



فصلنامه علمی - پژوهشی گیاه و زیست بوم

سال ۹، شماره ۳۶، پاییز ۱۳۹۲

## فعالیت آنزیم‌ها و توده زنده میکروبی در ریزوسفر درختان ارس *Juniperus excelsa* دارای زادآوری و بدون زادآوری

عالمه باقری<sup>۱</sup>، محمد متینی‌زاده<sup>۲\*</sup>، یوسف ترا بیان<sup>۱</sup>، وحید همی<sup>۱</sup>

### چکیده

یکی از مشکلات اغلب رویشگاه‌های ارس در ایران کمبود زادآوری است که می‌تواند احیا و آینده‌ی این رویشگاه‌ها را با چالش روبرو سازد. پراکنش این زادآوری‌ها در زیر همه‌ی درختان یکسان نیست. خاک و اجزای آن سهم مهمی در شکل‌گیری آنها دارد. آنزیم‌های خاک را ریشه‌ی گیاهان و میکروارگانیسم‌ها تولید می‌کنند و می‌توانند با حضور در چرخه‌های مختلف غذایی سبب آزاد شدن و در دسترس قرار گرفتن عناصر تغذیه‌ای برای گیاهان و زادآوری‌ها شوند. این تحقیق برای بررسی نقش احتمالی آنزیم‌های خاک در ریزوسفر درختان دارای زادآوری ارس *Juniperus excelsa* و مقایسه‌ی آنها با خاک درختان بدون زادآوری در رویشگاه چهار باغ گرگان انجام شد. از خاک اطراف ریشه‌ی درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری نمونه‌برداری شد. پس از عصاره‌گیری، فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی، دهیدروژناز و اوره‌آز با استفاده از واکنش با سوبسترا و توده زنده میکروبی توسط اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیم‌ها و توده زنده میکروبی در ریزوسفر درختان دارای زادآوری از فعالیت آنها در گروه بدون زادآوری بیشتر است، که می‌تواند به دلیل وجود میکروارگانیسم‌های بیشتر از جمله قارچ‌های میکوریزی در ریشه‌ی درختان دارای زادآوری و جذب بهتر عناصر و مواد غذایی باشد.

واژه‌های کلیدی: ارس، آلکالین فسفاتاز، اسید فسفاتاز، دهیدروژناز، اوره‌آز، میکروارگانیسم

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گروه مهندسی جنگل، لاهیجان، ایران

۲- مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، بخش جنگل، تهران، ایران

\* مکاتبه کننده: (matini@rifr-ac.ir)

تاریخ پذیرش: بهار ۱۳۹۰

تاریخ دریافت: زمستان ۱۳۸۹

## مقدمه

ارس (*Juniperus*) از معدود سوزنی‌برگان در ایران محسوب شده که با داشتن ۶ گونه به صورت طبیعی و بومی مستقر شده که در بین آنها گونه *Juniperus excelsa* پراکنش وسیع‌تری دارد. این گونه در ارتفاعات در مرز جنگل و مرتع قرار می‌گیرد جایی که گونه‌های درختی دیگر قادر به استقرار نیستند. پایه‌های این گونه در شرایط زیستی تنش‌زا، از جمله در بسترهای کاملاً صخره‌ای و سنگ‌واریزه‌ای درحالی‌که پوشش رویی خاک فرسایش یافته، موجودیت خود را به هر صورت ممکن از جمله با تغییرات مورفولوژیک حفظ کرده‌اند (علی‌احمد کروری و خوشنویس، ۱۳۷۹).

دو عامل مهم زادآوری طبیعی نامناسب (ناشی از کیفیت و کمیت نامطلوب بذرها) و بستر نامناسب در برخی مناطق با نارسایی‌های اقلیمی مانند کاهش میزان بارندگی درهم‌آمیخته و به مرور احیای طبیعی جنگل‌های ارس را دچار اختلال کرده است (علی‌احمد کروری و خوشنویس، ۱۳۷۹). کمبود زادآوری می‌تواند احیا و آینده این رویشگاه‌ها را با چالش روبرو سازد. پراکنش این زادآوری‌ها در زیر همه درختان یکسان نیست. خاک و اجزای آن سهم مهمی در شکل‌گیری آنها دارد. خاک با داشتن جوامع متنوع میکروارگانیسمی بخش پیچیده‌ای از هر اکوسیستم را تشکیل داده و گیاهان نیز به نوبه خود ارتباط پیچیده‌ای را با این جوامع صورت می‌دهند. حضور و تأثیرات متقابل گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک سبب گردش چرخه‌های مواد غذایی، ترکیب میکروارگانیسم‌ها و بیوماس میکروبی می‌شوند. آنزیم‌های خاک از جمله ابزارهای مناسب برای بررسی توان زیستی خاک در شرایط مختلف هستند.

فسفات‌ها از آنزیم‌های کلیدی در چرخه فسفر خاک‌ها و شاخصی خوب برای توان معدنی‌شدن فسفر آلی و فعالیت بیولوژیک خاک‌ها هستند (Speir & Ross, Dick & Tabatabai, 1993; 1978). فسفات‌های خاک خارج سلولی بوده و توسط ریشه گیاهان و میکروارگانیسم‌ها ترشح می‌شوند (Antonietta Rao et al., 2000). فعالیت فسفات‌ها به خاک و وضعیت پوشش گیاهی (Herbien & Neal, 1990)، تغییرات انجام‌شده در اثر روش‌های مختلف مدیریتی (Adams, 1992; Clarholm, 1993) و رطوبت و دمای خاک (Speir & Cowling, 1991) بستگی دارد. دهیدروژنازها فقط در سلول‌های زنده میکروبی وجود دارند و از آن به‌عنوان یک شاخص فعالیت میکروبی استفاده می‌شود (Nannipieri et al., 1990; Dick, 1994) و می‌تواند مقیاس مناسبی برای اندازه‌گیری شدت متابولیسم میکروبی در خاک باشد (Tabatabai, 1982). اوره‌آز آنزیمی با منشأ میکروبی است که هیدرولیز ترکیبات آمیدی با منشأ حیوانی، گیاهی و میکروارگانیسمی را بر عهده دارد (Burns 1978, Frankenberg & Tabatabai 1991) اهمیت سنجش اوره‌آز به‌دلیل ارزیابی هیدرولازها در خاک است که می‌توانند در فرآیندهای تجزیه مؤثر باشند. توده زنده میکروبی خاک یک شاخص مهم برای میزان کیفیت مواد آلی خاک است (Jagdish et al., 2001; Lundquist et al., 1999) است. توده زنده میکروبی و سهم آن در تمرکز مواد غذایی در خاک‌های جنگلی توسط (Díaz-Ravina et al 1993) گزارش شده است. این تحقیق به‌منظور مقایسه فعالیت آنزیم‌های خاک در ریزوسفر درختان دارای زادآوری ارس *Juniperus excelsa* با درختان بدون زادآوری و

نمونه از الک ۲ میلی متری رد شد. با استفاده از واکنش آنزیم-سوبسترا و به دست آمدن محصول و به کمک اسپکتروفتومتر فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی بر حسب میکروگرم پارا نیترو فنل فسفات (pNP) در گرم خاک در طول موج ۴۰۰ نانومتر، دهیدروژناز بر حسب میکروگرم تری فنیل فورمازان (TPF) در طول موج ۵۴۶ نانومتر، اوره آز بر حسب  $\mu\text{g N/g.dm.2h}$  در طول موج ۶۹۰ نانومتر و توده زنده بر اساس  $\mu\text{g biomass-c/g.dm}$  خاک در طول موج ۵۷۰ نانومتر اندازه گیری شد (Ohlinger, 1996). پس از انجام مقایسه ها و تجزیه واریانس، طبقه بندی و مقایسه میانگین ها با روش t-test انجام شد.

### نتایج

مشخصات و ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک ریزوسفری در دو گروه مورد بررسی در جدول ۱ آورده شده است. pH خاک قلیایی و نوع بافت شن رس لومی است.

ارزیابی احتمالی تفاوت آنها و بررسی تأثیرات متقابل شان در رویشگاه چهار باغ گرگان انجام شد.

### مواد و روش ها

این تحقیق در رویشگاه ارس در چهارباغ گرگان انجام شده است. این رویشگاه در دامنه های شمالی البرز و در ۵۰ کیلومتری جنوب شهرستان گرگان با مختصات جغرافیایی  $38^{\circ} 29' N$  و  $11^{\circ} 31' E$  و در ارتفاع ۲۲۷۰ متر از سطح دریا واقع شده است. متوسط بارندگی سالانه ۳۰۵ میلی متر بوده که بیشترین بارندگی در ماه بهمن با ۴۴/۲ میلی متر و کمترین بارندگی در تیر ماه با ۱۲/۶ میلی متر است. کمترین درجه حرارت ماهانه مربوط به بهمن ماه معادل ۲/۸- درجه سانتی گراد و بیشترین درجه حرارت متوسط ماهانه مربوط به مردادماه معادل ۱۷/۳ درجه سانتی گراد است. نمونه برداری در اواخر بهار از عمق ۰-۲۰ سانتی متر در اطراف ریشه درخت دارای زادآوری و بدون زادآوری در ۵ تکرار انجام شد. نمونه ها در دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل و در آنجا هر

جدول ۱- مشخصات و ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک ریزوسفر در دو گروه دارای زادآوری و بدون زادآوری

محل نمونه برداری	بافت	اسیدیته	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	ماده آلی (%)	کربن (%)	نیترژن (%)
دارای زادآوری	SCL	۸/۵۵	۹/۱	۳۳۵	۲/۲۲	۱/۰۵	۰/۱۵
بدون زادآوری	SCL	۸/۴۵	۷/۱	۳۱۵	۲/۰۵	۱/۰۱	۰/۱۳

(جدول ۲). فعالیت در گروه دارای زادآوری بیشتر از گروه بدون زادآوری بود. این فعالیت در گروه دارای زادآوری  $459/72 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  و در گروه بدون زادآوری  $311/42 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  بود (شکل ۱).

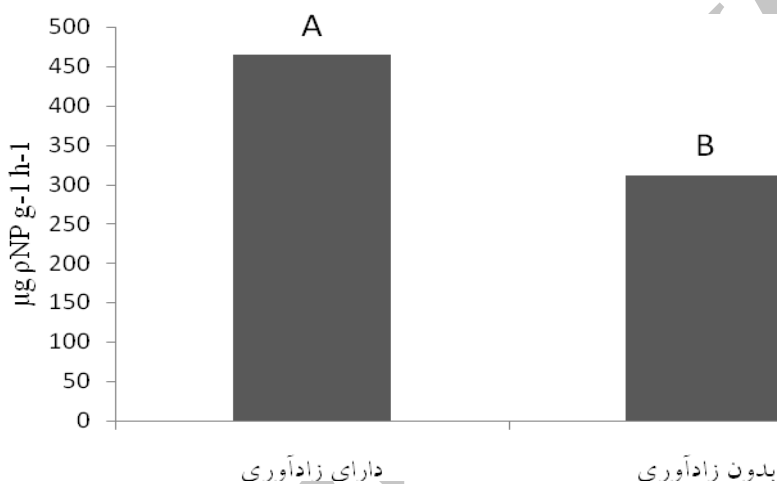
### فعالیت اسید فسفاتاز در ریزوسفر دو گروه

#### دارای زادآوری و بدون زادآوری

در ریزوسفر دو گروه دارای زادآوری و بدون زادآوری در سطح احتمال ۰/۰۱ تفاوت معنی داری ( $P < 0/01$ ) در فعالیت آنزیم فسفاتاز وجود داشت

جدول ۲- آزمون t-test فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ( $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری محل‌های آزمون‌شده در سطح ۱ درصد

گروه	میانگین	استاندارد انحراف از معیار	درجه آزادی	فاصله اطمینان در سطح ۹۹٪		t محاسبه‌شده	سطح معنی‌داری
				حد پایین	حد بالا		
بدون زادآوری	۳۱۱/۴۲	۳۵/۴۹	۸	۶۶/۴۶	۲۳۰/۱۳	۴/۱۸	۰/۰۰۳
دارای زادآوری	۴۵۹/۷۲						



شکل ۱- فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز ( $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری. حروف انگلیسی تفاوت سطوح معنی‌داری را نشان می‌دهند.

زادآوری وجود دارد (جدول ۳). خاک دارای زادآوری بیشترین فعالیت را دارا بود. فعالیت در گروه دارای زادآوری  $1016/50 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  و در گروه بدون زادآوری  $811/80 \mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$  بود (شکل ۲).

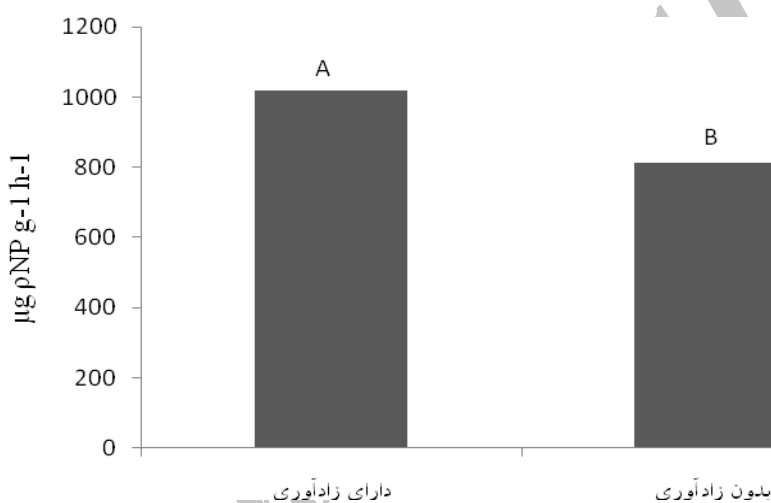
### فعالیت آلکالین فسفاتاز در دو گروه دارای

#### زادآوری و بدون زادآوری

نتایج آزمون t-test نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) در فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز میان دو گروه دارای زادآوری و بدون

جدول ۳- آزمون t-test فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ( $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری در سطح ۵ درصد

گروه	میانگین	انحراف از معیار	استاندارد	درجه آزادی	فاصله اطمینان در سطح ۹۵٪		t محاسبه شده	سطح معنی داری
					حد پایین	حد بالا		
بدون زادآوری	۸۱۱/۸۰	۷۱/۸۲	۸	۳۹/۰۷	۳۷۰/۳۱	۲/۸۵	۰/۰۲۱	
دارای زادآوری	۱۰۱۶/۵۰							



شکل ۲- فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز ( $\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری. حروف انگلیسی تفاوت سطوح معنی داری را نشان می‌دهند.

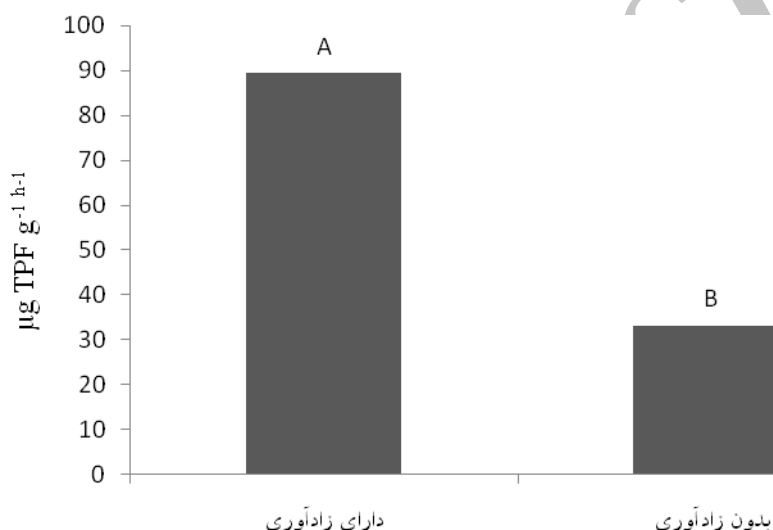
زادآوری وجود دارد (جدول ۴). بیشترین فعالیت در گروه دارای زادآوری وجود داشت (شکل ۳). فعالیت در گروه دارای زادآوری  $89/33 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$  و در گروه بدون زادآوری  $33/25 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$  بود.

### فعالیت دهیدروژناز در دو گروه دارای زادآوری و بدون زادآوری

نتایج آزمون t-test نشان می‌دهد که به احتمال ۹۵٪ تفاوت معنی داری ( $P < 0/05$ ) بین فعالیت آنزیم دهیدروژناز در دو گروه دارای زادآوری و بدون

جدول ۴- آزمون t-test فعالیت آنزیم دهیدروژناز ( $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری در سطح ۵ درصد

گروه	میانگین	استاندارد انحراف از معیار	درجه آزادی	فاصله اطمینان در سطح ۰.۰۵٪		t محاسبه شده	سطح معنی داری
				حد بالا	حد پایین		
بدون زادآوری	۳۳/۲۵	۱۶/۹۳	۸	۹۵/۱۹	۱۷/۵۰	۳/۳۱	۰/۰۱۱
دارای زادآوری	۸۹/۳۳						



شکل ۳- فعالیت آنزیم دهیدروژناز ( $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری. حروف انگلیسی تفاوت سطوح معنی داری را نشان می‌دهند.

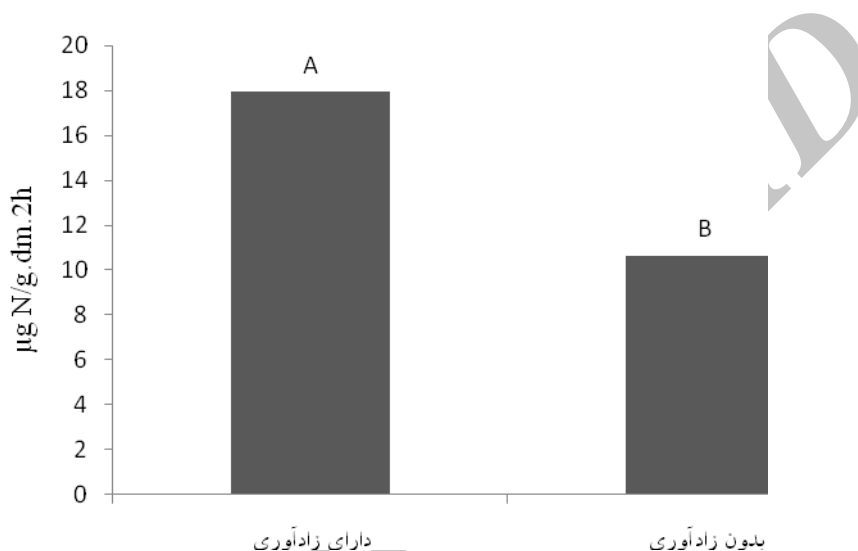
میزان فعالیت را دارا بود. این گروه‌ها در دو سطح جداگانه (A,B) قرار دارند ( شکل ۴). فعالیت در گروه دارای زادآوری  $17/93 \mu\text{g N/g.dm.2h}$  و در گروه بدن زادآوری  $10/64 \mu\text{g N/g.dm.2h}$  بود.

#### فعالیت اوره‌آز در دو گروه دارای زادآوری و بدون زادآوری

در فعالیت اوره‌آز اختلاف در سطح  $0/05$  معنی دار است (جدول ۵). گروه دارای زادآوری بیشترین

جدول ۵- نتایج آزمون t-test فعالیت آنزیم اوره آز (  $\mu\text{g N/g.dm.2h}$  ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری در سطح ۵ درصد

گروه	میانگین	استاندارد انحراف از معیار	درجه آزادی	فاصله اطمینان در سطح ۹۵٪		t محاسبه شده	سطح معنی داری
				حد بالا	حد پایین		
بدون زادآوری	۱۰/۶۴	۲/۶۳	۸	۱۳/۳۵	۱/۲۲	۲/۷۷	۰/۰۲۴
دارای زادآوری	۱۷/۹۳						



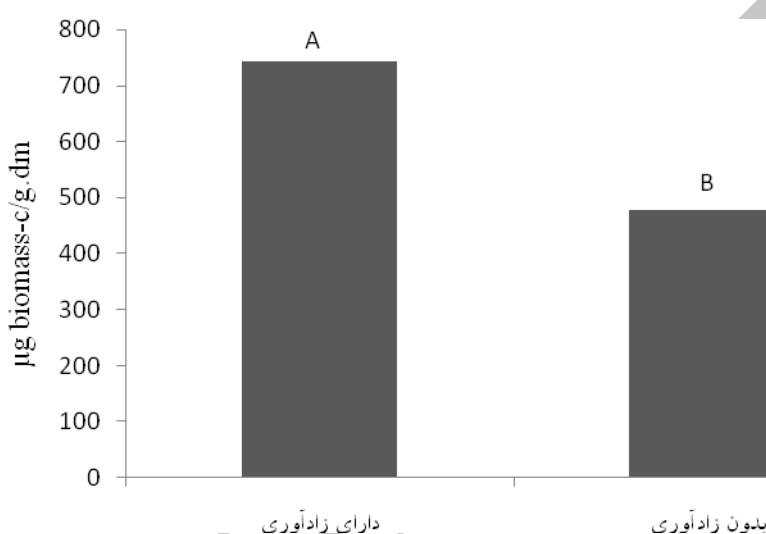
شکل ۴- فعالیت آنزیم اوره آز ( $\mu\text{g N/g.dm.2h}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری. حروف انگلیسی تفاوت سطوح معنی داری را نشان می‌دهند.

۰/۰۵ است (جدول ۶). نمونه‌های ریزوسفری دارای زادآوری بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم را دارا هستند (سطح A). گروه بدون زادآوری کم‌ترین فعالیت را نشان داده‌اند (سطح B). (شکل ۵).

**فعالیت توده زنده میکروبی در دو گروه دارای زادآوری و بدون زادآوری**  
 آزمون t-test در فعالیت توده زنده میکروبی نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی دار در سطح احتمال

جدول ۶- نتایج آزمون t-test فعالیت توده زنده میکروبی ( $\mu\text{g biomass-c/g.dm}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری در سطح ۵ درصد

گروه	میانگین	انحراف از معیار	درجه آزادی	فاصله اطمینان در سطح ۹۵٪		t محاسبه شده	سطح معنی داری
				حد بالا	حد پایین		
بدون زادآوری	۴۷۸/۰۵	۵۵/۰۸	۸	۳۹۱/۴۷	۱۳۷/۴۳	۴/۸۰	۰/۰۰۱
دارای زادآوری	۷۴۲/۵۰						



شکل ۵- فعالیت توده زنده میکروبی ( $\mu\text{g biomass-c/g.dm}$ ) در نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری. حروف انگلیسی تفاوت سطوح معنی داری را نشان می‌دهند.

می‌دهند که درختانی که دارای زادآوری هستند از توان ریشه‌ای بالاتری برخوردار بوده و اسید فسفاتاز بیشتری را درون ریزوسفر ترشح کرده‌اند که با یافته‌های *Renella et al* (2006) مطابقت می‌نماید. می‌توان تفاوت ژنوتیپی پایه‌های ارس را دلیلی آشکار در این خصوص دانست. اما بالاتر بودن آلکالین فسفاتاز در ریزوسفر درختانی که دارای زادآوری بودند وجود میکروارگانیسم‌های بیشتر و شاید قارچ‌های میکوریزی بیشتر را نشان می‌دهد (*Benziri & Amiaud, 2005; Renella et al.,* )

### بحث و نتیجه‌گیری

گیاهان و ریشه آنها منشأ تولید اسید فسفاتازها (Tabatabai, 1994) و میکروارگانیسم‌ها و فون خاک منابعی برای آزادسازی آلکالین فسفاتازها هستند (*Findenegg & Neiemans, 1993*). فعالیت اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز در گروه ریزوسفری دارای زادآوری و بدون زادآوری با یکدیگر تفاوت معنی داری دارند که این فعالیت در گروه دارای زادآوری بیشتر از گروه بدون زادآوری است. یافته‌های ما نشان



زادآوری بود. باید ذکر کرد که توده زنده میکروبی سهم مهمی در تمرکز مواد غذایی در خاک‌های جنگلی دارد. دلیل این افزایش فعالیت وجود مواد غذایی، مواد آلی و کربن مورد نیاز در محیط ریزوسفری درختان دارای زادآوری می‌باشد. ریشه‌ها معمولاً با خاک اطراف خود حاوی مقدار زیادی باکتری می‌باشد که رابطه همزیستی با ریشه گیاه دارند که باعث افزایش عناصر غذایی خاک می‌شود. نتیجه‌ای که Youssef & Chino (1987) به آن دست یافتند.

Lee *et al* (2006) معتقد است در جایی که زادآوری وجود دارد فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه آنزیم‌ها بیشتر است زیرا میزان مناسب مواد آلی وجود خواهد داشت. طوری که هرچه مواد آلی خاک (تاحدی) افزایش یابد ارگانیسم‌های آن زیاد شده و خاک به دلیل تولید هوموس، معدنی‌شدن، گردش سریع عناصر غذایی، جذب عناصر غذایی توسط گیاهان به خصوص در مورد فسفر، حاصلخیزتر خواهد بود.

بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در ایجاد زادآوری‌ها در زیر برخی درختان ارس ژنوتیپ آنها مؤثر بوده است و به احتمال وجود برخی میکروارگانیسم‌ها در ریزوسفر درختان دارای زادآوری کمک کرده است تا چرخه تبدیل مواد آلی به معدنی سرعت گرفته و عناصر غذایی مناسب و مطلوب در اختیار زادآوری‌ها قرار بگیرد. پس از شکل‌گیری زادآوری‌ها، تأثیرات متقابل آنها بر میکروارگانیسم‌ها سبب پایداری بیشتر و حفظ شرایط مطلوب برای هر دو گروه زادآوری‌ها و میکروارگانیسم‌ها شده است.

(2006). تحقیقات انجام‌شده در دنیا ( Sarkina, ) (1988) و ایران (متینی‌زاده و همکاران، ۱۳۸۴) نشان داده بودند که جنس *Juniperus* دارای همزیستی میکوریزی است. این قارچ‌ها همزیست‌های مفیدی برای گیاهان بوده و در ترشح فسفات‌های قلیایی و نیز تحریک ریشه‌ها برای ترشح اسید فسفاتاز آنها نقش دارند (Roncadori & Pokorni, 1982). در ریزوسفر درختان دارای زادآوری فعالیت دهیدروژنازی بیشتری مشاهده شد. این آنزیم که منشأ گرفته از میکروارگانیسم‌ها است نشان‌دهنده سطح تبادل مواد معدنی و آلی بین ریشه و خاک است. وقتی فعالیت دهیدروژناز بیشتر است باید انتظار داشت که فراوانی میکروارگانیسم‌ها بیشتر باشد که این یافته‌ها با نتایج Hu *et al* (2006) مطابقت دارد.

همچنین نتایج ما نشان داد که در فعالیت اوره‌آز نیز بین نمونه‌های ریزوسفری درختان دارای زادآوری و بدون زادآوری اختلاف معنی‌دار وجود داشته و در گروه دارای زادآوری فعالیت بیشتر است. میکروارگانیسم‌ها منشأ این آنزیم هستند. به‌نظر می‌رسد که وجود کربن، نیتروژن و سایر مواد غذایی کافی در ریزوسفر درختان دارای زادآوری سبب تحریک فعالیت میکروبی و افزایش فعالیت آنزیمی می‌شود. میزان و نوع ترشحات ریشه و بهبود شرایط فیزیکی و تهویه خاک در محیط اطراف ریشه (ریزوسفر) از عوامل دیگر در افزایش فعالیت آنزیم در خاک‌های مورد مطالعه است که با یافته‌های Siddiqui *et al* (2001) مطابقت دارد.

سرانجام فعالیت توده زنده میکروبی هم در ریزوسفر درختان دارای زادآوری بیش‌تر از بدون

## منابع

- علی احمد کروری، س. و م. خوشنویس. ۱۳۷۹. مطالعات اکولوژی و زیست محیطی رویشگاه‌های ارس ایران، انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، ۲۰۸ صفحه.
- متینی زاده، م.، م. تیموری، م. خوشنویس، و م. ح. قاسمی. ۱۳۸۹. مطالعه تأثیر تاج پوشش و فصل نمونه برداری بر فعالیت آنزیم‌های خاک در چند رویشگاه ارس ایران، فصلنامه جنگل و صنوبر.
- Adams, M.A.** 1992. Phosphatase activity and phosphorus fractions in Karri (*Eucalyptus diversicolor* F. Muell.) forest soils. *Biology Fertility Soil*, 14: 200-204.
- Aikio, S., and A.S. Ruotsalainen.** 2002. The model growth of mycorrhizal and non- mycorrhizal plants under constant versus variable soil nutrient concentration. *Mycorrhiza* 12: 257-261.
- Antonietta Rao, M., A. Violante, and L. Gianfreda.** 2000. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability. *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 1007-1014.
- Benizri, E., and B. Amiaud.** 2005. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*, 37, 2055-2064.
- Burns, R.G.** 1978. Extraction and study of soil enzymes metabolizing tryptophan. *Plant and Soil*, 34: 25-31.
- Clarholm, M.** 1993. Microbial biomass P, labile P and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest, after repeated additions of fertilizers. *Biology Fertility Soil*, 16: 287-292.
- Díaz-Ravín, M., M.J. Acea, and T. Carballas.** 1993. Microbial biomass and its contribution to nutrient concentrations in forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 25: 25-31.
- Dick, W.A., and M.A. Tabatabai.** 1993. Significance and potential uses of soil enzymes. *In: Metting, F.B. (Ed.), Soil Microbial Ecology: Application in Agricultural and Environmental Management.* Marcel Dekker, New York: 95-125.
- Findenegg, G.R., and J.A. Neimans.** 1993. The effect of phytase on the availability of P from myo-inositol hexaphosphate (phytate) for maize roots. *Plant and Soil*, 154 (2) 189-196.
- Herbien, S.A., and J.L. Neal.** 1990. Soil pH and phosphatase activity. *Communications in Soil Science Sci and Plant Analysis*, 21: 439-456.
- Hu, Y.L., S.L. Wang, and D.H. Zeng.** 2006. Effects of single Chinese fir and mixed leaf litters on soil chemical, microbial properties and soil enzyme activities. *Plant and Soil*, 282: 379-386.
- Jagdish, C.T., S.C. Meena and S. Kathju.** 2001. Influence of straw size on activity and biomass of soil microorganisms during decomposition. *European Journal Soil Biology*, 37: 157-160.

- Lundquist, E.J., L.E. Jackson, K.M. Scow, and C. Su.** 1999. Changes in microbial biomass and community composition, and soil carbon and nitrogen pools after incorporation of rye into three California agricultural soils. *Soil biology and biochemistry*, 31: 221–236.
- Nannipieri, P., S. Grego, and B. Ceccanti.** 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *In: Bollag, JM, Stotzky G (Eds). Soil Biochemistry. Vol.6. Marcel Dekker, New York: 293–355.*
- Ohlinger, R.** 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate p-nitrophenyl phosphate. *In: Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R., Margesin, R. (Eds) Methods in soil biology. Springer-Verlag Berlin: 210-214.*
- Ohlinger, R.** 1996. Dehydrogenase Activity with the Substrate TTC. *In: Schinner, F., Kandeler, E., Ohlinger, R., and R. Margesin. (Eds) Methods in soil biology. Springer-Verlag Berlin: 240-243.*
- Renella, G., L. Landi, J. Ascher, M.T. Ceccherini, G. Pietramellara, and P. Nannipieri.** 2006. Phosphomonoesterase production and persistence and composition of bacterial communities during plant material decomposition in soils with different pH values. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 795–802.
- Roncadori, R., and F. Pokorny.** 1982. Growth of *Juniperus chinensis* var. *sargentii* as influenced by vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil fertility. *Hortscience*, 17(6), 917 – 918.
- Sarkina, I.** 1988. Dependence of the inoculation potential of the soil on the ecological conditions and species affinity of the higher plant. *In: Molchanov, E. F. (ed.) effects of anthropogenic changes in the environment on terrestrial and marine ecosystems of the crimea. Sbornik Nauchnykh Trudov Gosudarstvennyi Nikitskii Sad., 104, 62 - 72.*
- Siddiqui, S., and W.A. Adams.** 2001. The fate of diesel hydrocarbons in soils and their effect on the germination of Perennial Ryegrass. *Environ Pollut* 118: 49-62.
- Speir, T.W., and J.C. Cowling.** 1991. Phosphatase activities of pasture plants and soils: relationship with plant productivity and soil P fertility indices. *Biology and Fertility of Soils*, 12 :189-194.
- Speir, T.W., and D.J. Ross.** 1978. Soil phosphatase and sulfatase. *In: Burns RG (ed) Soil enzymes. Academic Press, London, pp: 197-250.*
- Tabatabai, M.A.** 1982. Soil enzymes. *In: Page, A.L., Miller, R.H. and Keeney, D.R. (Eds.) Methods of Soil Analysis Part 2. 2nd ed. Agronomy 9, American Society of Agronomy, Madison Wis: 903-947.*
- Yadav, R.S., and J.C. Tarafdar.** 2003. Phytase and phosphatases producing fungi in arid and semi-arid soils and their efficiency in hydrolyzing different organic P, *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 745–751.
- Youssef, R.A., and M. Chino.** 1987. Studies on the behavior of nutrients in the rhizosphere. Establishment of a new rhizobox system to study nutrient status in the rhizosphere. *J Plant Nutr* 10:1185–1195.