

<sup>1</sup>Institut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska, Akademia Rolnicza w Lublinie  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland

<sup>2</sup>Katedra Roślin Przemysłowych i Leczniczych, Akademia Rolnicza w Lublinie

Elżbieta Jolanta Bielińska<sup>1</sup>, Janusz Wiśniewski<sup>2</sup>

**Zastosowanie testów enzymatycznych do oceny czynników  
hamujących procesy degradacji gleby w uprawie tytoniu**

Appliance of enzymatic tests for the estimation of factors which inhibit the degradation processes  
of soil under tobacco

ABSTRACT. The aim of the present study was to determine the effect of the application of various fertilizers on the enzymatic activity of Haplic Podzol soil in which (*Virginia* type, *Wiślica* cultivar) tobacco had been cultivated. In a four-year experiment, the effects of multi-component fertilizers (i.e. Azofoska, Flovit, Mis – 4) and single component fertilizers (control – without fertilization) were compared. Fertilizer doses were based on the amount of N – 30 kg ha<sup>-1</sup> (in the case of a single-component fertilizer the total amount of NPK was 240 kg ha<sup>-1</sup>). Soil chemical properties, its enzymatic activity and fertility depend upon the kind of fertilizers applied. The most favorable conditions in this respect were observed in the soil in which Azofoska and Flovit were applied and which gave the highest yields of tobacco leaves. Lower yields (lower than in control) were obtained from plots fertilized with Mis – 4 with soils of poor enzymatic activity, a low content of organic C and the highest acidity. The above results confirm the hypothesis that enzyme activity in a soil profile constitutes a reliable representation of soil fertility when the coefficient of the correlation between the enzymatic activity of the enzymes examined and tobacco yield is high.

KEY WORDS: soil under tobacco, enzymatic activity

Intensyfikacja rolnictwa spowodowała głębokie zmiany biocenotyczne i naruszyła równowagę biologiczną w ekosystemach lądowych. Koniecznym warunkiem ochrony ekologicznej gleb jest racjonalne nawożenie mineralne roślin uprawnych. Ponieważ tytoń jest uprawiany głównie na glebach lekkich, które są szczególnie podatne na procesy degradacyjne, problem nawożenia mineralnego

jest istotny nie tylko ze względu na plon i jakość surowca tytoniowego, ale również z punktu widzenia proekologicznego. Stosowanie nawozów mineralnych w formie nawozów wieloskładnikowych, o właściwych proporcjach składników pokarmowych dla roślin i alternatywnym składzie, pozwala na uwzględnienie zagrożeń chemicznych w agroekosystemie [Łabuda 1994].

Wszystkie przemiany substancji biogenych, zachodzące w glebie, stymulowane są przez enzymy, warunkujące ich przejście w formy dostępne dla roślin i mikroorganizmów. Testy enzymatyczne należą do jednych z bardziej wrażliwych wskaźników funkcjonowania ekosystemu [Trasar-Cepeda i in. 1998]. Celem podjętych badań było określenie wpływu stosowania różnych nawozów mineralnych na aktywność enzymatyczną gleby biellicowej (Haplic Podzol) pod uprawą tytoniu papierosowego.

#### METODY

Niniejsze badania przeprowadzono opierając się na czteroletnim doświadczeniu polowym założonym na glebie biellicowej (Haplic Podzol), wytworzonej z piasku słabogliniastego. Gleba zaliczona jest do V klasy bonitacyjnej. W schemacie modelowym doświadczenia, założonego metodą rozszczepionych poletek (split-plot w latach), w 4 powtórzeniach, uwzględniono następujące obiekty nawozowe: poletka nawożone nawozami wieloskładnikowymi: Azofoską; Flovitem i Mis-4 i poletka nawożone nawozami pojedynczymi (NPK).

Nawozy wysiewano w dawce jednorazowej wiosną każdego roku. Obiekt kontrolny stanowiły poletka bez nawożenia mineralnego. Dawki nawozów ustalono na podstawie zrównoważonej ilości azotu –  $30 \text{ kg N ha}^{-1}$ . Na poletkach uprawiano tytoń jasny typu *Virginia*, odmiany uprawnej *Wiślica*.

Tabela 1. Dawki i skład chemiczny nawozów  
Table 1. Rates and chemical composition of fertilizers

Nawóz Fertilizer	Dawka nawozu Rates of fertilization $\text{kg ha}^{-1}$	Skład nawozu wg producenta Fertilizer composition according to manufacturer's data
Azofoska	220	N-13,6%, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -6,4%, K <sub>2</sub> O-9,1%, MgO-4,5%, B-0,04%, Zn-0,04%, Mn-0,27%, Cu-0,18%, Mo-0,09%
Flovit	750	N-4,0%, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -2,0%, K <sub>2</sub> O-18,0%, MgO-7,0%, B-0,02%, Zn-0,10%, Mn-0,25%, Cu-0,10%, Mo-0,02%
Mis-4	400	N-7,5%, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -15,0%, K <sub>2</sub> O-15,5%, MgO-4,5%, B-1,8%, Zn-0,6%, Mn-0,26%, Cu-0,87%, Mo-0,03%
NPK	240	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> -30 $\text{kg ha}^{-1}$ N, Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O-90 $\text{kg ha}^{-1}$ P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> -120 $\text{kg ha}^{-1}$ K <sub>2</sub> O

Dawki i skład chemiczny stosowanych nawozów mineralnych przedstawiano w tabeli 1.

W 2002 roku próbki gleby do analiz aktywności enzymatycznej oraz właściwości chemicznych pobrano z warstwy 0–20 cm, z każdego poletka, w dwóch terminach w ciągu sezonu wegetacyjnego: I – po zbiorze liści środkowych i II – po zbiorze wszystkich liści. W próbkach gleby oznaczono aktywność: dehydrogenaz [Thalmann 1968], fosfataz [Tabatabai, Bremner 1969], ureazy [Zantua, Bremner 1975] i proteazy [Ladd, Butler 1972] oraz następujące właściwości chemiczne: odczyn – pH w 1 mol dm<sup>-3</sup> KCl [ISO 10390], węgiel organiczny [ISO 14235], azot ogółem [ISO 13878], azot azotanowy i azot amonowy [ISO 14255]. Wyniki tych analiz rozpatrywano na tle uzyskanych plonów liści tytoniu.

#### WYNIKI

Największą akumulacją węgla organicznego i ogólnej ilości azotu cechowała się gleba nawożona Azofoską i Flovitem, najmniejszą zaś gleba nawożona Mis-4. W przypadku Mis-4 zawartość N-ogół. była istotnie mniejsza niż w glebie obiektu kontrolnego (tab. 2).

Gleba badanych obiektów charakteryzowała się odczynem lekko kwaśnym. Wyraźny spadek wartości pH zanotowano w glebie nawożonej Mis-4 (tab. 2).

Największe zawartości mineralnych form azotu NO<sub>3</sub><sup>-</sup> i NH<sub>4</sub><sup>+</sup> stwierdzono w glebie nawożonej Mis-4, a najmniejsze w glebie nawożonej Azofoską i Flovitem, przy czym i tutaj obserwowano istotny wzrost zawartości tych składników w stosunku do gleby bez nawożenia (tab. 2).

Tabela 2. Właściwości chemiczne gleby (średnia dla terminu) i plon tytoniu (dt ha<sup>-1</sup>)  
Table 2. Soil chemical properties (means for date) and yield of tobacco (dt ha<sup>-1</sup>)

Obiekt Site	C-org. Org. C	N-ogół. N-total	pH <sub>KCl</sub>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Plon Yield t ha <sup>-1</sup>
	g kg <sup>-1</sup>			mg kg <sup>-1</sup>		
Gleba Soil + Azofoska	8,61	0,90	6,6	41,4	68,4	27,2
Gleba Soil + Flovit	8,50	0,89	6,7	42,3	69,2	24,8
Gleba Soil + Mis-4	7,58	0,79	6,1	52,9	83,1	22,1
Gleba Soil + NPK	8,28	0,86	6,5	44,1	72,5	25,3
Gleba Soil	7,43	0,82	6,7	33,4	64,4	22,5
NIR <sub>0,05</sub> LSD <sub>0,05</sub>	0,20	0,02	-	1,3	2,9	1,0

Aktywność enzymatyczna gleby (tab. 3) i plonowanie tytoniu (tab. 2) były istotnie zróżnicowane w zależności od rodzaju stosowanych nawozów mineralnych. Należy podkreślić, że pomimo obserwowanych wahań sezonowych rodzaj stosowanych nawozów okazał się decydującym czynnikiem, kształtującym badane parametry aktywności enzymatycznej.

Tabela 3. Aktywność enzymatyczna gleby (ADh – dehydrogenaza w  $\text{cm}^3 \text{H}_2 \text{kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , AF – fosfataza w  $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , AU – ureaza w  $\text{mg N-NH}_4 \text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , AP – proteaza w  $\text{mg tyrosyna kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ )  
Table 3. Enzymatic activity of soil (DhA – dehydrogenase in  $\text{cm}^3 \text{H}_2 \text{kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , PhA – phosphatase in  $\text{mmol PNP kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , UA – urease in  $\text{mg N-NH}_4 \text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ , PA – protease in  $\text{mg tyrosine kg}^{-1} \text{h}^{-1}$ )

Obiekt Site	ADh DhA		AF PhA		AU UA		AP PA	
	Termin Date							
	I	II	I	II	I	II	I	II
Gleba Soil + Azofoska $\bar{x}$	3,02 3,29	3,57	33,15 35,68	38,21	27,96 33,55	39,15	16,38 19,05	21,72
Gleba Soil + Flovit $\bar{x}$	2,89 3,14	3,40	29,83 31,19	32,56	25,60 31,01	36,43	15,92 17,57	19,23
Gleba Soil + Mis-4 $\bar{x}$	2,32 2,56	2,80	19,98 20,72	21,47	18,02 23,90	29,78	10,34 12,50	14,67
Gleba Soil + NPK $\bar{x}$	2,69 2,92	3,15	24,72 27,15	29,58	23,12 28,76	34,40	14,22 15,76	17,30
Gleba Soil $\bar{x}$	2,58 2,76	2,94	22,39 24,60	26,81	19,28 25,41	31,55	12,80 14,44	16,08
NIR <sub>0,05</sub> dla obiekt site termin date	0,07 0,04		0,61 0,32		0,87 0,53		0,44 0,19	

I – po zbiorze liści środkowych after harvesting the middle leaves

II – po zbiorze wszystkich liści after harvesting all leaves

Stosowane nawozy można uszeregować pod względem ich oddziaływania na aktywność enzymatyczną gleby i plonowanie tytoniu następująco: najkorzystniej wpływało nawożenie Azofoską, potem Flovitem, NPK i Mis-4. W przypadku Mis-4 zarówno aktywność enzymów w glebie, jak i plon tytoniu były istotnie niższe niż z poletek bez nawożenia mineralnego.

Aktywność wszystkich badanych enzymów korelowała dodatnio ze sobą i z plonami tytoniu na poziomie  $p = 0,01$  (tab. 4).

Przeprowadzone badania wykazały, że decydującym czynnikiem kształtującym aktywność enzymatyczną i właściwości chemiczne badanej gleby był rodzaj stosowanych nawozów mineralnych. Asortyment stosowanych nawozów spowodował istotne zmiany w produktywności gleby, mierzonej zarówno wielkością plonów tytoniu, jak i parametrami jej aktywności enzymatycznej. Aktywność enzymów w glebach jest uwarunkowana wieloma czynnikami. Należą do

nich m. in.: zawartość materii organicznej, pH gleb, zawartość pierwiastków biogennych, liczebność i stan gatunkowy mikroorganizmów [Abrayman 1993]. Czynniki te są w znacznym stopniu kształtowane przez stosowane zabiegi agrotechniczne [Dick 1984]. Nawożenie Azofoską i Flovitem było jednym z czynników hamujących procesy degradacyjne badanej gleby lekkiej, wywoływało bowiem takie zmiany podstawowych elementów jej żyzności, które w obrębie prowadzonego doświadczenia zapewniały najwyższe plony tytoniu. Przeciwnie tendencje obserwowano w przypadku nawożenia gleby Mis-4. Na poletkach nawożonych Mis-4, charakteryzujących się osłabioną aktywnością enzymatyczną, niską zawartością C-org. i N-ogól. oraz wzrostem zakwaszenia gleby, uzyskano najmniejsze plony tytoniu, nawet niższe niż z poletek obiektu kontrolnego. Ponadto poziom aktywności enzymatycznej gleby nawożonej Mis-4 był niższy od stwierdzonego w obiekcie kontrolnym. Obserwacja ta dowodzi, że stosowanie Mis-4 mogło naruszać naturalną strukturalną i funkcjonalną równowagę mikrobiologiczną środowiska glebowego. Zjawisko to mogło być spowodowane zanieczyszczeniem omawianego nawozu metalami ciężkimi, zwłaszcza Cd i Zn.

Tabela 4. Współczynniki korelacji między aktywnością enzymatyczną gleby i plonem tytoniu  
Table 4. Correlation coefficients between enzymatic activity of soil and yield of tobacco

	Plon Yield	ADh DhA	AF PhA	AU UA	AP PA
Plon Yield	-	0,88	0,88	0,85	0,89
ADh DhA	**	-	0,95	0,93	0,95
AF PhA	**	**	-	0,96	0,98
AU UA	**	**	**	-	0,95
AP PA	**	**	**	**	-

\*\* Istotne przy  $p = 0,01$  significant at  $p = 0.01$

Badania Bielińskiej i in. [1999] nad wpływem nawożenia mineralnego na zawartość metali ciężkich w glebie pod uprawą tytoniu wykazały, że gleba nawożona niektórymi nawozami wieloskładnikowymi i NPK cechowała się około dwukrotnie większą zawartością Cd i Zn niż gleba bez nawożenia mineralnego. Dopływ do gleby metali ciężkich powoduje zmiany ilościowe i jakościowe w składzie mikroflory glebowej, a w konsekwencji zmiany w aktywności enzymów i doprowadza do zakłóceń w prawidłowym metabolizmie składników gleby [Dahm i in. 1997]. Szkodliwość metali ciężkich wynika głównie z ich właściwości biochemicznych oraz podatności na bioakumulację w środowisku glebowym. Tolerancja ekosystemów na wszelkie zmiany zawartości pierwiast-

ków jest zróżnicowana i zależy głównie od właściwości buforowych gleb. Wraz ze zwiększeniem substancji organicznej w glebie zwiększa się znacznie pojemność glebowego kompleksu sorpcyjnego, co ma znaczący wpływ na aktywność mikroorganizmów glebowych [Gostkowska i in. 1998] i na mobilność pierwiastków śladowych w glebie [Xian 1989]. W świetle uzyskanych wyników wydaje się, że przed podjęciem decyzji o dopuszczeniu nowo wyprodukowanego asortymentu nawozów mineralnych do powszechnego użytkowania powinno się określać poziom zanieczyszczenia metalami ciężkimi, a także poddawać je testom opartym na badaniu poziomu aktywności enzymów w glebach. Testy takie są wykonywane w przypadku nowo wyprodukowanych pestycydów [Kiss i in. 1993]. Na podstawie uzyskanych wyników można uznać, że aktywność dehydrogenaz, ureazy, fosfatazy i proteazy wiarygodnie odzwierciedla żyzność gleby w badanych obiektach nawozowych. Świadczą o tym wartości współczynników korelacji pomiędzy aktywnością analizowanych enzymów i plonem tytoniu ( $r = 0,85-0,89$ ). Dick [1994] podkreśla, że właściwości enzymatyczne gleby, związane z działalnością drobnoustrojów oraz organizmów wyższych (roślinnych i zwierzęcych) i wydzielanych przez nie enzymów, wpływają istotnie na żyzność gleby.

W glebie nawożonej Azofoską i Flovitem stwierdzono większe wykorzystanie mineralnych form azotu, co mogło wiązać się ze znacznie lepszym plonowaniem tytoniu na tych poletkach. Funke [1983] wykazał, że lepsze plonowanie może przyczynić się do zwiększonego wykorzystania składników mineralnych, wnoszonych do gleby z nawozami. Należy podkreślić, że wyjątkowo niskiej aktywności enzymatycznej gleby z poletek nawożonych Mis-4 towarzyszyła najwyższa akumulacja  $N-NO_3^-$  i  $N-NH_4^+$  w glebie. Składniki pokarmowe zawarte w nawozach mineralnych mogą być nieprzyswajalne z powodu braku właściwej działalności mikroorganizmów glebowych [Gostkowska i in. 1998].

#### WNIOSKI

1. Czynnikiem kształtującym właściwości enzymatyczne i urodzajność badanej gleby był rodzaj stosowanych nawozów.
2. Wyniki badań wskazują na bezpośrednie związki pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a uzyskiwanymi plonami tytoniu, co potwierdza dużą przydatność wybranych parametrów aktywności enzymatycznej do oceny jakości gleby.
3. Przed podjęciem decyzji o dopuszczeniu nowo wyprodukowanego asortymentu nawozów mineralnych do powszechnego użytkowania powinno się określać poziom zanieczyszczenia metalami ciężkimi, a także poddawać je testom opartym na badaniu poziomu aktywności enzymów w glebach.

## PIŚMIENICTWO

- Abrayman S.A. 1993. Variation of enzyme activity of soil under the influence of natural and anthropogenic factors. *Soil Sci.* 25, 57–74.
- Bielińska E.J., Magierski J., Wiśniewski J. 1999. The effect of mineral fertilization on the content of some heavy metals in soil under tobacco. *Annales UMCS, Sec. E*, 55, 153–159.
- Dahm H., Li Ch.-Y., Januszek K. 1997. Development of microorganisms and oxidation of some organic compounds in soil polluted with heavy metals. *Polish J. Soil Sci.* 30, 2, 55–63.
- Dick R.P. 1994. Soils enzyme activities as indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment. *Special Pub. 35. Soil Sci. Soc. Am. Inc., Madison, WI*, 107–124.
- Dick W.W. 1984. Influence of long-term tillage and crop rotation combination on soil enzyme activities. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 3, 569–574.
- Funke W. 1983. Verkürzung der Anlaufphase bei Obst-Neupflanzungen durch Abdecken der Pflanzstreifen mit Schwarzfolie. *Erwerbsobstbau* 5, 108–110.
- Gostkowska K., Furczak J., Domżał H., Bielińska E.J. 1998. Suitability of some biochemical and microbiological tests for the degradation degree of Podzolic Soil on the background of its differentiated usage. *Polish J. Soil Sci.* 30, 2, 69–78.
- Kiss S., Drăgan-Bularda M., Pașca D. 1986. Activity and stability of enzyme molecules following their contact with clay mineral surfaces. *Studia Univ. Babeș-Bolyai, Biology* 31, 2, 3–29.
- Ladd N., Butler J.H.A. 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.* 4, 19–30.
- Łabuda S. 1994. Skład pierwiastkowy nawozów w Polsce. *Annales UMCS, Sec. E*, 49 Suppl., 133–147.
- Tabatabai M.A., Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1, 301–307.
- Thalman A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenasenaktivität in Bodenmitteln Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* 21, 249–258.
- Trasar-Cepeda C., Leiros C., Gil-Sotres F. 1998. Towards a biochemical quality index for soils. *Biol. Fertil. Soils* 26, 100–106.
- Xian X. 1989. Effect of chemical forms of cadmium, zinc and lead in polluted soils on their uptake by cabbage plants. *Plant and Soil* 113, 257–264.
- Zantua M.I., Bremner J.M. 1975. Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 7, 291–295.

