

1996]. Kucharski i in. [2000] stwierdzili, że wpływ osadu ściekowego na aktywność enzymatyczną gleb związany jest z pochodzeniem osadów oraz z poziomem zawartych w nich związków mineralnych i organicznych. Baran i in. [1998, 1999] dowiedli, że istnieje wysoka korelacja pomiędzy wysokością dawki osadu ściekowego a aktywnością enzymatyczną gleby.

Wpływ nawożenia na aktywność enzymatyczną gleby zależy od typu gleby, badanego enzymu i czasu stosowania nawozu. Nawożenie organiczne jest bardziej korzystne dla aktywności biologicznej gleby niż mineralne. Pobudza ono rozwój mikroorganizmów glebowych i aktywność enzymatyczną gleby [Koper, Piotrowska 2001]. Przeprowadzone badania miały na celu określenie wpływu nawożenia osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni na aktywność wybranych enzymów glebowych (dehydrogenaz, proteazy i ureazy).

METODY

Badania wpływu osadu ściekowego na aktywność enzymatyczną gleby przeprowadzono w oparciu o doświadczenie polowe założone na glebie brunatnej, o lekko kwaśnym odczynie, wytworzonej z utworu pyłowego ilastego, zawierającego 8% frakcji piasku, 48% frakcji pyłu i 46% części spławialnych.

W doświadczeniu zastosowano następujące kombinacje: K – gleba kontrolna, bez osadu, 1 – gleba nawożona osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni, 2 – gleba nawożona osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni i obornikiem. Kombinacje 1 i 2 zostały obsiane burakiem cukrowym, natomiast gleba kontrolna pszenicą ozimą. Zastosowana ilość osadu wynosiła $22 \text{ t ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$, a ilość obornika $20 \text{ t ha}^{-1} \text{ rok}^{-1}$. Nawożenie organiczne uzupełniono nawożeniem mineralnym w postaci soli potasowej w ilości 400 kg ha^{-1} , nawozu azotowego Salmag w ilości $200\text{--}250 \text{ kg ha}^{-1}$ i saletry amonowej w ilości 100 kg ha^{-1} .

Z badanego poletka pobierano do worków plastikowych 10–15 próbek gleby z głębokości 0–20 cm, uzyskując w ten sposób próbkę średnią. Glebę dokładnie mieszano i przesiewano przez sita o średnicy oczek 2 mm. Z tak uśrednionej próbki pobierano glebę do analiz biochemicznych. Oznaczenia biochemiczne wykonano w maju (10 V), czerwcu (6 VI), lipcu (28 VII) i październiku (1 X) 2003 roku, w pierwszym roku stosowania osadu. Badania te obejmowały:

1. Oznaczenie aktywności dehydrogenaz metodą Thalmanna [Thalmann 1968]. W 100 ml kolbkach umieszczono po 5 g przesianej gleby i dodawano po 5 ml 1% TTC, rozpuszczonego w buforze Tris-HCl o pH 7,4. Tak przygotowane próbki gleby inkubowano 96 godzin w temperaturze 30°C . Po inkubacji do kolbek dodawano po 20 ml metanolu i wytrząsano 5 minut, po czym sączono. Przesącz oznaczano spektrofotometrycznie przy długości fali 485 nm.

2. Oznaczenie aktywności proteazy metodą Ladda i Butlera [Ladd, Butler 1972]. Do próbek naważano po 2 g przesianej gleby, a następnie dodawano po 5 ml kazeinianu sodu, rozpuszczonego w buforze tris-HCl o pH 8,1. Inkubowano 1 godzinę w temperaturze 50°C, a następnie dodawano po 2 ml 17,5% TCA. Po przesączeniu pobierano po 2 ml przesączu i szybko mieszano z 3 ml 1,4 mol węglanu sodu, po czym dodawano po 1 ml trzykrotnie rozcieńczonego odczynnika Folina. Oznaczano przy długości fali 578 nm.

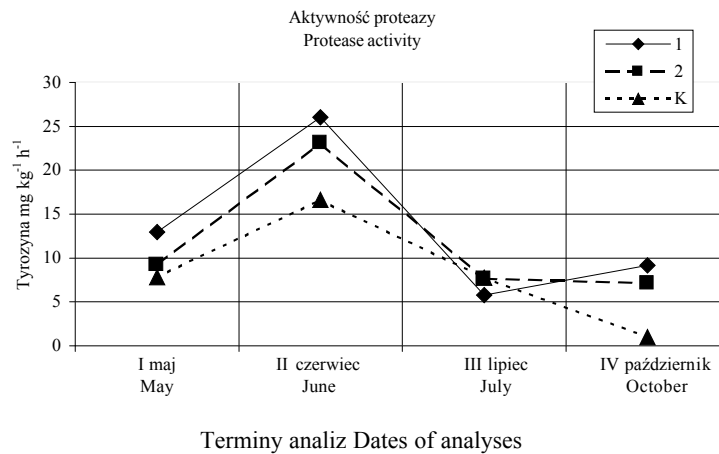
3. Oznaczenie aktywności ureazy zmodyfikowaną metodą Zantua [Zantua, Bremner 1975]. Do szklanych butelek naważano po 10 g przesianej gleby, dodawano po 1,5 ml toluenu i po 10 ml roztworu mocznika. Tak przygotowane próbki glebowe inkubowano w temperaturze 37°C przez 18 godzin. Po inkubacji dodawano po 50 ml 0,03 mol kwasu octowego i wytrząsano przez 20 minut. Po przesączeniu oznaczano N-NH₄ metodą Nesslera (2 ml przesączu + 2 ml wianianu sodowo-potasowego + 2 ml odczynnika Nesslera + woda destylowana do 100 ml). Kolorymetrowano przy długości fali 410 nm.

Oznaczenie pH_{KCl} gleby przeprowadzono metodą potencjometryczną.

WYNIKI

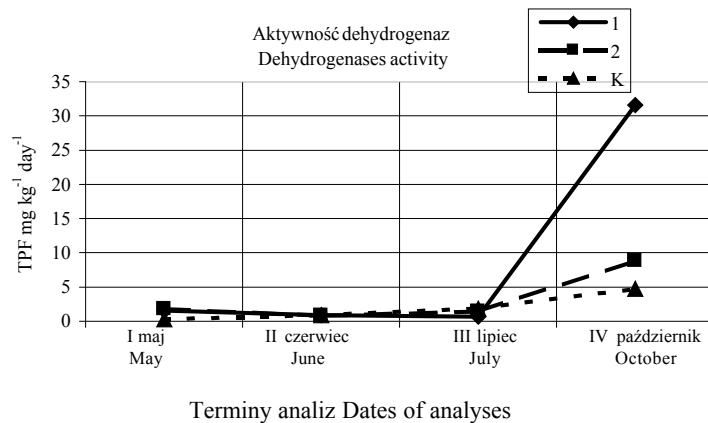
Badania wpływu osadów ściekowych na aktywność enzymatyczną gleb w dostępnej literaturze dotyczą głównie osadów komunalnych i przemysłowych [Baran i in. 1996; Baran i in. 1999; Kucharski i in. 2000], brak jest natomiast danych na temat wpływu osadów ściekowych pochodzących z mleczarni na aktywność mikrobiologiczną i enzymatyczną gleby. Ze względu na ten fakt celowe i interesujące było podjęcie takiego tematu badań.

Wpływ osadu ściekowego na aktywność mikrobiologiczną gleby oceniono na podstawie pomiaru aktywności enzymów glebowych: dehydrogenaz, proteazy i ureazy. Wyniki przeprowadzonych badań dotyczące oddziaływania osadu ściekowego pochodzącego z mleczarni (22 t ha⁻¹ rok⁻¹) na aktywność proteazy ilustruje rycina 1. Analizując zmiany aktywności proteazy w poszczególnych kombinacjach, możemy zauważyć dodatni wpływ osadu ściekowego pochodzącego z mleczarni na badaną aktywność. W kombinacji z osadem ściekowym i obornikiem aktywność proteolityczna była na niższym poziomie w porównaniu z glebą nawożoną tylko osadem. Należy zauważyć, że aktywność tego enzymu była najwyższa w badanych kombinacjach w czerwcu, do czego częściowo przyczyniły się prawdopodobnie warunki atmosferyczne. W czerwcu aktywność mikroorganizmów proteolitycznych była wyższa niż w lipcu i październiku i jest to zrozumiałe, ponieważ substancja organiczna wprowadzona do gleby była sukcesywnie rozkładana i wykorzystywana przez drobnoustroje. W lipcu nie stwier-



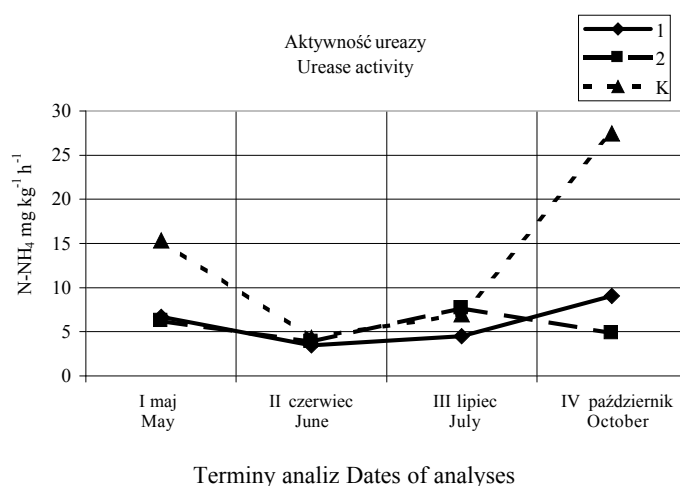
Rycina 1. Zmiany aktywności proteazy w poszczególnych kombinacjach i różnych terminach analiz; 1) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni, 2) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni + obornik, K) gleba kontrolna, bez osadu

Figure 1. Changes in protease activity in individual combinations and different dates of analyses; 1) soil + sewage sludge from dairy, 2) soil + sewage sludge from dairy + farmyard manure (FYM), K) soil control, no sludge



Rycina 2. Wpływ osadu ściekowego pochodzącego z mleczarni na aktywność dehydrogenazową gleby w poszczególnych terminach analiz; 1) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni, 2) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni + obornik, K) gleba kontrolna, bez osadu

Figure 2. Effect of sewage sludge from dairy on dehydrogenases activity in soil in individual dates of analyses; 1) soil + sewage sludge from dairy, 2) soil + sewage sludge from dairy + farmyard manure (FYM), K) soil control, no sludge



Rycina 3. Wpływ osadu ściekowego pochodzącego z mleczarni na aktywność ureazy w poszczególnych terminach analiz; 1) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni, 2) gleba + osad ściekowy pochodzący z mleczarni + obornik, K) gleba kontrolna, bez osadu
 Figure 3. Effect of sewage sludge from dairy on urease activity in individual dates of analyses; 1) soil + sewage sludge from dairy, 2) soil + sewage sludge from dairy + farmyard manure (FYM), K) soil control, no sludge

dzono stymulującego wpływu osadu ściekowego pochodzącego z mleczarni na aktywność proteazy, a wyniki we wszystkich kombinacjach były zbliżone.

Rycina 2 przedstawia wpływ osadu ściekowego na aktywność dehydrogenaz. Uwagę zwraca bardzo niska aktywność badanego enzymu w maju, czerwcu i lipcu. W październiku wystąpił wyraźny wzrost aktywności dehydrogenaz w glebie nawożonej osadem ściekowym. W kombinacji z osadem i obornikiem aktywność była wyższa niż w glebie kontrolnej, lecz wyraźnie niższa niż w kombinacji tylko z osadem.

Tabela 1. Wyniki pH_{KCl} w glebie nawożonej osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni
 Table 1. Results of pH_{KCl} in soil fertilized with sewage sludge from dairy

Kombinacje / Treatment	I Analiza maj / I Analysis May	II Analiza czerwiec / II Analysis June	III Analiza lipiec / III Analysis July	IV Analiza październik / IV Analysis October
Gleba + osad / Soil + sludge	5,91	4,49	4,53	6,16
Gleba + osad + obornik / Soil + sludge + FYM	5,34	4,62	4,63	4,68
Gleba kontrolna, bez osadu / Soil control, no sludge	7,00	6,98	6,22	6,62

Nawożenie osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni spowodowało spadek aktywności ureazy poniżej wartości uzyskanych w glebie kontrolnej (ryc. 3). Różnice w aktywności ureazy w glebie wzbogaconej osadem (1) oraz osadem i obornikiem (2) były niewielkie.

Wyniki pomiaru pH_{KCl} badanej gleby przedstawia tabela 1. Stwierdzono, że pH gleby kontrolnej było znacznie wyższe niż pH gleby nawożonej samym osadem oraz osadem i obornikiem. Znaczne różnice pomiędzy pH gleby wzbogaconej tylko osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni a glebą wzbogaconą osadem ściekowym i obornikiem odnotowano tylko w październiku. W tej kombinacji dodatek obornika do gleby nawożonej osadem obniżał pH do 4,68, gdy w kombinacji z samym osadem wartość pH wynosiła 6,16. W pozostałych terminach analiz (maj, czerwiec, lipiec) wartości pH obu kombinacji (1 i 2) różniły się tylko nieznacznie.

WNIOSKI

1. Wpływ nawożenia osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni na aktywność enzymatyczną gleby zależał od rodzaju enzymu.
2. Osady ściekowe pochodzące z mleczarni miały stymulujący wpływ na aktywność proteazy, natomiast aktywność dehydrogenazowa była przez nie stymulowana tylko w październiku.
3. Nawożenie osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni hamowało aktywność ureazy.
4. Dodatek obornika do gleby wzbogaconej osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni powodował obniżenie aktywności proteazy i dehydrogenaz w porównaniu z kombinacją nawożoną samym osadem.
5. Nawożenie osadem ściekowym pochodzącym z mleczarni powodowało obniżenie odczynu badanej gleby.

PIŚMIENNICTWO

- Baran S., Bielińska E.J. 1998. Enzymatic activity of sandy soil fertilised with sewage deposits. Polish J. Soil Sci. 31, 1, 77–83.
- Baran S., Bielińska E.J., Wiśniewski J. 1999. Wpływ osadu ściekowego i wermikompostu z tego osadu na aktywność enzymatyczną gleby piaszczystej. Annales UMCS, Sec. E, 54, 145–151.
- Baran S., Furczak J., Gostkowska K. 1996. Aktywność enzymatyczna gleby lekkożyźnionej odpadami organicznymi. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 437, 69–77.
- Gostkowska K., Domżał H., Furczak J., Bielińska J. 1993. Effect of differentiated long-term agricultural utilization of brown soil on its microbiological and biochemical properties. Polish J. Soil Sci. 26, 1, 67–75.

- Koper J., Piotrowska A. 2001. Influence of long-term fertilization on the enzymatic activity. *Acta Agrophysica* 52, 133–140.
- Kucharski J., Wyszowska J., Nowak G., Harms H. 2000. Activity of enzymes in soils treated with sewage sludge. *Polish J. Soil Sci.* 33, 1, 29–36.
- Ladd J.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.
- Martyniuk S., Zięba S., Maćkowiak C. 1998. Zależności pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a plonem jęczmienia jarego w wieloletnim doświadczeniu polowym. *Zesz. Nauk. AR we Wrocławiu, Konferencje* 18, 332, 31–38.
- Moreno J.L., Garcia C., Hernández T. 2003. Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. *European J. Soil Sci.* 54, 377–386.
- Myśków W., Stachyra A., Zięba S., Masiak D. 1996. Aktywność biologiczna gleby jako wskaźnik jej żyzności i urodzajności. *Rocz. Gleb.* 47, 1/2, 89–99.
- Thalman A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase – Aktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung* 21, 1, 249–258.
- Zantua M.J., Bremner J.M. 1975. Comparison of methods of assaying urease activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 7, 291–295.

