

wapnowania gruntów rolnych, składowania na powierzchni ziemi kwaśnych i kwasotwórczych odpadów, zanieczyszczenia atmosfery tlenkami siarki i azotu [Świetlik 1997; Mazur i in. 1998; Filipek 1998; Filipek, Broda 1999; Kaczor, Kozłowska 2000]. Kwaśne deszcze należą do kompleksowych zagrożeń w ekosystemach naturalnych i agroekosystemach. W wyniku tych opadów zmienia się cykl aktywności niektórych mikroorganizmów w glebie, co prowadzi do zróżnicowania ich liczebności i zakłócenia między innymi takich procesów, jak rozkład substancji organicznej, zmiany struktury gleby [Spychaj–Fabisiak, Murawska 1998; Jezierska-Tys, Kaczor 1998; Kaczor, Kozłowska 2000].

Celem podjętych badań było określenie wpływu zróżnicowanego nawożenia azotem i symulowanego kwaśnego opadu na aktywność wybranych enzymów glebowych w oparciu o doświadczenie mikropoletkowe.

METODY

Próbki glebowe pobrano z mikropoletek zlokalizowanych na terenie Stacji Badawczej w Wierzchucinku ATR w Bydgoszczy. Mikropoletka te są obiektami statycznego doświadczenia, prowadzonego w betonowych cembrach o powierzchni około 1 m². Cembry te napełniono materiałem glebowym z czterech typów gleb: czarnoziem, gleby płowej, gleby biellicowej i czarnej ziemi (zgodnie z profilami genetycznymi). Właściwości fizykochemiczne tych gleb przedstawiono w pracy Spychaj-Fabisiak i in. [2003a]. Doświadczenie mikropoletkowe prowadzono w trzech powtórzeniach według schematu:

Typ gleby (czynnik I)	pH roztworu (czynnik II); pH of solution (factor II)					
	pH 6,9			pH 4,5		
Soil type (factor I)	N ₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀	N ₁₀₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀	N ₂₀₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀	N ₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀	N ₁₀₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀	N ₂₀₀ , P ₆₀ , K ₁₂₀
	nawożenie azotem: N ₀ , N ₁₀₀ , N ₂₀₀ (czynnik III); nitrogen fertilization: N ₀ , N ₁₀₀ , N ₂₀₀ (factor III)					

Azot zastosowano w formie saletry amonowej, fosfor w formie superfosfatu potrójnego, a potas w postaci 60% KCl.

W latach prowadzenia doświadczenia (1996–2001) uprawiano stokłosę bezostną (*Bromus inermis* Layss), którą podlewano wodą redestylowaną (pH 6,9) lub symulowanym kwaśnym deszczem (pH 4,5). Wykonano 60 podlewań (po 10 w każdym okresie wegetacji), wnosząc jednorazowo 10 dm³/m², co stanowi 10 mm opadu.

W próbkach glebowych, pobranych w 2001 roku po wegetacji *Bromus inermis* Lass, oznaczono: aktywność dehydrogenazową metodą Casida i in. [1964], proteolityczną metodą Ladda i Butlera [1972] i celulolityczną metodą Denga i Tabatabaia [1994].

WYNIKI

Aktywność dehydrogenazową badanych gleb przedstawiono w tabeli 1. Aktywność ta istotnie była determinowana czynnikami doświadczenia. W badanych glebach czynnikiem stymulującym wzrost aktywności dehydrogenazowej było nawożenie azotem. Wprowadzenie symulowanego kwaśnego opadu nie spowodowało obniżenia aktywności dehydrogenazowej tych gleb. Jedynie w glebie biellicowej stwierdzono nieznaczny spadek aktywności dehydrogenaz w stosunku do kontroli – gleby, na której do podlewania *Bromus inermis* Laysse nie stosowano kwaśnego opadu (tab. 1).

Aktywność dehydrogenaz jest pośrednim wyznacznikiem biomasy drobnoustrojów glebowych. Enzymy tej grupy są enzymami wewnątrzkomórkowymi, związanymi z procesami oddechowymi. Poziom ich aktywności w glebie wzrasta wraz z liczebnością drobnoustrojów i tempem ich metabolizmu. Wyższa aktywność dehydrogenazowa gleb poddanych symulowanemu kwaśnemu opadowi może wskazywać na zmiany w składzie ilościowym i jakościowym zbiorowisk mikroorganizmów glebowych. Drobnoustroje wrażliwe na zakwaszenie ustępują miejsca mikroorganizmom tolerującym niskie wartości pH, np. grzybom. Zakwaszenie gleb może przyczynić się również do eliminacji mikroorganizmów antagonistycznych w stosunku do kwasolubnych grzybów, stwarzając im dogodne warunki rozwoju. Dlatego też kwaśny opad nie musi być przyczyną spadku aktywności dehydrogenazowej.

Ważnymi enzymami glebowymi są również proteazy i celulazy. Enzymom tym można przypisać kluczową rolę w przemianach organicznych związków węgla i azotu. Aktywności tych enzymów w badanych glebach przedstawiono w tabelach 2 i 3. Czynnikiem stymulującym wzrost aktywności enzymów było nawożenie azotem i symulowany kwaśny opad. Nawożenie azotem, poprawiając stosunek C/N w glebie, stwarza dogodne warunki do rozwoju mikroorganizmów glebowych, pozwalając im na wykorzystanie rezerw węgla organicznego. Jednak zakwaszenie gleb postrzegane jest jako czynnik negatywny i potęgający jednostronne nawożenie mineralne.

Przeprowadzone badania pozwoliły na stwierdzenie efektu stymulacji nawożenia azotem i kwaśnego opadu. Ten zaskakujący efekt może być wypadkową kilku elementów. Wzrastające dawki nawożenia azotem stymulują rozwój zbiorowiska mikroflory glebowej, która wydziela do środowiska proteazy i celulazy. Enzymy te są hydrolazami, aktywnymi głównie w środowisku kwaśnym (pH 5–6). Tak więc symulowany kwaśny opad, który może prowadzić do zakwaszenia gleb w przypadku niektórych enzymów hydrolitycznych może stanowić czynnik stymulujący ich aktywność.

Tabela 1. Wpływ symulowanego kwaśnego opadu i zróżnicowanego nawożenia azotem na aktywność dehydrogenazową* badanych gleb
Table 1. Effect of simulated acid rain and differentiated dehydrogenase* activity of some soils

pH (II czynnik) (II factor)	Typ gleby (I czynnik) Soil type (factor I)												Średnio Mean							
	czarnoziem haplic phaeozems			gleba płowa orthic luvisols			gleba bielocowa orthic podzols			czarna ziemia mollic gleysols										
	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}				
6,9	0,031	0,034	0,036	0,034	0,025	0,028	0,026	0,026	0,031	0,032	0,034	0,032	0,036	0,037	0,051	0,041	0,038	0,033	0,037	0,033
4,5	0,031	0,043	0,047	0,041	0,025	0,031	0,031	0,029	0,031	0,029	0,030	0,030	0,036	0,050	0,058	0,048	0,038	0,038	0,041	0,037
\bar{x}	0,031	0,038	0,042	0,037	0,025	0,029	0,028	0,028	0,031	0,030	0,031	0,030	0,036	0,043	0,055	0,045	0,038	0,035	0,039	0,036
NIR _{4,05}	I			III	II			I x II	I x III			II x III			I x II x III			III czynnik factor III		
LSD _{0,05}	0,004			0,003	0,002			ni ns**	0,005			0,003			ni ns**			N ₀ , N ₁₀₀ , N ₃₀₀		

*Aktywność dehydrogenazowa (g tryfenyloformazan/kg s.m. gleby/24 h), *Dehydrogenase activity (g triphenylformazan/kg d.m. soil/24 h)

**ni - nieistotne ns - not significant

Tabela 2. Wpływ symulowanego kwaśnego opadu i zróżnicowanego nawożenia azotem na aktywność celuloazy* badanych gleb
Table 2. Effect of simulated acid rain and differentiated cellulolytic* activity of some soils

pH (II czynnik) (II factor)	Typ gleby (I czynnik) Soil type (factor I)												Średnio Mean							
	czarnoziem haplic phaeozems			gleba płowa orthic luvisols			gleba bielocowa orthic podzols			czarna ziemia mollic gleysols										
	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}				
6,9	64,692	63,768	69,737	66,065	50,873	61,636	51,125	54,545	51,873	50,476	47,861	50,070	60,422	59,468	68,872	62,920	56,965	58,837	59,399	59,412
4,5	64,692	72,972	83,322	73,662	50,873	53,218	55,403	53,165	51,873	48,917	49,391	50,060	60,422	69,466	75,614	68,900	56,965	61,143	65,932	61,346
\bar{x}	64,692	68,370	76,529	69,863	50,873	57,427	53,264	53,855	51,873	49,670	48,628	50,065	60,422	64,467	72,243	65,710	56,965	59,990	62,665	50,379
NIR _{4,05}	I			III	II			I x II	I x III			II x III			I x II x III			III czynnik factor III		
LSD _{0,05}	3,056			1,885	1,706			ni ns**	3,413			2,413			ni ns**			N ₀ , N ₁₀₀ , N ₃₀₀		

*Aktywność celuloazy (mmol glukozy/kg s.m. gleby/24 h), *Cellulolytic activity (mmol glucose/kg d.m. soil/24 h)

**ni - nieistotne ns - not significant

Tabela 3. Wpływ symulowanego kwaśnego opadu i zróżnicowanego nawożenia azotem na aktywność proteolityczną* badanych gleb
 Table 3. Effect of simulated acid rain and differentiated activity proteolitic* of some soils

pH (II czynnik) (II factor)	Typ gleby (I czynnik) Soil type (factor I)												Średnio Mean							
	czarnoziem haplic phaseozems			gleba płowa orthic luvisols			gleba bielocowa orthic podzols			czarna ziemia mollic gleysols										
	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}	N ₀	N ₁₀₀	N ₃₀₀	\bar{x}				
6,9	0,532	0,555	0,585	0,558	0,434	0,513	0,527	0,491	0,406	0,403	0,396	0,402	0,567	0,586	0,633	0,595	0,514	0,535	0,515	
4,5	0,532	0,620	0,721	0,624	0,434	0,490	0,482	0,471	0,406	0,382	0,403	0,398	0,567	0,617	0,678	0,625	0,485	0,527	0,572	0,527
\bar{x}	0,532	0,587	0,653	0,591	0,434	0,502	0,548	0,481	0,406	0,392	0,400	0,400	0,567	0,602	0,400	0,607	0,485	0,521	0,531	0,520
MIR _{0,05}	I			III	I x II			I x III	II x III			I x II x III			III czynnik factor III					
LSD _{0,05}	0,026			0,015	0,032			0,029	ni ns**			0,041			N ₀ , N ₁₀₀ , N ₃₀₀					

*Aktywność proteolityczna (g glicyny/kg s.m. gleby/24 h)
 *Proteolitic activity (g glycin/kg d.m. soil/24 h)
 **ni - nieistotne ns - not significant

WNIOSKI

1. Symulowany kwaśny opad stosowany do podlewania *Bromus inermis* Layss nie wpływał istotnie na obniżenie aktywności dehydrogenazowej, celulo-litycznej i proteolitycznej badanych gleb.

2. Łączne stosowanie kwaśnego opadu oraz nawożenia azotem na poziomie dawki 100 i 200 kg N/ha stymulowało aktywność badanych enzymów glebo-wych.

PIŚMIENICTWO

- Casida L.E. Jr., Klein D.A., Santoro T. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soli Sci.* 98, 371–376.
- Deng S.P., Tabatabai M.A. 1994. Cellulase activity of soils. *Soil Biol. Biochem.* 26, 1347–1376.
- Filipek T. 1998. Dynamika antropogenicznych przyczyn oraz skutków zakwaszenia gleb w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 456, 7–12.
- Filipek T., Badora A. 1999. Oddziaływanie nawożenia na kwasowość gleb. *Zesz. Nauk. AR Kra-ków* 64, 81–88.
- Jezińska-Tys S., Kaczor A. 1998. Badania nad następczym wpływem kwaśnych opadów na wy-brane procesy mikrobiologiczne. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 456, 335–341.
- Kaczor A., Kozłowska J. 2000. Wpływ kwaśnych opadów na agroekosystemy. *Folia Univ. Agric. Stetin.* 81, 55–58.
- Ladd J.N., Butler J.H. A. 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme actives using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.* 4, 19–30.
- Mazur T., Wojtas A., Mazur Z., Sądej W. 1998. Porównanie nawożenia organicznego z mineral-nym na odczyn i kwasowość gleby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 456, 251–255.
- Spychaj-Fabisiak E., Murawska B. 1998. Badania modelowe nad wpływem właściwości fizyko-chemicznych gleb i symulowanego kwaśnego deszczu na wymywanie azotu mineralnego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 456, 357–362.
- Spychaj-Fabisiak E., Murawska B., Janowiak J. 2003a. Zmiany podstawowych wskaźników za-kwaszenia gleb i zawartości przyswajalnych form fosforu pod wpływem czynników antropo-genicznych. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 492, 347–355
- Spychaj-Fabisiak E., Murawska B., Szulc W. 2003b. Wpływ typu gleby i symulowanego kwa-śnego opadu na zakwaszenie profilu glebowego i zawartość glinu wymiennego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 493, 693–699
- Świetlik R. 1997. Kwaśne deszcze w Polsce. *Aura* 5, 10–11.