3) để ước đoán hoạt tính enzyme phosphatase trong đất với độ tin cậy cao, với sai số RMSE thấp (12,8%) và hệ số xác định  $R^2$  cao (0,95;  $p<0,001$ ). Các biến trong mô hình khác biệt có ý nghĩa thống kê với mức ý nghĩa lần lượt là 0,0001; 0,0001 và 0,016 đối với biến  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ ,  $\text{P}_{\text{H}_2\text{O}}$  và  $\text{P}_{\text{Bray}2}$  theo thứ tự (Bảng 2, Hình 11). Kết quả phân tích độ nhạy (Hình 12) cho thấy các yếu tố ảnh hưởng lên hoạt tính enzyme phosphatase trong đất theo thứ tự là pH đất, lân hữu dụng trích nước và lân hữu dụng phân tích theo phương pháp Bray 2 với hệ số biến động (độ ảnh hưởng) lần lượt là 79,4%, 18,3% và

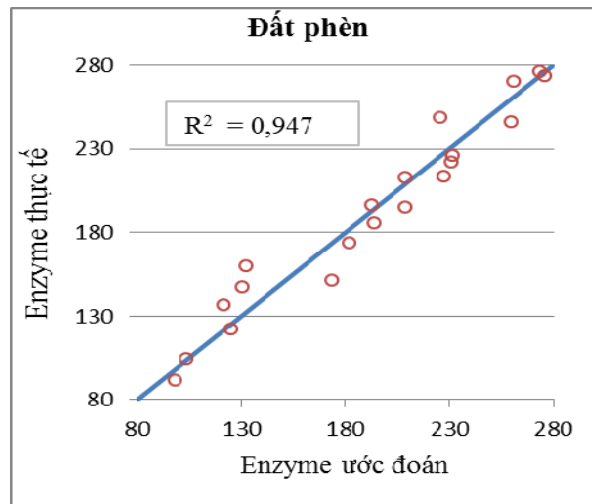
2,3%. Kết quả trên cho thấy pH đất ảnh hưởng có ý nghĩa nhất đến hoạt tính enzyme phosphatase trong đất. Nhìn chung, độ dài của thanh ngang trên đồ thị Tornado càng lớn thì biến đầu vào tương ứng có mức ảnh hưởng đến đầu ra của mô hình càng lớn.

Mức ảnh hưởng của các biến đầu vào lên đầu ra của mô hình trên đồ thị Tornado được xếp từ trên xuống dưới theo mức giảm dần (Hình 12) (Bodmer, 2014).

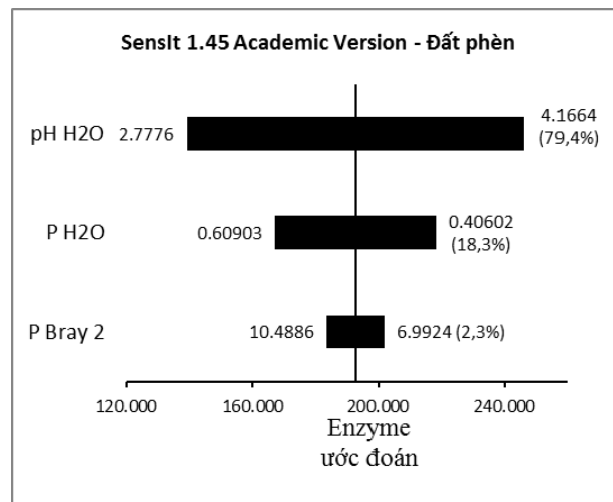
**Bảng 2: Phương trình hồi qui đa biến ước lượng hoạt tính enzyme phosphatase trong đất phèn trồng khóm**

Mô hình	Phương trình hồi qui tuyến tính đa biến	R <sup>2</sup>	RMSE (%)
1	$Y = 343.100 - 17.206x P_{Bray2}$	0,76	
2	$Y = 398.891 - 225.715 xp_{H_2O} - 10.483 xP_{Bray2}$	0,85	
3	$Y = 99.554 + 76.955xp_{H_2O} - 252.754xP_{H_2O} - 5.234xP_{Bray2}$	0,95	12,8

Ghi chú: Y: hoạt tính enzyme phosphatase;  $p_{H_2O}$  (1:2,5);  $P_{Bray2}$ : lân phân tích theo phương pháp Bray 2;  $P_{H_2O}$ : lân trích bằng nước cất



**Hình 11: Tương quan giữa giá trị đo thực tế và giá trị ước đoán trên đường 1:1 từ phương trình phân tích hồi qui đa biến. Hình tròn thể hiện giá trị Enzyme, đường liền thể hiện đường 1:1**



**Hình 12: Kết quả phân tích độ nhạy của phương trình hồi qui đa biến. Thanh ngang đậm thể hiện giá trị Enzyme ước đoán ứng với giá trị của biến đầu vào. Thanh đứng thể hiện giá trị gốc của Enzyme ước đoán ứng với giá trị gốc của biến đầu vào**

#### 4 KẾT LUẬN

Hoạt tính enzyme phosphatase trong đất chịu sự chi phối của pH đất, EC, số lượng chất hữu cơ, CEC, đạm tổng số, lân tổng số và hàm lượng các chất dinh dưỡng ở dạng hữu dụng. Hoạt tính enzyme phosphatase trong đất gia tăng khi môi trường đất thiếu dinh dưỡng ở dạng hữu dụng chủ yếu là lân. Kết quả phân tích hồi qui đa biến cho thấy hoạt tính enzyme phosphatase chịu sự chi phối mạnh của  $pH_{H_2O}$ ,  $P_{H_2O}$  và  $P_{Bray2}$ . Kết quả phân tích hồi qui tuyến tính đa biến cho thấy có thể đánh giá hoạt tính enzyme phosphatase trong đất thông qua phương trình hồi qui đa biến với độ chính xác rất cao do có sai số của phương trình hồi qui thấp RMSE thấp (12,8%) và hệ số xác định  $R^2$  cao (0,95). Kết quả phân tích độ nhạy của phương trình hồi qui đa biến cho thấy, pH đất và  $P_{H_2O}$  là yếu tố ảnh hưởng nhất lên hoạt tính enzyme phosphatase trong đất kể đến là  $P_{Bray2}$ .

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Acosta-Martínez, V. and M. A. Tabatabai (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biology and Fertility of Soils* 31:1: 85 – 91.
- Acosta-Martínez, V.; L. Cruz, D. Sotomayor-Ramírez and L. Pérez-Alegria (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Appl. Soil Ecol.* 35, 35-45.
- Alef, K., and P. Nannipieri (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*, Academic Press, Harcourt Brace and Company, Publishers, London.
- Allison S. D. and P. M. Vitousek (2005). Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biol. Bioch.* 37: 937-944.
- Ann Mari Fransson, and David L. Jones (2007). Phosphatase activity does not limit the microbial use of low molecular weight organic-P substrates in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. Volume 39, Issue 5, May 2007, Pages 1213–1217.
- Anwasha Banerjee, Sanghamitra Sanyal and Sribir Sen (2012). Soil phosphatase activity of agricultural land: A possible index of soil fertility. *Agricultural Science Research Journals* Vol. 2(7), pp. 412-419, July 2012.
- Attiwill, P. M. and M. A. Adams (1993). Nutrient cycling in forests. *New Phytologist*. 124: 561-582.
- Avellaneda-Torres L. M.; L. M. Melgarejo, C. E. Narváez-Cuenca and J. Sánchez (2013). Enzymatic activities of potato crop soils subjected to conventional management and grassland soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. Vol. 13, No. 2. Temuco Jun. 2013. Epub 22-Mayo -2013.
- Basu, P. K. (2011). *Methods Manual. Soil Testing in India*. Department of Agriculture and Cooperation Ministry of Agriculture Government of India. New Delhi. January, 2011. 217p.
- Batjes N.H., (1995). A homogenized soil data file for global environmental research: A subset of FAO, ISRIC and NRCS profiles (Version 1.0). *Work. Pap.* 95/10, ISRIC, Wageningen.
- Blakemore, L. C.; P. L. Searle and B. K. Daly (1987). *Methods for chemical analysis of soils*. N.Z. Soil Bureau Scientific Report 80, Lower Hutt, N.Z.
- Bodmer, E.,(2014). Generating tornado diagrams, spider charts, and waterfall graphs. In: *Corporate and Project Finance Modeling: Theory and Practice*. John Wiley & Sons. 624 pages.
- Bonmati, M., B. Ceccanti, and P. Nannipieri. (1991). Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon and total nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 23:4: 391 – 396.
- Bořivoj Šarapatka, Lenka Dudová and Milena Kršková (2004). Effect of pH and phosphate supply on acid phosphatase activity in cereal roots. *Biologia, Bratislava*, 59/1: 127—131, 2004.
- Bray R. H. and L. T. Kurtz (1945). Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Science*, 50: 39 – 45.
- Bremner, J.M., and C.S. Mulvaney. (1982). Nitrogen-Total. P. 595-624. In A.L. Page et al. (ed.) *Methods of soil analysis*. Part 2. 2nd ed. Argon. Monogr. 9. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Chhonkar, P. K. and J. C. Tarafdar (1984). Accumulation of phosphatases in soils. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 32:2, 1984: 266-272.

- Chhonkar, P.K. and J.C. Tarafdar. (1984). Accumulation of phosphatases in soils. *Journal of the Indian Society of Soil Science* 32:2: 266 – 272.
- Crecchio, C.; M. Curci, M.D.R. Pizzigallo, P. Ricciuti and P. Ruggiero (2004). Effect of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biol. Biochem.*, 36:1595-1605, 2004.
- Curtin, D. and G. Wen (1999). Organic matter fractions contributing to soil nitrogen mineralization potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, 410–415.
- Deng S.P., and M.A. Tabatabai (1997): Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biology and Fertility of Soils*, 24: 141–146.
- Fuhrman, J. K.; H. Zhang, J. L. Schroder, R. L. Davis and M. E. Payton (2005). Water-Soluble Phosphorus as Affected by Soil to Extractant Ratios, Extraction Times, and Electrolyte. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 36: 925–935, 2005.
- Gabriel R. Zglimbea and Vasile. Mihăilă (1996). Influence of nitrogen and phosphorus rates on acid phosphatase activity. *Romanian Agricultural Research*. Number 5- 6/1996. Page 59-69.
- García-Ruiz, R., V. Ochoa, M.B. Hinojosa and J.A. Carreira (2008). Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2137-2145.
- Gispert, M. A. and P. G. Arcara(1988). A study of the biological activity of different soils of the Mediterranean region: the relationship between enzyme activities, rates of respiration and bacterial biomass. *Agrochimica* 32(5-6): 491-499.
- Gregory Grove and George A. Marzluf (1980). Nitrogen Regulation of Acid Phosphatase in *Neurospora Crassa*. *Journal of Bacteriology*, Mar. 1980, Vol. 141, No. 3. p. 1470-1473.
- Harder, W. and L. Dijkhuizen (1983). Physiological responses to nutrient limitation. *Annual Review of Microbiology* 37, 1–23.
- Haynes R. J. and R. S. Swift (1988). Effect of lime and phosphate additions on changes in enzyme activities, microbial biomass and levels of extractable nitrogen, sulphur and phosphorus in acid soil. *Biology and Fertility of Soils*, 6:2, 1988:153-158.
- Illmer, P. and E Schinner (1995). Solubilization of inorganic calcium phosphates-solubilization mechanisms. *Soil Biol. Biochem.* 27, 257-263.
- Jacovides, C. P. and H. Kontoyiannis (1995). Statistical procedures for the evaluation of evapotranspiration computing models. *Agric. Water Management*, 74: 87 - 97.
- Jha, D. K.; G. D. Sharma and R. R. Mishra (1993). Mineral nutrition in the tripartite interaction between *Frankia*, *Glomus* and *Alnus* at different soil phosphorus regimes. *New phytologist* Vol. 123, No (Feb.,1993), pp. 307-311.
- Jordan, D. and R.J. Kremer. (1994). Potential use of soil microbial activity as an indicator of soil quality. In: Pankhurst, C.E., Doube, B.M., Gupta, V.V.S.R. and Grace, P.R. (Eds.): *Soil biota: management in sustainable farming systems*, CSIRO Australia: 245 – 249.
- Kabat, P., B. Marshall, and B. J. van den Broek (1995). Comparison of simulation results and evaluation of parameterization schemes. In: *Modelling and Parameterization of the Soil-plant-atmosphere System. A Comparison of Potato Growth Models*, (eds.) P. Kabat, B. Marshall, B. J. van den Broek, J. Vos & H. van Keulen. Wageningen Pers, Wageningen, pp. 439-501.
- Kai M.; K. Takazumi, H. Adachi, J. Wasaki, T. Shinano and M. Osaki (2002). Cloning and characterization of four phosphate transporter cDNAs in tobacco. *Plant Sci.* 163: 837-846.
- Kandeler, E.; S. Palli, M. Stemmer and M.H. Gerzabek (1999). Tillage changes microbial biomass and enzyme activities in particle size fractions. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1253–1264.
- Karthikeyan, A. S.; D. K. Varadarajan, U. T. Mukatira, M. P. D'Urzo, B. Damaz and K. G. Raghobhama (2002). Regulated expression of Arabidopsis phosphate transporters. *Plant Physiol* 130:221–233.

- Katrina M. Miranda, Michael G. Espey and David A. Wink (2001). A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide-Biology And Chemistry - Nitric Oxide-Biol Chem*, Vol. 5, No. 1, pp. 62-71, 2001.
- Khuất Lê Uyên Vy (2012). Phân lập, tuyển chọn và nghiên cứu các chủng vi sinh vật đất có khả năng phân giải phosphate khó tan. Luận văn Thạc sĩ. Đại học Khoa học Tự nhiên. Thành phố Hồ Chí Minh.
- Kiriya Sungthongwises, Chuleemas Boonthai Iwai, Masayuki Matsuoka, Kouhei Ohnishi and Sota Tanaka (2012). Isolation of Phosphate-Solubilizing Bacteria from Different Fields Crop Productions. *IJERD – International Journal of Environmental and Rural Development* (2012) 3-1.
- Kızılkaya, R. and B. Bayraklı (2005). Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzyme activities. *Appl. Soil Ecol.* 30: 192-202.
- Lacramioara Opric, Zenovia Olteanu, Simona Isabela Dunca, Stefan Marius, Maria Magdalena Zamfirache (2011). The tillage effect on the soil acid and alkaline phosphatase activity. *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM XII, 2011.*
- Li D.; H. Zhu, K. Liu, X. Liu, G. Leggewie, M. Udvardi and D. Wang (2002). Purple acid phosphatases of *Arabidopsis thaliana*: comparative analysis and differential regulation by phosphate deprivation. *J Biol Chem* 277: 27772–27781.
- Meng Ling-Jun, Geng Zeng-chao, Yin Jin-yan, Wang Hai-tao and Ji Peng-fei (2012). Chemical properties and enzyme activities of rhizosphere and non-rhizosphere soils under six Chinese herbal medicines on Mt. Taibai of Qinling Mountains, Northwest China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, Vol. 23. Issue (10): 2685-2692.
- Miller S.S.; J. Liu, D.L. Allan, C.J. Menzhuber, M. Fedorova and C.P. Vance (2001) Molecular control of acid phosphatase secretion into the rhizosphere of proteoid roots from phosphorus-stressed white lupin. *Plant Physiol* 127: 594–606.
- Middleton, M.R., (2001). Sensitivity Analysis Using SensIt - Add-In for Microsoft Excel. Decision Support Services. San Francisco, CA 94115-2339. <http://www.treeplan.com>
- Moriasi, D. N.; J. G. Arnold, M. W. Van Liew, R. L. Bingner, R.D. Harmel, and T. L. Veith (2007). Model evaluation guidelines for systematic quantification of accuracy in watershed simulations, *Transactions of the ASABE* 50 (3), 885-900, 2007.
- Moscatelli, M. C. ; A. Lagomarsino, P. De Angelis, and S. Grego (2005). Seasonality of soil biological properties in a poplar plantation growing under elevated atmospheric CO<sub>2</sub>. *Appl. Soil Ecol.* 30: 162-173.
- Nautiyal, C.S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphorus solubilizing microorganisms. *FEMS Microbiol. Lett.* 170, 2017-2021.
- Ndiaye, E.L., J.M. Sandeno, D. McGrath, and R.P. Dick (2000). Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Alter. Agric.* 15, 26–36.
- Nguyễn Đức Lượng (2004). Công nghệ enzyme. Nhà xuất bản Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh.
- Olsen S.R. and L.E. Sommers (1982). Phosphorus. In: Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. 2nd ed. Agronomy Monograph No. 9. ASA and SSSA, Madison, WI, pp. 403-430.
- Phan Thị Công, Roel Merckx, Công Doãn Sát, Nguyễn Quang Chon và Nguyễn Bình Duy (2005). Báo cáo tổng kết 2000-2005. Làm giàu quỹ lân cho đất Đông Nam Bộ và Tây Nguyên. Nhà xuất bản Nông nghiệp - TP HCM. 170 trang.
- Pikovskaya, R.I. (1948). Mobilization of phosphorus in soil in the connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17: 362-370
- Rao, M.A., A. Violante and I. Gianfreda (2000). Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: Kinetics and stability. *Soil Biol. Biochem.*, 32:1007-1014, 2.
- Ratul Nath and R. Samanta (2012). Soil pH, microbial population, nitrate reductase and alkaline phosphatase activities of different environment of Dibrugarh district,

- Assam.Pelagia Research Library. *Advances in Applied Science Research*, 2012, 3 (3):1772-1775.
- Redel Y.D.; R. Rubio, J.L.Rouanet and F. Borie (2007): Phosphorus bioavailability affected by tillage and crop rotation on a Chilean volcanic derived Ultisol. *Geoderma*, 139: 388–396.
- Richardson A.E., P.J. Hocking, R.J. Simpson, and T.S. George (2009). Plant mechanisms to optimise access to soil phosphorus. *Crop and Pasture Science* 60, 124–143.
- Ridvan Kizilkaya, Fethi Bayrakli and Abdulkadir Sürücü (2007). Relationship between phosphatase activity and phosphorus fraction in agricultural soils. *International journal of Soil Science* 2 (2): 107-118, 2007.
- Scot, D.; F.E Hammer and T. J. Sczalkucki (1987). Bioconversion; Enzyme technology. In: *Food Biotechnology*. (Eds). D. Knorr. Marcel Dekker, Inc.
- Sinsabaugh, R.L. and D.L.Moorhead (1994). Resource allocation to extracellular enzyme production: a model for nitrogen and phosphorus control of litter decomposition. *Soil Biology & Biochemistry* 26, 1305–1311.
- Smith, J. L.; J. J. Halvorson and H. Jr. Bolton (2002). Soil properties and microbial activity across a 500 m elevation gradient in a semi-arid environment. *Soil Biol. Biochem.* 34: 1 749–1 757.
- Subba Rao, N.S., (1984) *Biofertilizers in agriculture*. Oxford and JBH Publ Co, New Delhi Bombay Calcutta.
- Tabatabai, M.A. (1994). Soil enzymes. In: Weaver, R.W., Angle, J.S., Bottomley, P.S. (Eds.), *Methods of Soil Analysis: Microbiological and Biochemical Properties*. Part 2. SSSA Book Ser. 5. SSSA, Madison, WI, pp. 775–833.
- Trollenier, G. (1996). Plate Count Technique. In *Methods in Soil Biology*. Ed. Franz Schinner, Ellen Kandeler, Richard Ohlinger, Rosa Margesin. Springer – Verlag berlin Heildeberg., pp. 20–26.
- Turner, B., Haygarth, P. (2005): Phosphatase Activity in Temperate Pasture Soils: Potential Regulation of Labile Organic Phosphorous Turnover by Phosphodiesterase Activity. - *Science of the Total Environment*. 344:37-6.
- Ulrich A., G. Klimke and S. Wirth (2008). Diversity and Activity of CelluloseDecomposing Bacteria, Isolated from a Sandy and a Loamy Soil after Long-Term Manure Application. *Microb Ecol.* 55:512–522.
- Verónica Acosta-Martínez, Leo Cruz, David Sotomayor-Ramírez, Luis Pérez-Alegria (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology* 35 (2007) 35–45.
- Wittmann, K.; A. M. Kahkinen, H. Iilvesniemi, J. Kurola, and M. S. Salkinojasa (2003). Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils, *Soil Biology and Biochemistry*, Vol. 36, Issue 3, pp. 425–433.
- Yu, S.; Z. L. He, P. J. Stoffella, D. V. Calvert, X. E. Yang, D. J. Banks and V. C. Baligar (2006). Surface runoff phosphorus (P) loss in relation to phosphatase activity and soil P fractions in Florida sandy soils under citrus production. *Soil Biology and Biochemistry* 38 (2006) 619–628.
- Zachary N. Senwo, Thilini D. Ranatunga, Irenus A. Tazisong, Robert W. Taylor and Zhongqi He (2007). Phosphatase activity of Ultisols and relationship to soil fertility indices. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.5 (1): 262-266. 2007.
- Zhang Y.L., L.J. Chen, C.X. Sun, Z.J. Wu, Z.H. Chen and G.H. Dong (2010): Soil hydrolase activities and kinetic properties as affected by wheat cropping systems of Northeastern China. *Plant, Soil and Environment*, 56: 526–532.