

ELŻBIETA JOLANTA BIELIŃSKA, HENRYK DOMŻAŁ \*

**AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNA GLEB LEŚNYCH  
W STREFIE ODDZIAŁYWANIA ZAKŁADÓW AZOTOWYCH  
„PUŁAWY” S.A.**

**Słowa kluczowe:** gleby leśne, aktywność enzymatyczna, zanieczyszczenia przemysłowe

*Streszczenie*

*Zbadano aktywność enzymatyczną gleb w strefie oddziaływania Zakładów Azotowych „Puławy” S.A. na terenie poleśnym, przyległym do Zakładów oraz na obszarach leśnych usytuowanych w Nadleśnictwie Puławy. Przeprowadzono jednoczesne badania aktywności dehydrogenaz, fosfataz, ureazy i proteazy. Aktywność dehydrogenaz, fosfataz i proteazy w badanych glebach wahała się w szerokich granicach, jednak wyraźnie zależała od intensywności presji antropogenicznej. Prawidłowości takiej nie stwierdzono w przypadku aktywności ureazy. Wykazano ściśle dodatnie korelacje pomiędzy aktywnością badanych enzymów a zawartością mineralnych form azotu w glebach. Świadczy to, że badany ekosystem jest w stanie włączyć do obiegu biologicznego związki azotu docierające z atmosfery.*

**Wstęp**

Wybudowane w latach 60. ubiegłego wieku Zakłady Azotowe w Puławach stały się powodem degradacji drzewostanów oraz ubogich gleb bielicoziemnych. Pomimo malejącej od kilku lat emisji przemysłowej ekosystemy leśne usytuowane na wschód od Zakładów Azotowych znajdują się pod stałą presją czynnika toksycznego. Powierzchnia, na której obecnie występują uszkodzenia drzewostanów jest w zasadzie stabilna i mieści się w granicach 8000-9000 ha [Bielińska i Domżał 2004].

Zmiany aktywności enzymatycznej gleb odzwierciedlają wpływ zarówno korzystnych, jak i niekorzystnych czynników środowiskowych, w związku z czym testy enzymatyczne są stosowane w szacowaniu jakości gleby [Januszek 1999]. Pomiar aktywności enzymatycznej dostarcza wcześniejszych dowodów

---

\* Akademia Rolnicza w Lublinie; Instytut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska

subtelnych zmian w środowisku glebowym, na długo przed zmianami składu chemicznego i właściwości fizycznych gleb [Kieliszewska-Rokicka 2001].

Celem pracy było określenie zmian aktywności enzymatycznej gleb w strefie oddziaływania Zakładów Azotowych „Puławy” S.A. w zależności od położenia od źródła emisji.

### Metodyka badań

Badania aktywności enzymatycznej gleb w strefie oddziaływania Zakładów Azotowych „Puławy” S.A. prowadzono w wytypowanych punktach badawczych usytuowanych na terenie poleśnym, w odległości około 0,5 i 0,8 km od Zakładów oraz na obszarach leśnych w obrębie Nadleśnictwie Puławy, w III strefie zagrożenia lasu, w odległości około: 1,2; 2,0 i 5,0 km od źródła emisji. Punkty badawcze zlokalizowano na linii migracji skażonego przez emisje powietrza, w kierunku wschodnim od Zakładów Azotowych. Na badanym terenie występują gleby należące według systematyki PTGleb. do działu gleb autogenicznych, sklasyfikowane do rzędu gleb bielicoziemnych: gleby rdzawe i gleby bielcowe, wytworzone z różnej miąższości piasków eolicznych, zalegających na piaskach fluwiogłacjalnych w podłożu. W punktach badawczych usytuowanych w odległości 0,5 i 0,8 km od Zakładów Azotowych (strefa ochronna Zakładów) występują tam gleba rdzawa właściwa jest pokryta zwartą darnią trzcinnika piaskowego (*Calamagrostis epigejos* (L.) Roth). W obrębie Nadleśnictwa Puławy, na glebach bielcowych, w punktach badawczych zlokalizowanych w odległości około 1,2 i 2,0 km od źródła emisji występuje drzewostan brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth), a w punkcie odległym o około 5,0 km od Zakładów drzewostan sosnowy (*Pinus sylvestris* L.) z dębem szypułkowym (*Qercus robur* L.) i robinią akacjową (*Robinia pseudacacia* L.) tworzącymi II piętro.

Wiosną 2006 roku z głębokości 5-20 cm pobrano próbki glebowe z każdego punktu badawczego w trzech powtórzeniach. Próbki glebowe po zebraniu w terenie i przywiezieniu do laboratorium przygotowywano do analiz z uwzględnieniem specyfiki oznaczeń parametrów biologicznych [ISO 10381-6]. W próbkach gleby oznaczono aktywność: dehydrogenaz [Thalman 1968], fosfataz [Tabatabai i Bremner 1969], ureazy [Zantua i Bremner 1975] i proteazy [Ladd i Butler 1972]. Dodatkowo oznaczono wybrane właściwości chemiczne gleb: pH w 1 mol·dcm<sup>-3</sup> KCl [ISO 10390] oraz zawartość: węgla organicznego [ISO 14235], azotu ogółem [ISO 13878], azotu azotanowego i azotu amonowego [ISO 14255].

Wyniki oznaczeń poddano analizie wariancji. Istotność różnic między średnimi oceniono testem Tukey'a.

## Wyniki badań i dyskusja

Badane gleby charakteryzowały się odczynem bardzo kwaśnym, z pH w 1 mol·dm<sup>-3</sup> KCl od 3,1 do 4,2 (tab. 1). Silne zakwaszenie badanych gleb (powstałych z utworów ubogich w kationy zasadowe) jest uwarunkowane przede wszystkim długotrwałą, intensywną emisją tlenków azotu i amoniaku w formie opadu mokrego i suchego.

Gleby w punktach badawczych usytuowanych najbliżej Zakładów Azotowych (w odległości 0,5 i 0,8 km) cechowały się wyższymi wartościami pH niż gleby na obiektach zlokalizowanych dalej od emitora (w odległości 1,2-5,0 km od Zakładów). Wiązało się to z dopływem do środowiska glebowego pyłów alkalicznych emitowanych przez Zakłady Azotowe.

Tab. 1. Właściwości chemiczne gleb

Odległość od źródła emisji [km]	pH-KCl	C	N	C:N	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
		[g·kg <sup>-1</sup> ]			[mg·kg <sup>-1</sup> ]	
0,5	4,2	9,05	0,60	15,1	16,8	30,1
0,8	4,0	9,28	0,62	14,9	14,6	25,7
1,2	3,5	11,93	0,87	13,7	21,6	41,3
2,0	3,4	12,45	0,92	13,5	23,9	40,7
5,0	3,1	12,97	0,98	13,2	22,8	36,9
NIR <sub>0,05</sub>		0,68	0,03	1,8	1,2	3,5

Największą zawartością C<sub>org</sub> i ogólnej ilości azotu cechowała się gleba w punkcie badawczym zlokalizowanym najdalej od Zakładów Azotowych, w odległości 5,0 km, a najmniejszą gleby na obiektach usytuowanych w bezpośrednim sąsiedztwie źródła emisji (tab. 1). Czynnikiem różnicującym zawartość tych składników w glebach, poza intensywnością wpływów antropogenicznych generowanych głównie przez Zakłady Azotowe, były z pewnością odmienne warunki siedliskowe, stopień rozwoju i skład gatunkowy szaty roślinnej oraz skład chemiczny rozkładającego się materiału organicznego.

Wartości stosunku C:N w badanych glebach zawierały się w przedziale: 13,2-15,1 (tab. 1) i wyraźnie zależały od intensywności presji antropogenicznej. W glebach punktów badawczych położonych w pobliżu źródła emisji wartości C:N były istotnie szersze niż w glebach obiektów usytuowanych dalej od Zakładów Azotowych. Znaczące zawężenie się wartości stosunku C:N w glebach Nadleśnictwa Puławy (w odległości około 1,2-5,0 km) świadczy o wzroście tempa mineralizacji i humifikacji materii organicznej.

Nie wykazano jednoznacznego wpływu odległości od Zakładów Azotowych na zawartość N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> i N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> w glebach. Relatywnie niska zawartość N mineralnego w glebach położonych w najbliższym sąsiedztwie Zakładów Azoto-

wych mogła być efektem intensywnego pobierania tego składnika przez rozłogowe korzenie zwartej darni trzcinnika piaskowego, a także wymywania przez kwaśne wody opadowe w okresie jesień-zima-wiosna. Obserwowane zróżnicowanie zawartości N mineralnego w glebach poszczególnych punktów badawczych wiązało się z nasileniem procesów biochemicznych sterowanych przez enzymy, na co wskazują wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy zawartością  $N-NH_4^+$  i  $N-NO_3^-$  w glebach a aktywnością badanych enzymów (tab. 3).

W badanych glebach zawartość amonowej formy azotu była kilkakrotnie większa niż azotanowej (tab. 1). Znaczącym czynnikiem decydującym o relacjach obu form azotu mineralnego w glebach był odczyn. Silne zakwaszenie badanych gleb mogło przyczynić się do spowolnienia tempa procesów mikrobiologicznego utleniania jonów amonowych. Należy podkreślić, że azotany (V) są znacznie bardziej narażone na straty niż sole amonowe ze względu na większą różnorodność procesów prowadzących do strat. Oprócz strat w postaci gazowej ( $NO$ ,  $N_2O$  i  $N_2$ ) znaczną rolę odgrywa wymywanie z gleby przez wody opadowe, oraz łatwość migracji dyfuzyjnej. Ponadto łatwość przemieszczania azotanów nieograniczona przez procesy sorpcyjne, zwiększa ich dostępność i sprzyja pobieraniu tej formy przez rośliny w porównaniu z formą amonową.

Aktywność enzymatyczna gleb była wyraźnie zróżnicowana w poszczególnych punktach badawczych. Nasilenie i kierunek obserwowanych zmian zależne były od indywidualnych właściwości badanego enzymu (tab. 2).

Aktywność dehydrogenaz w badanych glebach była na wyraźnie niższym poziomie niż w glebach piaszczystych w naturalnych ekosystemach leśnych i kształtowała się w zakresie: od  $1,12 \text{ cm}^3 \text{ H}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  w glebie usytuowanej najbliżej źródła emisji (około 0,5 km) do  $2,59 \text{ cm}^3 \text{ H}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$  w glebie położonej w odległości około 5,0 km od Zakładów Azotowych (tab. 2). Wysoką inaktywację dehydrogenaz w glebach w warunkach długotrwałej emisji przemysłowej wykazały także inne badania [Januszek 1999]. Dehydrogenazy, enzymy występujące w glebie jako integralna część nienaruszonych, żywych komórek drobnoustrojów, są enzymami szczególnie wrażliwymi na działanie naturalnych i antropogenicznych czynników środowiskowych [Januszek 1999; Kieliszewska-Rokicka 2001]. Obserwowano sukcesywny wzrost aktywności tej grupy enzymów wraz z odległością od źródła emisji (tab. 2).

Podobnie jak w przypadku dehydrogenaz aktywność fosfataz i proteazy w badanych glebach wzrastała sukcesywnie wraz z odległością od Zakładów Azotowych i mieściła się w zakresie: aktywność fosfataz od 15,7 do 19,4 mmol PNP $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ; aktywność proteazy od 9,8 do 14,2 mg tyrozyny $\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  (tab. 2). Prawidłowości takiej nie stwierdzono w przypadku aktywności ureazy. Aktywność ureazy w badanych glebach kształtowała się w zakresie: od 3,32 do 5,71 mg  $N-NH_4^+ \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  i w punktach badawczych położonych najbliżej Zakładów

Azotowych była około 2-3-krotnie większa niż w glebach obiektów usytuowanych dalej od źródła emisji (tab. 2). Ureaza jest odporna na działanie czynników zewnętrznych, a w warunkach stresowych obserwuje się wzrost jej aktywności. Jedynym czynnikiem limitującym jej aktywność jest dostępność substratu – mocznika [Carbrera i in. 1994]. Badania Bielińskiej [2002] wykazały, że wysoki poziom aktywności ureazy w glebie polesnej w pobliżu Zakładów Azotowych „Puławy” S.A. wiązał się z emisją pyłów nawozowych (mocznika i saletry amonowej).

Tab. 2. Aktywność enzymatyczna gleb (dehydrogenazy w  $\text{cm}^3 \text{H}_2 \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , fosfatazy w  $\text{mmol PNP} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , ureaza w  $\text{mg N-NH}_4^+ \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , proteaza w  $\text{mg tyrozyny} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

Odległość od źródła emisji [km]	Dehydrogenazy	Fosfatazy	Ureaza	Proteza
0,5	1,12	15,7	5,98	9,8
0,8	1,30	16,5	6,12	10,3
1,2	1,74	17,6	2,96	12,1
2,0	2,21	18,2	3,02	12,7
5,0	2,59	19,4	1,89	14,2
NIR <sub>0,05</sub>	0,12	1,8	0,32	0,60

Z danych zawartych w tabeli 3 wynika, że aktywność wszystkich badanych enzymów była dodatnio, statystycznie istotnie, skorelowana z zawartością:  $\text{C}_{\text{org}}$ ,  $\text{N}_{\text{og}}$  i azotanów (V) w glebach. Aktywność dehydrogenaz i fosfataz ściśle związku wykazywała także z zawartością azotu amonowego w analizowanych glebach. Badania niektórych autorów [Kieliszewska-Rokicka 2001] wskazują na niekorzystny wpływ związków amonowych na aktywność ureazy i proteazy w glebach. Warto również podkreślić, że ściśle dodatnie korelacje pomiędzy parametrami aktywności biologicznej a zawartością mineralnych form azotu w badanych glebach świadczą o tym, że badany ekosystem jest w stanie włączyć do obiegu biologicznego związku azotu docierające z atmosfery.

Tab. 3. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy badanymi parametrami biochemicznymi a właściwościami chemicznymi gleb

	C organiczny	N ogółem	$\text{N-NO}_3^-$	$\text{N-NH}_4^+$
Dehydrogenazy	0,74*	0,78*	0,57*	0,48*
Fosfatazy	0,63*	0,64*	0,51*	0,47*
Ureaza	0,65*	0,68*	0,56*	n.i.
Proteza	0,55*	0,56*	0,46*	n.i.

\* istotne przy  $p = 0,05$ ; n.i. – nie istotne

Wpływ na kształtowanie się aktywności enzymatycznej badanych gleb miała nie tylko zróżnicowana, w zależności od położenia od źródła emisji intensywność presji antropogenicznej, ale także odmienny charakter roślinności w poszczególnych punktach badawczych. Skład gatunkowy szaty roślinnej wpływa na nagromadzenie się w glebie specyficznych substratów dla reakcji enzymatycznych [Dahm 1984; Koper i Piotrowska 1996]. Burns [1983] podkreśla, że oddziaływanie roślin wyższych na enzymy glebowe zależy od składu chemicznego rośliny, który nawet w przypadku samych wydzielin korzeniowych może być inny u różnych rodzajów, gatunków, a nawet odmian. Według Dahm [1984] indywidualny wpływ poszczególnych gatunków na aktywność enzymatyczną gleby jest związany z różnym składem gatunkowym bakterii zasiedlających korzenie roślin.

Kolejnym czynnikiem modyfikującym aktywność enzymatyczną analizowanych gleb były z pewnością zróżnicowane w poszczególnych punktach badawczych warunki siedliskotwórcze (nasłonecznienie, temperatura, wilgotność). Aktywność enzymów uzależniona jest w dużej mierze od wilgotności i natlenienia gleby. Odpowiednio duża wilgotność gleby jest warunkiem podstawowym dla działania enzymów glebowych [Koper i Piotrowska 1996].

Podsumowując należy stwierdzić, że wykazane zależności pomiędzy aktywnością enzymatyczną i chemicznymi właściwościami gleb ukształtowanymi na tle zróżnicowanej, w zależności od odległości od Zakładów Azotowych presji antropogenicznej i odmiennej szaty roślinnej, wskazują, że wybrane parametry aktywności biologicznej mają dużą wartość porównawczą charakteryzując zjawiska kompleksowe o różnym stopniu złożoności, co w praktyce pozwala na ich wykorzystanie do szybkiej oceny jakości gleb.

## Wnioski

1. Aktywność enzymatyczna gleb była zróżnicowana w zależności od położenia od źródła emisji i od rodzaju badanego enzymu.
2. Aktywność dehydrogenaz, fosfataz i proteazy w badanych glebach wahała się w szerokich granicach, jednak wyraźnie zależała od intensywności presji antropogenicznej. Prawidłowości takiej nie stwierdzono w przypadku ureazy, co potwierdza, że jedynym czynnikiem limitującym aktywność tego enzymu jest dostępność substratu – mocznika.
3. Spośród badanych enzymów największą wrażliwość na antropogeniczne czynniki stresowe wykazywały dehydrogenazy.
4. Sukcesywny wzrost aktywności enzymatycznej gleb wraz z odległością od źródła emisji jest wskaźnikiem narastania ich zdolności samoregulacyjnej.

5. Analiza statystyczna wyników wykazała ściśle dodatnie korelacje pomiędzy parametrami aktywności biologicznej a zawartością mineralnych form azotu w glebach. Świadczy to, że badany ekosystem jest w stanie włączyć do obiegu biologicznego związki azotu docierające z atmosfery.
6. Badanie z tego zakresu powinny być kontynuowane, ponieważ ułatwią wybór zabiegów związanych z ochroną i renaturyzacją ekosystemów leśnych w obszarze oddziaływania Zakładów Azotowych „Puławy” S.A.

### Literatura

1. BIELIŃSKA E.J.: *Aktywność enzymatyczna gleb wskaźnikiem ich zanieczyszczenia*. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*, 47 (1), 38-44, 2002
2. BIELIŃSKA E.J., DOMŻAŁ H.: *Zastosowanie testów enzymatycznych do oceny antropogenicznych przekształceń gleb leśnych na terenie Nadleśnictwa Puławy*. *Rocz. Glebozn.* 55, 61-68, 2004
3. BURNS R.G.: *Extracellular enzyme-substrate interactions in soil*. [W:] Slater H. (red.), *Microbes in their natural environments*, Cambridge University Press, New York, 249-298, New York 1983
4. CARBRERA M.L., KISSEL D.L., BOCK B.R.: *Urea hydrolysis in soil. Effect of urea concentration and soil pH*. *Soil Biol. Biochem.* 23, 1121-1124, 1994
5. DAHM H.: *Generic composition and physiological and cultural properties of heterotrophic bacteria isolated from soil, rhizosphere and mycorrhizosphere of pine (Pinus sylvestris L.)*. *Acta Microbial. Pol.* 33, 2, 147-156, 1984
6. JANUSZEK K.: *Aktywność enzymatyczna wybranych gleb leśnych Polski południowej w świetle badań polowych i laboratoryjnych*. *Zesz. Nauk. AR w Krakowie, ser. Rozprawy*, 250, 114-117, Kraków 1999
7. KIELISZEWSKA-ROKICKA B.: *Enzymy glebowe i ich znaczenie w badaniach aktywności mikrobiologicznej gleby*. *Drobnoustroje środowiska glebowego*. (red.) H. Dahm, A. Pokojska-Burdziej, UMK Toruń, 37-47, Toruń 2001
8. KOPER J., PIOTROWSKA A.: *Aktywność enzymatyczna gleby płowej w zależności od uprawy roślin w zmianowaniu i monokulturze*. *Rocz. Glebozn.*, 47: 89-100, 1996
9. LADD 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. TABATABAI M. A., BREMNER J.M.: *Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity*. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301-307, 1969

11. THALMANN A.: *Zur Methodik derestimmung der Dehydrogenase aktivität in Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC)*. Landwirtsch. Forsch., 21, 249-258, 1968.
12. ZANTUA M.I., BREMNER J.M.: *Comparison of methods of assaying urease activity in soils*. Soil Biol. Biochem., 7, 291-295, 1975

## ENZYMATIC ACTIVITY OF FOREST SOILS IN THE ZONE OF INFLUENCE OF ZAKŁADY AZOTOWE "PUŁAWY" S.A.

**Key words:** forest soils, enzymatic activity, industrial pollution

### *S u m m a r y*

*The enzymatic activity of soils was tested in the zone of influence of Zakłady Azotowe "Puławy" S.A. [Nitric Works], in a deforested area adjacent to the Works and in forest areas of the Puławy Forest Inspectorate. At the same time, tests of the activity of dehydrogenases, phosphatases, urease and protease were carried out. The activity of dehydrogenases, phosphatases and protease in the examined soils varied within a broad range, however, they were clearly dependent on the anthropogenic pressure intensity. Such a regularity was not observed in case of urease activity. Direct positive correlations were indicated between the examined enzymes' activity and the content of mineral forms of nitrogen in soils. This proves that the ecosystem under examination is able to introduce nitrogen compounds of atmospheric origin into the biological cycle.*