

LICZEBNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW PROTEOLITYCZNYCH ORAZ AKTYWNOŚĆ RESPIRACYJNA ZASIARCZONEJ GLEBY PŁOWEJ WZBOGACONEJ GNOJOWICĄ

S. Jezierska-Tys

Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Akademia Rolnicza
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Streszczenie: Badania przeprowadzono w doświadczeniu modelowym na glebie płowej wytworzonej z piasku gliniastego mocnego. Celem pracy było zbadanie wpływu dawki 500 kg S ha⁻¹ r⁻¹ na liczebność bakterii i grzybów proteolitycznych, aktywność respiracyjną i dehydrogenazową w glebie płowej wzbogaconej gnojowicą (60 m³ · ha⁻¹ · r⁻¹). Przeprowadzone badania wykazały, że zastosowane zasilanie z równoczesnym wzbogaceniem gleby gnojowicą wpływało stymulująco na liczebność bakterii proteolitycznych. Na liczebność grzybów proteolitycznych istotny hamujący wpływ miała tylko dawka kwaśnego opadu. Aktywność respiracyjna gleby płowej nie wykazywała różnic między badanymi obiektami doświadczalnymi. Aktywność dehydrogenazowa gleby zasilanej i wzbogaconej gnojowicą była najwyższa i istotnie różniła się od pozostałych obiektów doświadczalnych.

Słowa kluczowe: bakterie proteolityczne, grzyby proteolityczne, aktywność respiracyjna, aktywność dehydrogenaz.

WSTĘP

Jednym z głównych czynników antropogenicznych wpływających na zakwaszenie środowiska glebowego jest emisja związków siarki. Pomimo znacznej redukcji emisji dwutlenku siarki w ostatnich latach w Polsce, ten czynnik pozostaje nadal największym źródłem jonów wodorowych w glebie [2, 4].

Zakwaszenie gleb powoduje szereg zmian w ich właściwościach chemicznych i fizykochemicznych [1, 6], a te mają zasadniczy wpływ na żyjące w nich grupy mikroorganizmów oraz na ich aktywność biochemiczną [7, 11].

Dotychczas prowadzone badania w Katedrze Mikrobiologii Rolniczej wskazywały na pozytywne oddziaływanie gnojowicy bydłowej na procesy mikrobiologiczne w glebach poddanych zróżnicowanemu zaszaczeniu, wydawało się zatem celowe zbadanie wpływu stosowanej w praktyce dawki na liczebność mikroorganizmów proteolitycznych, aktywność dehydrogenaz oraz intensywność wydzielenia CO₂ w glebie płowej wzbogaconej gnojowicą.

MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone w doświadczeniu modelowym na glebie płowej wytworzonej z piasku gliniastego mocnego. Podstawową charakterystykę gleby przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Podstawowa charakterystyka gleby użytej w doświadczeniu
Table 1. General characteristics of soil used in experiment

Wyszczególnienie	Gleba płowa
Skład granulometryczny:	
- 1,0–0,1 mm %	65
- 0,1–0,02 mm %	19
- <0,02 mm %	16
Odczyn, pH _{KCl}	4,75
Kwasowość hydrolityczna, mmol ⁺ kg ⁻¹	3,78
C organiczny	0,93
N całkowity, %	0,037
N ogólny, %	0,036
Glin ruchomy, mmAl ⁺⁺⁺ kg ⁻¹	1,92
S siarczanowa, mg S kg ⁻¹	0,98
S ogólna, %	0,014
P ₂ O ₅ mg 100 g ⁻¹	5,3
K ₂ O mg 100 g ⁻¹	8,66

Próbki glebowe pobierano z głębokości 0–20 cm, dokładnie mieszano i przesiewano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Glebę stopniowo nawilżano wnosząc dawkę „kwaśnego opadu”, w ilości 500 kg S · ha⁻¹ · r⁻¹ z taką objętością wody, aby wilgotność jej po zakończeniu deszczowania była na poziomie 60% całkowitej pojemności wodnej. Materiał glebowy inkubowano w naczyniach szklanych

o pojemności 1000 cm^3 , w temperaturze $20 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$, utrzymując stałą ich wilgotność. Każdą serię doświadczalną założono w trzech powtórzeniach.

Schemat doświadczenia był następujący:

1. gleba kontrolna (g_1)
2. gleba + $500 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$ (g_2)
3. gleba + gnojowica ($60 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$) (g_3)
4. gleba + gnojowica ($60 \text{ m}^3 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$) + $500 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$ (g_4)

Zastosowana do doświadczenia gnojowica bydłęca zawierała: 12,4 % substancji organicznej, 0,26 % P_2O_5 , 0,82 % K_2O oraz 0,47 % azotu ogółem.

Okresowe analizy obejmowały oznaczenia:

- liczebności bakterii proteolitycznych [12]
- liczebności grzybów proteolitycznych na pożywce z dodatkiem żelatyny [9]
- aktywności dehydrogenaz metodą Thalmanna [14]
- wydzielania CO_2 metodą Rulinga i Tylera [13]
- pH_{KCl} – potencjometrycznie

Okresowe analizy przeprowadzono po 3, 15, 30, 60, 90 i 120 dniach inkubacji gleby.

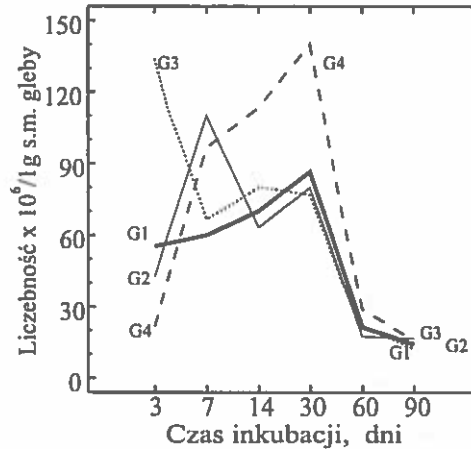
Wyniki badań opracowano statystycznie stosując metodę wariancji z zastosowaniem przedziałów ufności Tukey'a. Zależności między badanymi czynnikami oceniano metodą interakcji.

WYNIKI

Okresową liczebność bakterii proteolitycznych w badanych kombinacjach glebowych przedstawia Rys. 1. Wzbogacenie gleby płowej gnojowicą spowodowało krótkotrwały wzrost badanych bakterii. W glebie zasiarzonej i wzbogaconej gnojowicą w początkowej fazie doświadczenia zanotowano najniższą liczebność bakterii proteolitycznych, lecz w czasie trwania inkubacji gleby nastąpił wyraźny wzrost tej grupy bakterii powyżej wartości uzyskiwanych w kontroli. Różnica między średnią liczebnością bakterii w tej kombinacji a kontrolą była istotna (Rys.2).

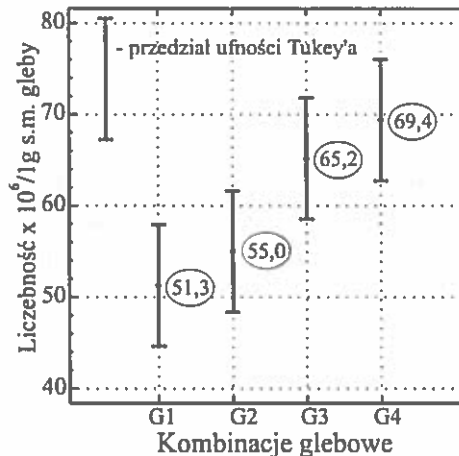
Liczebność grzybów w poszczególnych okresach analiz ilustruje Rys. 3. W glebie z zastosowanym zasiarzeniem i glebie wzbogaconej gnojowicą z dawką $500 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$ liczebność grzybów była niższa niż w kontroli. Zastosowane zasiarzenie wpłynęło istotnie na zmniejszenie badanej liczebności w porównaniu

z kontrolą (Rys. 4). W przeciwieństwie do reakcji bakterii wzbogacenie gleby płowej zastosowaną dawką gnojowicy nie miało istotnego wpływu na liczebność grzybów proteolitycznych (Rys. 2 i 4).



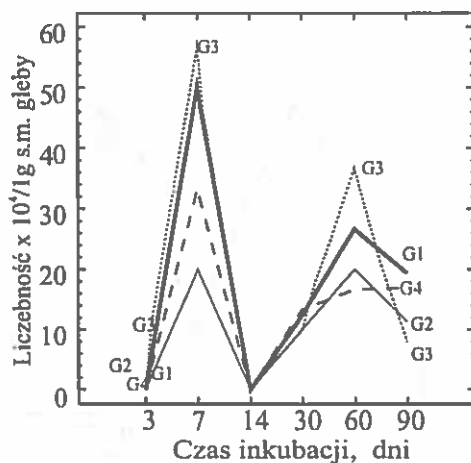
Rys. 1. Liczebność bakterii proteolitycznych w czasie inkubacji w poszczególnych kombinacjach gleby: G1 – gleba kontrolna, G2 – gleba + 500 kg S · ha⁻¹ · r⁻¹, G3 – gleba + gnojowica 60 m³ · ha⁻¹ · r⁻¹, G4 – gleba + gnojowica 60 m³ · ha⁻¹ · r⁻¹ + 500 kg S · ha⁻¹ · r⁻¹.

Fig. 1. Mean population of proteolytical bacteria during incubation of particular soil combinations: G1 – soil (control), G2 – soil +250 kg S · ha⁻¹ · r⁻¹, G3 – soil + slurry 60 m³ · ha⁻¹ · r⁻¹, G4 – soil +250 kg S · ha⁻¹ · r⁻¹ + slurry 60 m³ · ha⁻¹ · r⁻¹.



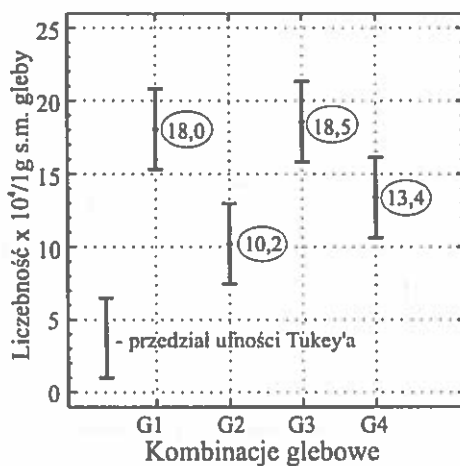
Rys. 2. Średnie liczebności bakterii proteolitycznych w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 2. Mean population of proteolytical bacteria in particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).



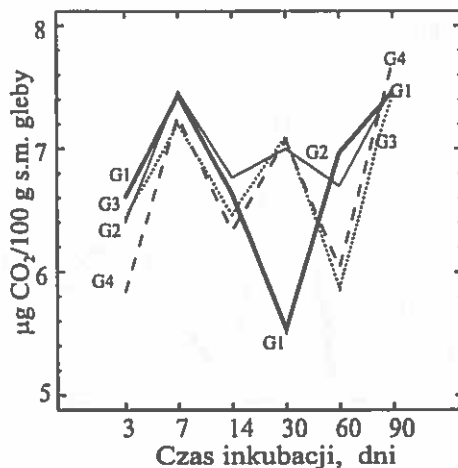
Rys. 3. Liczebność grzybów proteolitycznych w czasie inkubacji w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 3. Population of proteolytical fungi during incubation of particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).



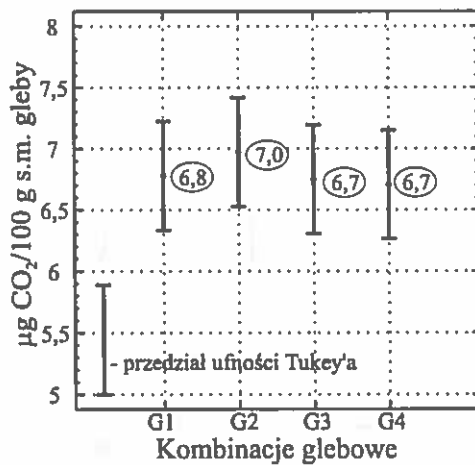
Rys. 4. Średnie liczebności grzybów proteolitycznych w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 4. Mean population of proteolytical fungi in particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).



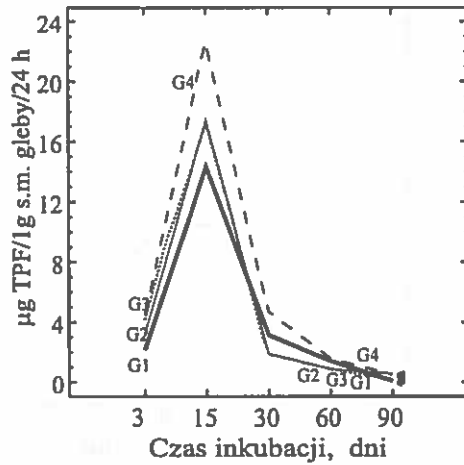
Rys. 5. Aktywność oddechowa w czasie inkubacji w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys. 1).

Fig. 5. Respiratory activity during incubation of particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).



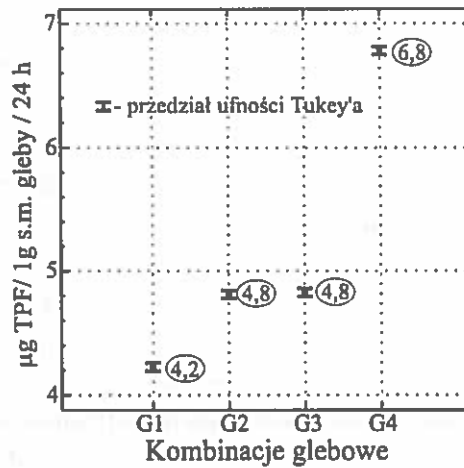
Rys. 6. Średnie aktywności oddechowe badanych kombinacji glebowych (oznaczenia jak na Rys. 1)

Fig. 6. Mean respiratory activity in soil combinations studied (symbols as on Fig. 1).



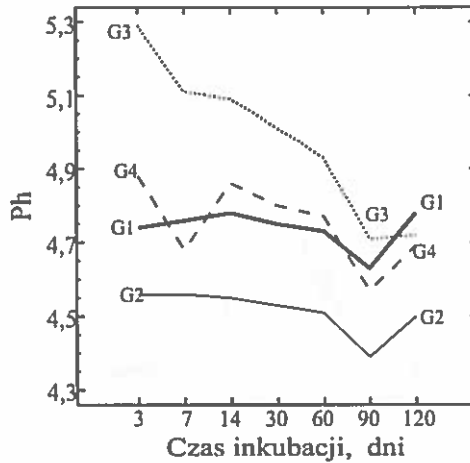
Rys. 7. Aktywność dehydrogenaz w czasie inkubacji w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 7. Dehydrogenase activity during incubation of particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).



Rys. 8. Średnie aktywności dehydrogenaz w czasie inkubacji w poszczególnych kombinacjach glebowych (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 8. Mean dehydrogenase activity in soil combinations studied (symbols as on Fig. 1).



Rys. 9. Ph gleby w poszczególnych kombinacjach doświadczenia w czasie inkubacji (oznaczenia jak na Rys.1).

Fig. 9. Reaction of soil (pH) during incubation of particular soil combinations (symbols as on Fig. 1).

Aktywność oddechową badanych kombinacji glebowych mierzona ilością wydzielonego CO_2 ilustruje Rys. 5 i 6. Uwagę zwraca wzrost aktywności oddechowej w 30 dniu inkubacji gleby zasilanej, wzbogaconej gnojowicą bez zasilania oraz gnojowicą z $500 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$ powyżej wartości uzyskanej w kontroli. Natomiast po 60 dniach doświadczenia nastąpił spadek tej aktywności w wyżej wymienionych kombinacjach poniżej wartości kontrolnej. Okresowe wahania aktywności respiracyjnej nie wpłynęły jednakże istotnie na średnią ilość wydzielonego CO_2 z poszczególnych kombinacji glebowych (Rys. 6).

Wpływ zastosowanej dawki zasilającej oraz gnojowicy na aktywność dehydrogenaz ilustruje Rys. 7 i 8. Oddziaływanie gnojowicy, przy równoczesnym zasilaniu gleby płowej wpłynęło dodatnio na aktywność dehydrogenazową tej gleby. Wzbogacenie gleby gnojowicą również spowodowało wzrost badanej aktywności, lecz w mniejszym stopniu. Średnia wartość dehydrogenaz w tej kombinacji była taka sama jak w glebie zasilanej dawką $500 \text{ kg S} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{r}^{-1}$. Dodatni wpływ gnojowicy obserwowali również inni autorzy [3, 5, 8, 10]. Przeprowadzone badania własne wskazują, że pozytywne dodatnie oddziaływanie gnojowicy było spotęgowane równoczesnym zasilaniem. Aktywność dehydrogenazowa w tej kombinacji była najwyższa i istotnie różniła się od pozostałych (Rys. 8). Można

przypuszczać, że zastosowane zasilanie i towarzyszące temu zakwaszenie gleby (Rys. 9) mogło spowodować częściową hydrolizę materii organicznej uwalniając substraty łatwiej wykorzystywane w procesie oddychania mikroorganizmów.

WNIOSKI

1. Na liczebność bakterii proteolitycznych, istotny stymulujący wpływ miała dawka zasilania ($500 \text{ kg S ha}^{-1} \text{ r}^{-1}$) z równoczesnym wzbogaceniem gleby płowej gnojowicą.
2. Zastosowana dawka kwaśnego opadu wpłynęła ograniczająco na liczebność grzybów w glebie płowej, a dodanie gnojowicy nie znosiło tego wpływu.
3. Aktywność dehydrogenazowa gleby okazała się czułym wskaźnikiem reagującym zarówno na zastosowane zasilanie i wprowadzone „nawożenie” organiczne w postaci gnojowicy bydlęcej.
4. Aktywność oddechowa gleby mierzona ilością wydzielonego CO_2 nie wykazywała różnic między badanymi obiektami doświadczalnymi.

PIŚMIENNICTWO

1. Dechnik I., Gliński J., Kaczor A., Kern H.: Rozpoznanie wpływu kwaśnych deszczy na glebę i roślinę. Probl. Agrofizyki 60, Instytut Agrofizyki w Lublinie, 1990.
2. Filipek T.: Dynamika antropogenicznych przyczyn oraz skutków zakwaszenia gleb w Polsce. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 456, 7–12, 1998.
3. Gostkowska K., Woytowicz B., Szember A., Furczak J., Jezierska-Tys St., Jaśkiewicz W.: Wpływ różnych środków użyźniających na aktywność mikrobiologiczną gleby piaszczystej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln. z. 370 75–84, 1989.
4. GUS: Stan i ochrona środowiska 1999. Warszawa, 1999.
5. Jezierska-Tys S.: Wpływ nawożenia gnojowicą świeżą oraz jej formami przetworzonymi na aktywność enzymatyczną i nasilenie procesów biologicznych gleby biellicowej. Ann. UMCS Lublin, vol. XLIX, 23 s. E 167–173, 1994.
6. Kaczor A., Kozłowska J.: Bezpośrednie i następcze oddziaływanie kwaśnego deszczu na zawartość wapnia i magnezu w glebie oraz w kupkówce pospolitej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 456, 369–373, 1998.
7. Kobus J.: Biologiczne procesy a kształtowanie żyzności gleby. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 421a, 209–219, 1995.
8. Kucharski J.: Wpływ wieloletniego nawożenia gnojowicą na biologiczne właściwości gleby. Nawozy Organiczne. AR Szczecin, 2, 24–29, 1992.

9. **Martin J.P.:** Use of acid rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69, 215, 1950.
10. **Mysków Wl., Stachyra A., Zięba S., Masiak D.:** Aktywność biologiczna gleby jako wskaźnik jej żyzności i urodzajności. *Rocz. Glebozn.* XLVII, 1/2, 89–99, 1996.
11. **Mysków Wl.:** Próby wykorzystania wskaźników aktywności mikrobiologicznej do oceny żyzności gleby. *Post. Mikrobiol.*, XX, 3/4, 173–192, 1981.
12. **Rodina A.:** Mikrobiologiczne metody badania wód. PWRiL, Warszawa, 1968.
13. **Ruhling A., Tyler G.:** Heavy metal pollutions and decomposition of needle litter. *Oikos* 24, 1973.
14. **Thalmann A.:** Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden Mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.*, 21, 249–258, 1968.

NUMBER OF PROTEOLYTICAL MICROORGANISMS AND RESPIRATION ACTIVITY OF SULFATED LESSIVE SOIL AMENDED WITH LIQUID MANURE

S. Jezierska-Tys

Department of Agricultural Microbiology, Academy of Agriculture
Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

Summary. Studies were carried out in a model experiment on lessive soil developed from heavy loamy sand. The aim of studies was to investigate the effect of $500 \text{ kg S ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$ on number of proteolytical bacteria and fungi as well as respiratory and dehydrogenase activities in lessive soil amended with liquid manure ($60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1} \text{ year}^{-1}$). Studies revealed that sulfating applied along with the soil amendment using liquid manure stimulated the proteolytic bacteria number. Only acidic rainfall dose had significant inhibitive impact on the number of proteolytical fungi. Respiratory activity of lessive soil did not show differences between objects studied. Dehydrogenase activity of soil sulfated and amended with liquid manure was the highest and it significantly differed from other experimental objects.

Keywords: proteolytical bacteria, proteolytical fungi, respiration activity, dehydrogenase activity.