

AKTYWNOŚĆ PROTEOLITYCZNA I AMONIFIKACYJNA UŻYTKOWANYCH ROLNICZO GLEB ZLEWNI JEZIORA PIASECZNO I GŁĘBOKIE (POJEZIERZE ŁĘCZYŃSKO-WŁODAWSKIE)

A Szwed, J. Furczak

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

Streszczenie: Badania realizowano w glebie biellicowej wytworzonej z piasku luźnego, która cechuje się niewielką żyznością oraz w czarnej ziemi wytworzonej z piasku słabo gliniastego, która posiada dużą ilość części sypialnych, wysoki poziom węgla i azotu organicznego oraz znaczną pojemność sorpcyjną. Gleby te występują w sektorze rolniczym zlewni dwu jezior – Piaseczno i Głębokie (Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie). Próby do analiz biochemicznych pobierano z różnych stanowisk czterokrotnie w następujących terminach: kwiecień, maj, lipiec i wrzesień. Aktywność proteazy w glebach badano metodą Ladda i Butlera. Natomiast nasilenie procesu amonifikacji określano na podstawie przyrostu zawartości $N-NH_4^+$ (w próbkach glebowych inkubowanych z 0,1% asparaginy) oznaczonego metodą Nesslerera.

Przeprowadzone badania wykazały, że aktywność proteolityczna zależała od właściwości gleby. W glebie biellicowej kształtowała się na ogół na niższym poziomie w porównaniu z czarną ziemią i była zróżnicowana w zależności od odległości stanowiska od jeziora. Potencjalna zdolność amonifikacyjna gleb nie była wyraźnie powiązana z ich właściwościami. W glebie biellicowej utrzymywała się w całym sektorze na zbliżonym poziomie. Natomiast w przypadku czarnej ziemi stwierdzono zależność badanego procesu od punktu pobrania gleby. Najwyższą wartość tej aktywności odnotowano w glebie zlokalizowanej na brzegu jeziora.

Słowa kluczowe: gleby, aktywność proteazy, nasilenie amonifikacji.

WSTĘP

Mikrobiologiczne przemiany azotu i jego obieg obok krążenia węgla należą do najważniejszych w przyrodzie [1]. Jak powszechnie wiadomo azot w glebach występuje głównie w formie organicznej. Tempo hydrolizy oraz mineralizacji organicznych połączeń azotu zależy od wielu czynników środowiskowych, mie-

dzy innymi od zawartości węgla i azotu w glebie jej odczynu, pojemności sorpcyjnej, wilgotności i temperatury [2, 3, 5, 6, 7, 8, 13].

Celem niniejszych badań było poznanie aktywności proteolitycznej i amonifikacyjnej dwu użytkowanych rolniczo gleb zlewni jezior na tle odmiennych ich właściwości. W wyniku tych procesów może powstawać bowiem forma amonowa azotu przyczyniająca się do eutrofizacji zbiorników wodnych. Zwrócono również uwagę na zmienność roczną i sezonową analizowanych parametrów aktywności biochemicznej badanych gleb.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem 5-letnich badań była gleba przybrzeżna mezotroficznego jeziora Piaseczno i eutroficznego jeziora Głębokie wchodzących w skład Pojezierza Łeczyńsko-Włodawskiego. Opis wymienionych jezior można znaleźć w pracy Wilgata [15]. Zlewnię jeziora Piaseczno stanowią głównie gleby klasy bielicoziemnych wytworzone z piasku luźnego o słabych właściwościach sorpcyjnych, ubogie w węgiel i azot organiczny oraz w azot i fosfor mineralny. Dokładną charakterystykę tych gleb podaje Misztal i in. [10, 11, 12].

Nad jeziorem Głębokie zalega kompleks gleb pobagiennych, głównie czarnych ziem wytworzonych z piasku gliniastego lekkiego. Gleby te jak wynika z badań Misztala i in. [10, 11, 12] odznaczają się wysokim poziomem węgla i azotu organicznego, dużą ilością części spławialnych oraz znacznym kompleksem sorpcyjnym. Obok czarnych ziem w skład zlewni tego jeziora wchodzi gleby murszowe obejmujące wąski pas stykających się bezpośrednio z brzegiem jeziora [10].

W sektorze rolniczym zlewni obu jezior wytyczono po linii powierzchniowego spławu wody trzy punkty położone w różnych odległościach od zbiorników tj. na brzegu, w odległości 30 i 60 m od brzegu zbiornika Piaseczno oraz 30 i 40 m od brzegu jeziora Głębokie. Próbkę gleby z w/w stanowisk pobierano czterokrotnie w następujących terminach: kwiecień, maj, lipiec, wrzesień. Glebę pochodzącą z głębokości od 0–20 cm przesiewano przez sito o średnicy 2 mm i przechowywano w laboratorium przez 24 godziny, po czym poddano ją analizom biochemicznym.

Aktywność proteazy badano metodą Ladda i in. [9], natomiast nasilenie procesu amonifikacji określano na podstawie przyrostu zawartości $N-NH_4^+$

(w próbkach glebowych inkubowanych przez 3 dni z 0,1% asparaginy) oznaczonego metodą Nesslerera.

WYNIKI I DYSKUSJA

Przeprowadzone badania wykazały, że aktywność proteolityczna gleby biellicowej sektora rolniczego zlewni jeziora Piaseczno kształtowała się na niższym poziomie w porównaniu z czarną ziemią analogicznego sektora zlewni jeziora Głębokie i wykazywała pewne zróżnicowanie w zależności od odległości stanowiska od brzegu jeziora (Tabela 1, Rys. 1).

Trudny do wytłumaczenia jest fakt, że najwyższe wartości tej aktywności stwierdzono w glebie pobranej z brzegu tego zbiornika, ponieważ podobnej tendencji nie wykazała aktywność innych enzymów [4] oraz nasilenie amonifikacji (Tabela 2, Rys. 1).

Wyższy poziom aktywności proteolitycznej sektora rolniczego zlewni jeziora Głębokie zaznaczył się szczególnie wyraźnie w glebie brzegowej, a następnie w odległej o 30 m od lustra wody (Tabela 1, Rys. 1). Uzyskane wyniki były zapewne efektem większej żyzności gleby tych stanowisk, o czym donoszą Misztal i in. [10, 12]. Bezpośrednie sąsiedztwo zbiornika Głębokie stanowi bowiem gleba murszowa [11] posiadająca wysoką zawartość węgla organicznego i azotu ogólnego oraz silny kompleks sorpcyjny. Niniejsze obserwacje potwierdzają wyniki badań innych autorów, którzy odnotowali dodatnią korelację między aktywnością proteazy a zawartością węgla organicznego, azotu ogólnego, pojemnością sorpcyjną oraz zawartością części splawialnych w glebach [2, 3, 5, 6, 7, 8].

Zmienność roczna aktywności proteolitycznej badanych gleb kształtowała się na ogół podobnie (Tabela 1). Słabsze wahania w tym zakresie wystąpiły w stanowiskach położonych bliżej jezior. Również wahania sezonowe aktywności proteolitycznej gleb miały zbliżony przebieg. Były one zazwyczaj niewielkie w punktach bardziej oddalonych od zbiorników (Rys. 2). Natomiast wyraźną zmiennością sezonową cechowała się aktywność proteazy w glebie brzegowej jeziora Głębokie. Minimum tej aktywności wystąpiło wiosną, a maksimum na przełomie lata i jesieni.

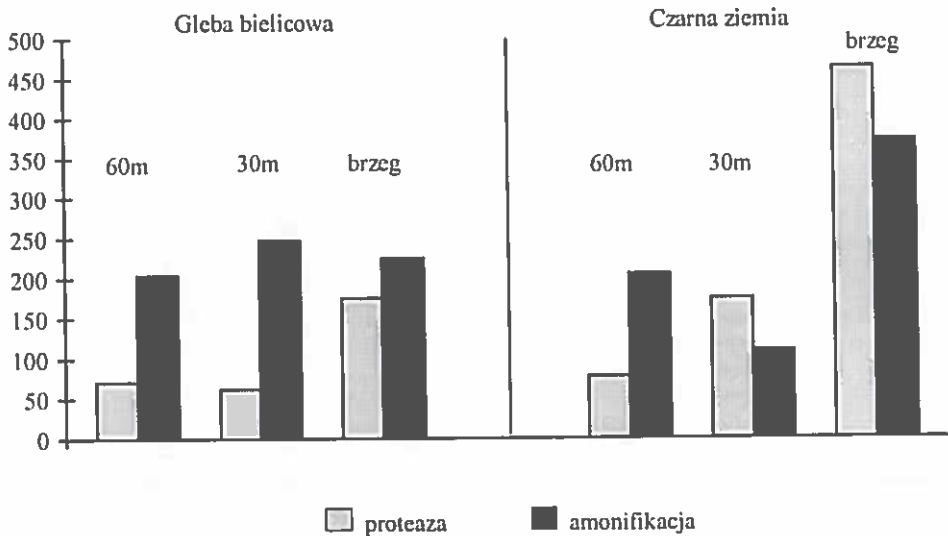
Wyniki badań nad potencjalną zdolnością amonifikacyjną gleby biellicowej i czarnej ziemi zestawiono w Tabeli 2 i na Rys. 1. Analizując wartości średnich rocznych i pięcioletnich można stwierdzić, że nasilenie tego procesu w glebie

bielicowej nie było zależne od odległości stanowiska od jeziora Piaseczno i kształtowało się w badanym obszarze na zbliżonym poziomie. Natomiast w sektorze zlewni zbiornika Głębokie wyraźnie wyższą aktywność amonifikacyjną stwierdzono w glebie brzegowej. Efekt ten spowodowany był zapewne wyższą żyznością gleby murszowej i prawdopodobnie liczniejszym występowaniem w niej amonifikatorów. Wskazują na to wcześniejsze badania nad liczbą tych drobnoustrojów prowadzone na tym terenie [14].

Tabela 1. Aktywność proteazy w glebie przybrzeżnej badanych jezior w μg tyrozyny/lg s.m. gleby/1h

Table 1. Protease activity in bank soil of the lakes examined in μg tyrosine/lg d.m. of soil/1h

Terminy analiz	Gleba bielicowa			Czarna ziemia			
	Odległość gleby od jeziora						
	60 m	30 m	brzeg	40 m	30 m	brzeg	
1986 r.	IV	33,0	32,0	68,0	61,0	67,0	184,0
	V	139,0	100,0	127,0	153,0	194,0	400,0
	VII	47,0	65,0	182,0	79,0	178,0	409,0
	IX	49,0	47,0	95,0	45,0	246,0	609,0
Średnia roczna		67,0	61,0	118,0	84,5	170,3	400,5
1987 r.	IV	51,0	62,0	208,0	91,0	104,0	484,0
	V	61,0	45,0	118,0	67,0	224,0	413,0
	VII	29,0	25,0	95,0	25,0	83,0	288,0
	IX	52,0	46,0	234,0	91,0	98,0	282,0
Średnia roczna		48,3	44,5	163,8	68,5	127,3	366,8
1988 r.	IV	43,0	59,0	284,0	25,0	92,0	223,0
	V	44,0	35,0	149,0	21,0	125,0	219,0
	VII	53,0	51,0	227,0	62,0	231,0	473,0
	IX	65,0	73,0	187,0	61,0	145,0	691,0
Średnia roczna		51,3	54,5	211,8	42,3	148,3	401,5
1989 r.	IV	67,0	63,0	281,0	73,0	177,0	517,0
	V	74,0	88,0	69,0	85,0	210,0	478,0
	VII	138,0	58,0	131,0	73,0	198,0	461,0
	IX	61,0	64,0	190,0	87,0	276,0	619,0
Średnia roczna		85,0	68,3	167,8	79,5	215,3	518,8
1990 r.	IV	93,0	79,0	184,0	110,0	217,0	506,0
	V	126,0	75,0	144,0	99,0	275,0	463,0
	VII	103,0	85,0	248,0	114,0	241,0	774,0
	IX	93,0	92,0	270,0	127,0	99,0	750,0
Średnia roczna		103,8	82,8	211,5	112,5	208,0	623,3



Rys.1. Aktywność proteazy (μg tyrozyny/1g s. m. gleby/1h) i nasilenia amonifikacji (μg N-NH₄⁺/1g s.m. gleby/3dni) w glebie przybrzeżnej jezior, średnia z 5 lat.

Fig.1. Protease activity (μg tyrosine/1g d.m. of soil/1h) and ammonification intensity (μg N-NH₄⁺/1g d.m. of soil/3 days) in bank soil of the lakes, mean from 5 years.

Należy podkreślić, że w przeciwieństwie do aktywności proteazy (Tabela 1) oraz określanej przez Furczak i in. [4] aktywności ureazy i fosfatazy, zdolność amonifikacyjna czarnej ziemi z dwu pozostałych stanowisk utrzymywała się nawet na niższym poziomie niż w glebie bielnicowej. Sugerowałoby to występowanie niekorzystnych warunków dla przebiegu mineralizacji azotu organicznego.

Proces amonifikacji podlegał w obu glebach zmienności rocznej, przy czym amplituda tych wahań była większa w sektorze zlewni jeziora Głębokie, zwłaszcza w glebie brzegowej i oddalonej od zbiornika o 30 m (Tabela 2).

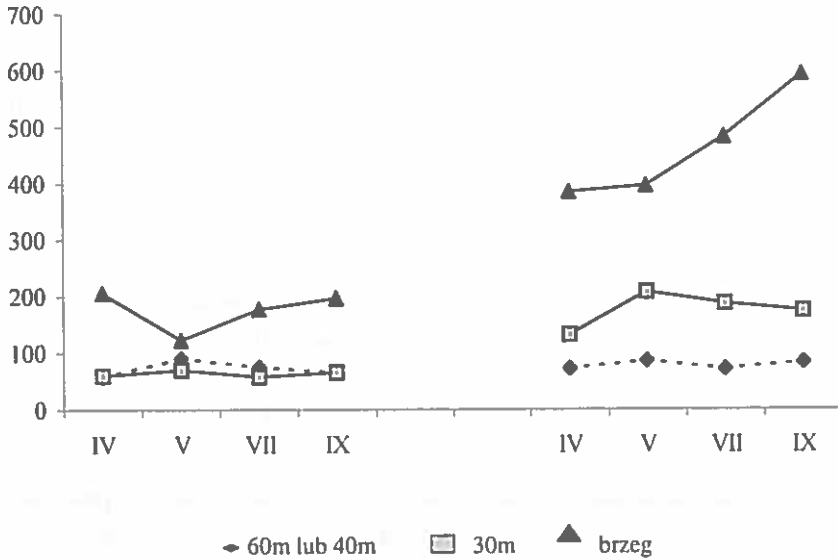
Wahania sezonowe nasilenia amonifikacji przedstawia Rys. 3. Zamieszczone na nim wyniki wskazują, że analogicznie jak w przypadku proteazy zmiany te były na ogół niewielkie w glebie bielnicowej i w czarnej ziemi bardziej oddalonej od jeziora Głębokie. Najsilniejsze wahania sezonowe wystąpiły w glebie brzegowej (murszowa) zbiornika Głębokie. Towarzyszyło im wyraźne maksimum w okresie lata (lipiec) i wiosenne minimum w miesiącu kwietniu.

Tabela 2. Nasilenie procesu amonifikacji w glebie przybrzeżnej jezior, $\mu\text{g N-NH}_4^+$ /1g s.m. gleby/3dni

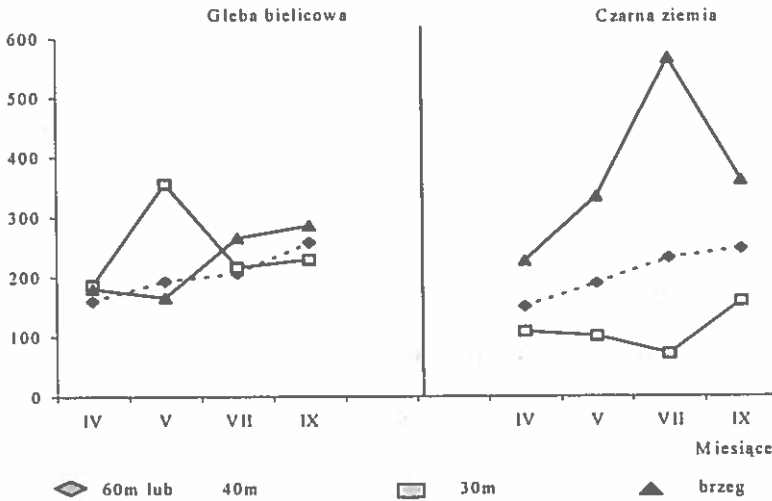
Table 2. Intensity of ammonification in bank soil of the lakes, $\mu\text{g N-NH}_4^+$ /1g d.m. of soil/3 days

Terminy analiz	Gleba biellicowa			Czarna ziemia			
	Odległość gleby od jeziora						
	60 m	30 m	brzeg	40 m	30 m	brzeg	
1986 r.	IV	258,8	234,9	319,2	278,5	113,3	276,5
	V	280,5	326,4	274,7	305,7	149,6	537,5
	VII	220,4	262,6	374,9	261,2	76,4	1814,3
	IX	168,4	117,0	301,1	318,9	91,4	290,9
Średnia roczna		232,0	235,2	317,4	291,1	107,7	729,5
1987 r.	IV	29,1	118,9	18,2	68,4	74,8	38,8
	V	222,3	197,2	221,0	197,5	94,0	435,4
	VII	193,0	221,6	170,0	188,5	74,3	139,8
	IX	429,0	401,7	393,1	297,0	290,2	815,6
Średnia roczna		218,3	234,8	200,6	187,8	133,3	357,4
1988 r.	IV	144,5	126,3	122,4	54,9	186,9	455,9
	V	96,2	140,6	95,6	109,6	149,9	263,4
	VII	193,9	193,4	253,6	276,3	57,7	156,4
	IX	244,9	213,4	256,0	251,7	235,2	266,5
Średnia roczna		169,9	168,4	181,9	173,1	157,4	285,5
1989 r.	IV	224,6	243,0	259,1	220,2	102,9	261,5
	V	165,3	199,4	206,7	99,2	11,0	40,9
	VII	160,0	135,0	236,0	120,0	14,1	132,3
	IX	125,0	128,8	132,2	115,5	7,3	40,9
Średnia roczna		168,7	174,3	208,5	138,7	33,8	118,9
1990 r.	IV	142,1	212,3	183,2	130,6	63,3	100,5
	V	200,7	916,2	29,3	235,0	98,4	389,7
	VII	262,8	268,5	290,1	311,4	131,0	584,3
	IX	319,9	285,8	345,8	250,6	173,7	393,3
Średnia roczna		231,3	420,7	212,1	231,9	116,6	367,0

Podsumowując uzyskane wyniki należy stwierdzić, że gleba biellicowa sektora rolniczego zlewni jeziora Piaseczno cechowała się mniejszą aktywnością proteolityczną niż czarna ziemia i gleba murszowa. Natomiast zdolność amonifikacyjną tej gleby kształtowała się średnio na poziomie wykrytym w analogicznym sektorze zlewni zbiornika Głębokie. Fakt ten, a także słabsze zdolności sorpcyjne gleby biellicowej częściowo wyjaśniają większy spływ jonów amonowych do jeziora Piaseczno z tego sektora.



Rys.2. Wahania sezonowe aktywności proteazy (μg tyrozyny/1g s.m. gleby/1h), średnia z 5 lat.
 Fig.2. Seasonal fluctuations of protease activity (μg tyrosine /1g d.m. of soil/1h), mean from 5 years.



Rys.3. Wahania sezonowe nasilenia procesu amonifikacji (μg N-NH_4^+ /1g s.m. gleby/3 dni), średnia z 5 lat.
 Fig.3. Seasonal fluctuations of ammonification (μg N-NH_4^+ /1g d.m. of soil/3 days), mean from 5 years.

WNIOSKI

1. Pięcioletnie badania wykazały, że aktywność proteolityczna badanych gleb zależała od ich właściwości. W glebie biellicowej kształtowała się ona na niższym poziomie w porównaniu z czarną ziemią i glebą murszową i była zróżnicowana w zależności od odległości stanowiska od jeziora. Najwyższą aktywność proteazy obserwowano w glebie pobranej z brzegu jezior.
2. Potencjalna zdolność amonifikacyjna badanych gleb nie wykazywała wyraźnego powiązania z ich właściwościami i kształtowała się średnio na zbliżonym poziomie. W sektorze rolniczym zlewni jeziora Piaseczno nie stwierdzono również zależności tej aktywności od stanowiska pobierania gleby. Natomiast zdolność amonifikacyjna gleb zlewni jeziora Głębokie była najwyższa w strefie brzegowej, gdzie występowała gleba murszowa.
3. Zmienność sezonowa aktywności proteolitycznej oraz nasilenia procesu amonifikacji kształtowały się w obu glebach na ogół podobnie i wykazywały niewielkie wahania. Jedynie w glebie z brzegu jeziora Głębokie odnotowano wyraźną zmienność sezonową tych dwu parametrów aktywności biochemicznej.

PIŚMIENNICTWO

1. **Barabasz W.:** Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. II. Biotransformacja azotu glebowego. *Post. Mikrob.*, 31, 3–33, 1992.
2. **Bonmati M., Ceccanti B., Nanniperi P. :** Spatial variability of phosphatase, urease, protease, organic carbon and total nitrogen in soil. *Soil. Biol. Biochem.*, 23, 391–396, 1991.
3. **Chazijew F. Ch. :** Системно-экологический анализ ферментативной активности почв. (Eds. Nauka), Moskwa, 1982.
4. **Furczak J., Szwed A.:** Aktywność ureazowa i fosfatazowa dwu różniących się właściwościami gleb zlewni jeziora Piaseczno i Głębokie (Pojezierze Łeczyńsko-Włodawskie). *Acta Agroph.*, (w druku).
5. **Gostkowska K., Furczak J., Domżał H., Bielinska E.J.:** Suitability of some biochemical and microbiological tests for the evaluation of the degradation degree of podzolic soil on the background of it differentiated usage. *Pol.J.Soil Sci.*, 31, 69–78, 1998.
6. **Koper J. Piotrowska A.:** Aktywność enzymatyczna gleby jako parametr jej żyzności wywołany systemem uprawy. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 467, 127–134, 1999.
7. **Koper J., Piotrowska A., Urbanowski S:** Changes of soil enzymatic activity caused by a long-term organic-mineral fertilization during plant vegetation. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 465, 495–504, 1999.

8. Kucharski J.: Relacje między aktywnością enzymów a żyznością gleby w.: Drobnoustroje w środowisku-występowanie, aktywność i znaczenie. Wyd. Katedra Mikrobiologii AR Kraków, 327–347, 1997.
9. Ladd J.N., Butler J.H.A.: Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 19–30, 1972.
10. Misztal M., Smal H.: Badania stężeń azotu i fosforu w płytkich wodach podziemnych zlewni jezior Piaseczno i Głębokie (Pojezierze Łęczyńsko-Włodawskie, SE Polska). *Studia Ośr. Dok. Fizjograf. PAN, Oddział w Krakowie*, 19, 209–218, 1991.
11. Misztal M., Smal H.: Ocena wielkości dopływu wybranych pierwiastków do jezior z różnie zagospodarowanych części zlewni na tle warunków glebowych. *Studia Ośr. Dok. Fizjograf. PAN, Oddział w Krakowie*, 19, 193–207, 1991.
12. Misztal M., Smal H.: Skład chemiczny wód gruntowych z terenów gleb uprawnych biellicowej i czarnej ziemi. *Rocz. Glebozn.*, 42, 121–128, 1991.
13. Russel S., Kozanecka T., Gębski M.: Potencjal mineralizacyjny azotu organicznego w glebie sadu jabłoniowego w zależności od wieloletniego nawożenia azotem i sposobu jego utrzymania. *Zesz. Prob. Post. Nauk Roln.*, 465, 485–493, 1999.
14. Szember A., Kornilowicz T., Szwed A., Bielińska E.J., Wielgosz E., Wyczółkowski A.: Procesy mikrobiologiczne w glebach przybrzeżnych dwu jezior Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego. *Ann. UMCS, s. E*, 49, 191–202, 1994.
15. Wilgat T.: Jeziora Łęczyńsko-Włodawskie. *Ann. UMCS, s. B*, 8, 37–122, 1983.

PROTEOLYTIC AND AMMONIFICATION ACTIVITY OF CULTIVATED
SOILS OF THE PIASECZNO AND GŁĘBOKIE CATCHMENT BASIN
(THE ŁĘCZYŃSKO-WŁODAWSKIE LAKE DISTRICT)

A Szwed, J. Furczak

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

Summary. The investigations were carried out in podzolic soil of poor fertility developed from loose sand and black soil formed from slightly loamy sand with great part of fine fraction, high level of carbon and organic nitrogen and considerable sorption. The soils are located in the agricultural sector of the two lakes basin – Piaseczno and Głębokie (the Łęczyńsko-Włodawskie Lake District). The samples for biochemical analyses were gathered from different test sites for four times in the following terms: April, May, July and September. The protease activity in soils were examined after Ladd and Butler's method. Intensification of ammonification process was

determined on the basis of N-NH_4^+ content growth (in soil samples incubated with 0,1% asparagine) determined by Nessler's method. The examinations proved the proteolytic activity depended on soil properties. In podzolic soil it demonstrated a lower level as compared to black soil and was differentiated in relation to test site distance off a lake. Potential ammonification activity of soils was not clearly connected with their characteristics. In podzolic soil it maintained a similar level all over the agricultural sector, while in black soil there was stated dependence of a process examined on a sampling point. The highest value of the activity was recorded in the soil located on the lake bank.

Keywords: soils, protease activity, ammonification intensity.