Acta Agrophysica, 2001, 56, 125-135

AKTYWNOŚĆ OGÓLNEJ FOSFATAZY ZASADOWEJ W WODZIE I OSADZIE DENNYM NIEKTÓRYCH JEZIOR POJEZIERZA ŁĘCZYŃSKO-WŁODAWSKIEGO CZ. I. MEZOTROFICZNE JEZIORO PIASECZNO

J. Furczak[1], *E.J. Bielińska*[2]

[1]Katedra Mikrobiologii Rolniczej
[2]Instytut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego, Akademia Rolnicza
ul. K. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Streszczenie. W pięcioletnim okresie badano aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej w wodzie i osadzie dennym różnych stref mezotroficznego jeziora Piaseczno. Analizy wykonywano czterokrotnie każdego roku (kwiecień, maj, lipiec, wrzesień). Stwierdzono, że największą aktywnością tego enzymu cechowała się woda litoralna jeziora. W pozostałych strefach badana aktywność utrzymywała się na zbliżonym poziomie, wykazując niewielka tendencję wzrostową w metalimnionie. Natomiast w osadzie dennym aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej kształtowała się odmiennie. Najniższe jej wartości wykrywano w litoralu, a najwyższe w pelagialu. Opierając się na badanym parametrze enzymatycznym jako jednym ze wskaźników eutrofizacji jezior nie zauważono, aby w analizowanym okresie wystąpił wzrost poziomu troficzności zbiornika Piaseczno.

Słowa kluczowe: aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej, woda, osad denny, mezotroficzne jezioro Piaseczno.

Praca wykonana w ramach problemu CPBP 04.02 koordynowanego przez Instytut Mikrobiologii Uniwersytetu Łódzkiego.

WSTĘP

Fosfor odgrywa bardzo ważną rolę we wszystkich ogniwach metabolizmu komórkowego i tym samym w eutrofizacji większości środowisk wodnych. Jednym z głównych procesów cyklu krążenia fosforu jest mineralizacja jego organicznych połączeń. Biologiczny rozkład związków organicznych tego pierwiastka jest uznawany za kluczowy etap limitujący jego asymilację przez biocenozy [17].

Zawartość fosforu w połączeniach organicznych ekosystemów wodnych przekracza 50% jego całkowitej puli [3]. Siuda [17] w pracy przeglądowej podaje, że ta frakcja materii organicznej rozkładana jest już w epilimnionie. Jej dalsza mineralizacja przebiega w metalimnionie, a komponenty odporniejsze na rozkład mikrobiologiczny trafiają do hypolimnionu i osadu dennego, gdzie podlegają powolnej i długotrwałej degradacji.

W zbiornikach wodnych o pH >7 za proces mineralizacji fosforu organicznego odpowiedzialna jest fosfataza zasadowa [1]. Z dotychczasowych badań wynika, że enzym ten cechuje różnorodne, w tym w dużej mierze mikrobiologiczne pochodzenie [17]. Siuda [17] informuje o możliwości występowania różnych mechanizmów regulacji aktywności fosfatazy zasadowej w zbiornikach wodnych. Poziom aktywności tego enzymu wskazuje zdaniem Jonesa [11] na stopień eutrofizacji jezior.

Badaniom nad aktywnością fosfatazy zasadowej w wodach jeziornych poświęcono już niemało uwagi [2, 6, 9-11, 14, 15, 17, 19]. Zdecydowanie słabiej poznane jest to zagadnienie w odniesieniu do osadów dennych zbiorników wodnych [12, 16]. Jeziora wchodzące w skład Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego należą do niebadanych w tym zakresie. W związku z tym uznano za celowe poznanie poziomu aktywności tego enzymu w wodzie i osadzie dennym różnych stref dwu różniących się troficznością jezior tego Pojezierza. Badania te miały również na celu określenie dynamiki zmian sezonowych i rocznych aktywności fosfatazy zasadowej oraz sprawdzenie jej przydatności, jako biologicznego wskaźnika eutrofizacji jezior. Wyniki przedstawione w niniejszej pracy dotyczą mezotroficznego jeziora Piaseczno.

MATERIAŁ I METODY

Obiektem prezentowanych badań było mezotroficzne jezioro Piaseczno zlokalizowane na Pojezierzu Łęczyńsko-Włodawskim (południowo-wschodnia Polska). Charakterystykę jeziora i jego zlewni zamieszczono we wcześniejszych pracach [4, 5].

Ze względu na sposób użytkowania zlewnię jeziora podzielono na trzy sektory – rolniczy, leśno-rekreacyjny i torfowy, którym podporządkowano odpowiednie fragmenty zbiornika. Próbki wody i osadu dennego do badań pochodziły z obszaru odpowiadającego sektorowi rolniczemu.

Próbki wody pobierano czerpakiem Bernatowicza o pojemności 5 dm^3. Natomiast osad litoralny pobierano aparatem rurowym Kajaka o powierzchni 20 cm^2, a sublitoralny i pelagialny aparatem Boruckiego o powierzchni 225 cm^2. Badaniami objęto warstwę osadu od 0-5 cm. Osad przed użyciem odsączono (ok. 20 h) na sączku bibułowym. Próbki wody i osadu przechowywano w temperaturze 4^0C przez około 24 godziny.

Aktywność ogólnej fosfatazy alkalicznej w wodzie oznaczano metodą Jonesa [11], opartą na pomiarach p-nitrofenolu uwolnionego z fosforanu p–nitrofenolu, rozpuszczonego w 0,1M Tris-HCl o pH 8,5. Natomiast aktywność fosfatazy alkalicznej w osadzie określano metodą Tabatabai i in. [18], w której zamiast buforu uniwersalnego zastosowano w/w bufor. Badania wody i osadu prowadzono czterokrotnie każdego roku (23-29.IV, 27-30.V, 3-11.VII, 27-29.IX), w latach 1986-1990. Wszystkie oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach. Wyniki przedstawiono w postaci średniej z tych powtórzeń.

WYNIKI I DYSKUSJA

Wyniki badań nad aktywnością ogólnej fosfatazy zasadowej w wodzie różnych stref jeziora przedstawia Tab.1 i Rys. 1. Wskazują one, że aktywność tego enzymu cechowała się w przekroju pięciu lat dużą rozpiętością (17,9–1125,6 nmol $PO_4\,dm^{-3}\,h^{-1}$), związaną głównie z jej wahaniami okresowymi. Mniejsze zróżnicowanie aktywności fosfatazowej wody odnotowano dla średnich rocznych (145,4–581,5 nmol $PO_4\,dm^{-3}\,h^{-1}$).

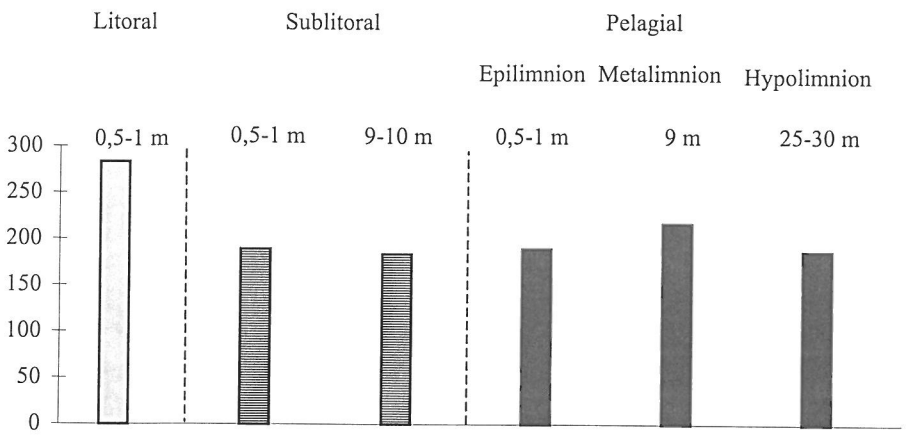
Analizując średnie z pięciu lat omawianej aktywności w płaszczyźnie horyzontalnej, zauważono najwyższe jej wartości w wodzie litoralu, co wyraźnie ilustruje Rys. 1. W pozostałych strefach aktywność fosfatazy alkalicznej utrzymywała się na zbliżonym poziomie, z niewielka tendencją wzrostową w metalimnionie.

Tabela 1. Aktywność ogólnej fosfatazy alkalicznej w wodzie (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1})

Table 1. The total alkaline phosphatase activity in water (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1})

Terminy analiz Lata - miesiące		Litoral	Sublitoral		Pelagial		
		0,5-1 m	0,5-1 m	9-10 m	Epilimnion 0,5-1 m	Metalimnion 9 m	Hypolimnion 25-30 m
1986	IV	1125,6	78,6	53,6	63,2	63,2	128,5
	V	484,8	294,3	317,5	363,6	611,8	311,7
	VII	357,9	232,6	116,4	214,8	214,8	161,0
	IX	357,9	232,6	196,9	143,1	322,1	152,2
Średnia roczna		581,5	209,5	171,1	196,2	303,0	188,3
1987	IV	143,1	125,3	125,3	143,1	143,1	116,4
	V	196,9	179,0	161,0	205,8	214,8	188,0
	VII	223,7	170,0	357,9	232,6	178,9	143,1
	IX	196,9	232,6	196,9	196,9	179,0	143,1
Średnia roczna		190,1	176,8	210,4	196,4	178,9	147,6
1988	IV	187,9	214,8	116,4	143,1	125,3	107,4
	V	268,4	250,5	357,9	214,8	286,3	322,1
	VII	375,8	393,7	340,0	375,9	322,1	483,1
	IX	26,8	29,8	26,8	29,8	20,9	17,9
Średnia roczna		214,7	222,2	210,3	186,4	188,6	232,6
1989	IV	125,3	98,4	89,5	98,4	89,5	107,4
	V	152,2	107,4	98,4	107,4	178,9	80,5
	VII	465,3	375,9	322,1	357,9	357,9	304,2
	IX	143,1	125,3	125,3	107,4	161,0	89,5
Średnia roczna		221,6	172,3	158,9	167,8	196,8	145,4
1990	IV	143,1	89,5	89,5	107,4	98,4	107,4
	V	161,0	178,9	161,0	178,9	286,3	178,9
	VII	322,0	164,4	206,3	270,0	258,3	352,3
	IX	214,8	232,6	214,8	250,5	232,6	250,5
Średnia roczna		210,3	166,3	167,9	201,7	218,9	222,3

Wyższej aktywności tego enzymu w strefie litoralnej towarzyszyło liczniejsze występowanie bakterii heterotroficznych [5] i grzybów [13], które jak podaje miedzy innymi Siuda [17], są jednym ze źródeł fosfatazy. Jakkolwiek średni, procentowy udział aktywności fosfatazy bakteryjnej, w aktywności ogólnej fosfatazy zasadowej litoralu, kształtował się na zbliżonym lub nawet nieco niższym poziomie niż w innych strefach jeziora (praca w przyg. do druku). Podwyższona aktywność omawianego enzymu w strefie litoralnej mogła być spowodowana również dużym dopływem z sektora rolniczego rozpuszczalnych substancji organicznych [7], pobudzających jego syntezę.

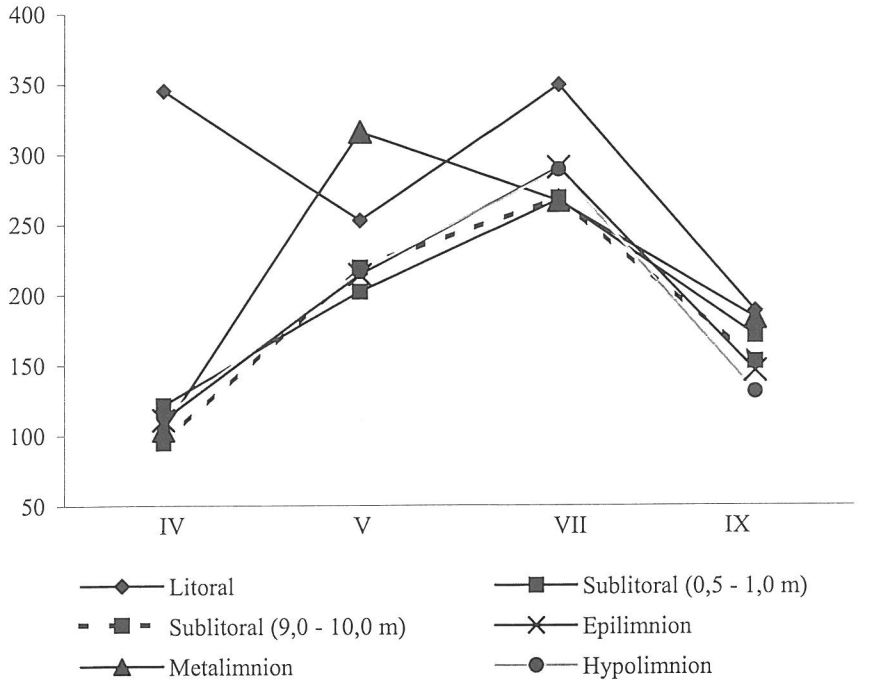


Rys. 1. Aktywność ogólnej fosfatazy alkalicznej w wodzie (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1}), średnie wartości z 5 lat.

Fig. 1. The total alkaline phosphatase activity in water (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1}), mean values from 5 years.

Porównując aktywność fosfatazy alkalicznej w wodzie odpowiadających sobie stref mezotroficznego jeziora Piaseczno i eutroficznego jeziora Głębokie (praca w przyg. do druku), zauważono znacznie niższe wartości tej aktywności w obu strefach zbiornika Piaseczno. Należy podkreślić, że różnica ta zaznaczyła się wyraźniej w wodzie sublitoralu. Przeprowadzone obserwacje potwierdzają sugestię Jonesa [11], że poziom aktywności fosfatazy zasadowej wskazuje na stopień eutrofizacji jezior.

Aktywność ogólnej fosfatazy alkalicznej w wodzie analizowanych stref jeziora podlegała w pięcioletnim letnim okresie pewnym wahaniom rocznym (Tab. 1). Ich zakres był jednak na ogół niewielki, na co wskazują zbliżone wartości średnich rocznych tego parametru enzymatycznego. Aktywność badanego enzymu cechowała się natomiast wyraźnymi zmianami sezonowymi, zaznaczającymi się najsilniej w litoralu (Rys. 2). Generalnie wyższy poziom aktywności fosfatazowej wody, powiązany z liczniejszym występowaniem bakterii heterotroficznych [5], stwierdzono w lipcu. Maksimum aktywności omawianego enzymu w okresie letniej stagnacji odnotowali również inni autorzy [2, 14]. Zarejestrowany w niniejszych badaniach spadek aktywności fosfatazy zasadowej, w wodzie większości stref wczesną wiosną i jesienią, mógł być spowodowany niskimi temperaturami oraz mniejszym zapotrzebowanie biocenozy na fosforany.



Rys. 2. Wahania sezonowe aktywności ogólnej fosfatazy alkalicznej w wodzie (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1}), średnie wartości z 5 lat.

Fig. 2. Seasonal changes of the alkaline phosphatase activity in water (nmol PO_4 dm^{-3} h^{-1}), mean values from 5 years.

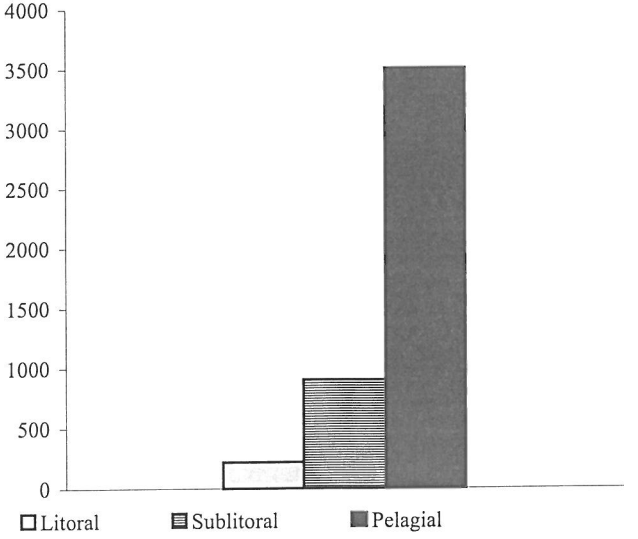
Pięcioletnie badania wykazały, że aktywność fosfatazy alkalicznej w osadzie dennym różnych stref jeziora (Tab. 2) cechowała się, podobnie jak w wodzie (Tab. 1) dużym rozrzutem wyników (25,5–10168,8 nmol PO_4 g^{-1} s.m. h^{-1}). Był on zapewne efektem wahań sezonowych, ale przede wszystkim odmiennej lokalizacji osadu. Wydaje się, że w następstwie tego wystąpiło również znaczące zróżnicowanie średnich rocznych badanego parametru enzymatycznego (124,9–4413,3 nmol PO_4 g^{-1} s.m. h^{-1}), (Tab. 2).

Tabela 2. Aktywność ogólnej fosfatazy alkalicznej w osadzie dennym (nmol PO_4 g^{-1} s.m. h^{-1})
Table 2. The total alkaline phosphatase activity in bottom sediment (nmol PO_4 g^{-1} s.m. h^{-1})

Terminy analiz Lata - miesiące		Litoral	Sublitoral	Pelagial
	IV	288,9	308,2	10168,7
	V	549,5	1156,6	3223,2
1986	VII	427,3	572,7	2789,9
	IX	213,1	162,6	508,1
Średnia roczna		369,7	550,0	4172,5
	IV	110,5	696,2	2288,0
	V	127,8	629,8	1466,0
1987	VII	213,7	1063,9	2671,3
	IX	295,3	391,3	1940,5
Średnia roczna		186,8	695,3	1841,4
	IV	147,6	1126,3	4442,8
	V	80,9	1788,0	2536,8
1988	VII	245,4	971,9	6574,5
	IX	25,5	474,1	4099,1
Średnia roczna		124,9	1090,0	4413,3
	IV	135,2	1089,0	1027,8
	V	89,1	1611,3	3531,6
1989	VII	184,5	1744,1	5778,3
	IX	337,6	1100,9	1953,0
Średnia roczna		186,6	1386,3	3072,7
	IV	141,1	350,6	3100,3
	V	135,4	662,2	1290,1
1990	VII	132,6	310,4	4133,6
	IX	399,1	1852,2	7541,2
Średnia roczna		202,0	793,9	4016,3

Konfrontując aktywność fosfatazy zasadowej osadu analizowanych stref jeziora stwierdzono najniższy jej poziom w litoralu (Rys. 3). Omawiana aktywność podobnie jak liczba bakterii heterotroficznych [4] nasilała się wraz ze wzrostem odległości od brzegu, osiągając najwyższe wartości w pelagialu. Z badań Górniaka i in. [8] wynika, że w strefie litoralnej tego zbiornika, podporządkowanej sektorowi rolniczemu zlewni, osad denny ma charakter luźnych piasków, ubogich w węgiel organiczny. Natomiast osad pelagialny cechuje się dużą zawartością Corg., sięgającą nawet do 30% s.m. . Jest więc prawdopodobne, że odnotowane różnice w aktywności fosfatazowej osadu badanych stref jeziora wywołane były odmiennym poziomem materii organicznej [8] oraz bakterii heterotroficznych [4]. Przypuszczenie to potwierdzają opracowywane aktualnie wyniki dotyczące aktywności fosfatazowej osadu litoralu i sublitoralu jeziora Głębokie

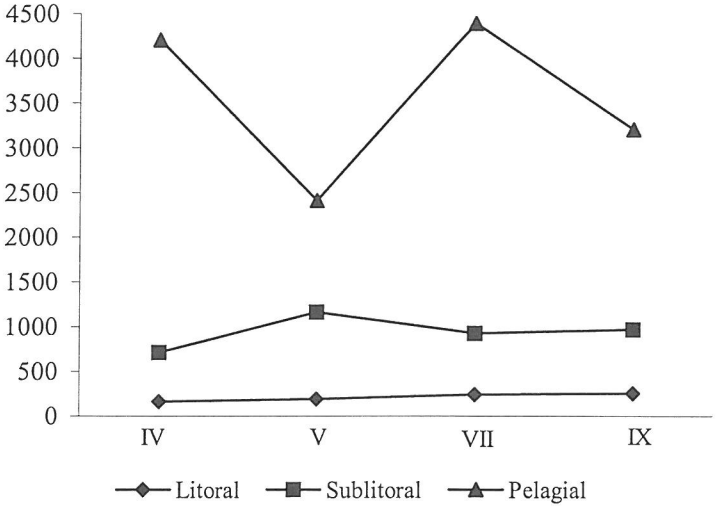
oraz badania Saylera i in. [16], wskazujące na korelację tego enzymu z ogólną liczba bakterii w osadach dennych.



Rys. 3. Aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej w osadzie dennym (nmol PO_4 g^{-1} s.m.h^{-1}), średnie wartości z 5 lat.

Fig. 3. The total alkaline phosphatase activity in bottom sediment (nmol PO_4 g^{-1} d.m. h^{-1}), mean values from 5 years.

Aktywność fosfatazowa osadu analizowanych stref zbiornika Piaseczno podlegała wahaniom rocznym (Tab. 2). Nie wykazywały one jednak określonej tendencji i spowodowane były zapewne zróżnicowanym składem chemicznym osadu w obrębie poszczególnych stref [8] oraz losowością pobierania próbek. W przekroju pięciu lat dynamika zmian sezonowych badanej aktywności osadu była niewielka w litoralu i sublitoralu (Rys. 4). Zdecydowanie wyraźniej zaznaczyła się natomiast w pelagialu, wykazując minimum w maju i wrześniu, a maksimum w miesiącu lipcu, które powiązane było z pikiem rozwoju bakterii heterotroficznych [4].



Rys. 4. Wahania sezonowe aktywności ogólnej fosfatazy zasadowej w osadzie dennym (nmol PO_4 g^{-1} s.m. h^{-1}), średnie wartości z 5 lat.

Fig. 4. Seasonal changes of the total alkaline phosphatase activity in bottom sediment (nmol PO_4 g^{-1} d.m. h^{-1}), mean values from 5 years.

WNIOSKI

1. Wyniki pięcioletnich badań wskazują, że spośród analizowanych stref mezotroficznego jeziora Piaseczno największą aktywnością ogólnej fosfatazy zasadowej cechowała się woda litoralu. W pozostałych strefach aktywność tego enzymu utrzymywała się na zbliżonym poziomie, wykazując niewielka tendencję wzrostową w metalimnionie.
2. Aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej w osadzie dennym jeziora kształtowała się odmiennie. Najniższe wartości tej aktywności stwierdzono w litoralu, a najwyższe w pelagialu.
3. Przyjmując aktywność ogólnej fosfatazy zasadowej, jako jeden ze wskaźników postępującej eutrofizacji jezior, nie zauważono aby w badanym okresie wystąpił wzrost trofii zbiornika Piaseczno. Wskazują na to zbliżone na ogół wartości średnich rocznych aktywności tego parametru enzymatycznego, zarówno w wodzie, jak i osadzie dennym jeziora.

PIŚMIENNICTWO

1. **Chróst R.J., Siuda W.:** A method for determining enzymatically hydrolyzable phosphate (EHP) in natural waters. Limnol. Oceanogr., 31, 662-667, 1986.
2. **Chróst R.J., Siuda W., Halemejko G.Z.:** Longterm studies on alkaline phosphatase activity (APA) in lake with fish-aquaculture in relation to lake eutrophication and phosphorus cycle. Arch. Hydrobiol., Suppl. 70, 1, 1-32, 1984.
3. **Corner E.D.S., Davies A.G.:** Plankton as a factor in the nitrogen nad phosphorus cycles in the sea. Adv. Mar. Biol., 9, 101- 204, 1971.
4. **Furczak J.:** Częstotliwość występowania bentosowych bakterii heterotroficznych w dwu różniących się poziomem trofii jeziorach Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego (SE - Polska). Ann. UMCS, 53, 219-225, 1998.
5. **Furczak J.:** Dynamika zmian ilościowych planktonowych bakterii heterotroficznych w dwóch troficznie różnych jeziorach Pojezierza Łęczyńsko-Włodawskiego (Polska). Studia Ośr. Dok. Fizjograf. PAN, Oddział w Krakowie, 26, 2001, (w druku).
6. **Garge M.A., Gorham E.:** Alkaline phosphatase activity and cellular phosphorus as an index of phosphorus status of phytoplankton in Minnesota lakes. Freshwater Biol.,15, 227-323, 1985.
7. **Górniak A., Misztal M.:** Dissolved organic matter in the waters of the catchment basin of Lake Piaseczno, Łęczyńsko-Włodawskie Lake District, Poland. Acta Hydrobiol., 33, 17-29, 1991.
8. **Górniak A., Misztal M.:** Differentation of the composition of organic matter in bottom sediments of the mesotrophic Lake Piaseczno (Łęczyńsko-Włodawskie Lake District, Poland). Acta Hydrobiol., 34, 29-42, 1992.
9. **Halemejko G.Z., Chróst R.J.:** The role of phosphatases in phosphorus mineralization during decompositon of lake phytoplankton blooms. Arch. Hydrobiol., 101, 489-502, 1984.
10. **Jansson M., Olsson H., Pettersson K.:** Phosphatases: orgin, characteristics and function in lakes. Hydrobiol., 170, 157-175, 1988.
11. **Jones J.G.:** Studies on freshwater microorganisms: phosphatase activity in lakes of differing degrees of eutrophication. J. Ecol., 60, 777-791, 1972.
12. **Kobari H., Taga N.:** Occurrence and distribution of phosphatase in neritic and oceanic sediments. Deep-Sea Res., 26A, 799-808, 1979.
13. **Korniłłowicz T.:** The dynamics the quantitative changes of mycoflora in two lakes differing in trophicity (Poland). I. Acta Mycol., 29, 23-31, 1994.
14. **Miettinen I.T., Vartiainen T., Martikainen P.J.:** Bacterial enzyme activities in ground water during bank filtration of lake water. Wat. Res., 30, 2495-2501, 1996.
15. **Olsson H.:** Phosphatase activity in relation to phytoplankton composition and pH in Swedish lakes. Freshwater Biol., 23, 353-362, 1990.

16. **Sayler G.S., Puziss M., Silver M.**: Alkaline phosphatase assay for freshwater sediments: application to perturbed sediment systems. Appl. Environ. Microbiol., 38, 922-927, 1979.
17. **Siuda W.**: Phosphatases and their role in organic phosphorus transformation in natural waters. A review. Pol. Arch. Hydrobiol., 31, 207-233, 1984.
18. **Tabatabai M.A., Bremner J.M.**: Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol. Biochem., 1, 301-307, 1969.
19. **Yiyong Zh.**: UV-sensitive P compounds: release mechanism, seasonal fluctuation and inhibitory effects on alkaline phosphatase activity in a shallow Chinese freshwater lake (Donghu Lake). Hydrobiol., 335, 55-62, 1996.

ACTIVITY OF TOTAL ALKALINE PHOSPHATASE IN CHOSEN LAKES ŁĘCZYŃSKO-WŁODAWSKIE LAKE DISTRICT PART I. LAKE MESOTROPHIC PIASECZNO

J. Furczak[1], *E.J. Bielińska*[2]

[1]Department of Agricultural Microbiology
[2]Institute of Soil Science and Environment Management University of Agriculture
K. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

Summary. Activity of total alkaline phosphatase in water and bottom sediment of different zones of mesotrophic Lake Piaseczno has been studied during 5-year's experiment. Analyses were made in four replications every year (April, May, July, September). It was found that littoral water was characterized with the highest level of the enzyme's activity. It was similar in other zones showing slight increasing trend in methalimnion. Total alkaline phosphatase activity was different in bottom sediments. Its lowest values were observed in littoral, and the highest in pelagial. Based on the enzymatic parameter studied as one of factors of lake eutrophication, no increase of trophicity in Lake Piaseczno was recorded in period under study.

Keywords: total alkaline phosphatase activity, water, bottom sediment, mesotrophic Lake Piaseczno.