

Akademia Techniczno-Rolnicza
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich
w Bydgoszczy

Wydział Rolniczy

Anna Piotrowska

***Wykorzystanie biochemicznych wskaźników
do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby w zależności
od zmianowania i zróżnicowanego nawożenia
organiczno-mineralnego***

Rozprawa doktorska

Przedstawiona **Radzie Wydziału Rolniczego**
Akademii Techniczno - Rolniczej w Bydgoszczy

wykonana w Katedrze Biochemii
Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy

*Promotor: dr hab. **Jan Koper**, prof. nadzw. ATR*

B y d g o s z c z 2 0 0 2



Panu

Prof. dr hab. Janowi Koperowi

*za ukierunkowanie moich zainteresowań badawczych
życzliwość i pomoc okazaną w trakcie prowadzenia badań
oraz podczas pisania niniejszej pracy*

serdecznie dziękuję

Dziękuję

Panu Prof. dr hab. Franciszkowi Rudnickiemu

za cenne wskazówki

przekazane w czasie spotkań seminaryjnych

oraz za pomoc w statystycznym opracowaniu wyników badań

Spis treści

1. Wstęp i cele pracy	6
2. Przegląd literatury	9
2.1. Źródła, występowanie i funkcja enzymów glebowych	9
2.2. Wpływ właściwości fizyko-chemicznych gleby na jej aktywność enzymatyczną	10
2.3. Oddziaływanie zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego na enzymy glebowe	14
2.4. Znaczenie metali w funkcji katalitycznej enzymów	16
2.5. Zależności pomiędzy uprawianą rośliną i sezonem wegetacyjnym oraz aktywnością enzymatyczną gleby	20
2.6. Wykorzystanie wskaźników aktywności biologicznej gleby do oceny stanu jej żyzności i urodzajności	22
3. Charakterystyka badanych enzymów	27
3.1. Dehydrogenazy	27
3.2. Katalaza	27
3.3. Enzymy amylolityczne	28
3.4. Enzymy proteolityczne	29
3.5. Fosfataza kwaśna i alkaliczna	30
4. Materiał i metody badań	31
4.1. Charakterystyka doświadczenie polowego i badanej gleby	31
4.2. Pobieranie materiału glebowego i przygotowanie próbek do analiz	33
4.3. Metody badań aktywności enzymatycznej gleby	36
4.4. Metody analiz chemicznych gleby	37
4.5. Statystyczne opracowanie wyników	37
4.6. Obliczenie wskaźników charakteryzujących żyzność gleby	38
5. Omówienie wyników i dyskusja	40
5.1. Właściwości chemiczne gleby	40
5.1.1. Zawartość węgla organicznego i azotu ogółem	40
5.1.2. Odczyn badanej gleby	43

5.1.3. Zawartość przyswajalnych form magnezu, potasu i fosforu oraz wymiennego wapnia w badanej glebie	44
5.1.4. Zawartość przyswajalnych form wybranych mikroelementów w badanej glebie	49
5.2. <i>Aktywność enzymatyczna gleby</i>	51
5.2.1. Aktywność oksydoreduktaz glebowych	51
5.2.2. Aktywność amylolityczna i proteolityczna gleby	59
5.2.3. Aktywność fosfomonoesteraz glebowych	68
5.3. <i>Biochemiczne wskaźniki żyzności gleby</i>	76
5.4. <i>Korelacje pomiędzy aktywnością enzymatyczną i wskaźnikami żyzności a innymi cechami badanej gleb</i>	85
5.5. <i>Przydatność wskaźników enzymatycznych do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby</i>	97
6. Wnioski	100
7. Spis literatury	103
<i>Aneks</i>	

1. Wstęp i cele pracy

Podstawową funkcją każdej gleby użytkowanej rolniczo jest wytwarzanie odpowiedniej ilości biomasy o wysokiej jakości pod względem zawartości składników odżywczych dla roślin [Kowaliński 1995]. Urodzajność gleby, czyli jej zdolność do wydawania plonów wiąże się ściśle z żyznością, czyli możliwością przekazywania bytującym na niej roślinom głównie składników odżywczych, a ponadto wody i powietrza oraz odpowiedniej temperatury. Podstawowym wskaźnikiem urodzajności gleby jest nie tylko wielkość plonu, ale też jego wartość biologiczna [Mazur i Sądej 1999]. Wielkość i jakość plonów roślin zależy między innymi od zasobności środowiska glebowego w składniki pokarmowe. Poziom składników odżywczych w glebie regulowany jest poprzez jej właściwe nawożenie zarówno organiczne, jak i mineralne. Wraz z nawozami organicznymi wprowadza się do gleby wszystkie niezbędne składniki dla rozwoju roślin. Jednakże z wielu badań wynika, że ich ilość dostarczona z tymi nawozami jest niewystarczająca. Z tego też względu zachodzi konieczność równoczesnego stosowania nawozów mineralnych, szczególnie niezbędnych w nawożeniu zrównoważonym, a więc i utrzymaniu gleb w stanie należytej żyzności [Kalembasa i Kalembasa 1990]. Badania dotyczące żyzności gleb dowodzą, że długoletnie stosowanie niezrównoważonego nawożenia mineralnego często prowadzi do niekorzystnych zmian właściwości chemicznych gleby, które to są główną przyczyną jej częściowej degradacji.

Dotychczas uzyskiwane wyniki badań wskazują na konieczność ciągłego kontrolowania stanu żyzności gleb i to nie tylko z wykorzystaniem powszechnie znanych i szeroko stosowanych wskaźników agrotechnicznych, ale także z uwzględnieniem czynnika biologicznego przy określaniu jej parametrów. Ocena stanu żyzności w oparciu jedynie o metody chemiczne i gleboznawcze często daje nie zadowalające rezultaty oraz nie znajduje właściwego odzwierciedlenia w plonowaniu roślin [Myśków 1981]. We wcześniejszych badaniach podjęto się zatem poszukiwania biologicznych wskaźników umożliwiających dokonywanie w miarę obiektywnej oceny stanu żyzności gleb, będących w ścisłej interakcji ze wskaźnikami informującymi o ich zasobności w składniki odżywcze dla roślin [Frankenberger i Dick 1983].

Wyniki zamieszczone zarówno w krajowej, jak i światowej literaturze zajmującej się zagadnieniem oceny aktywności biologicznej gleby dotyczą propozycji wykorzystania w tym celu takich wskaźników, które oparte są na ogólnej liczebności mikroflory, czy

aktywności i liczebności poszczególnych jej grup fizjologicznych. Informują one o intensywności zachodzących procesów biochemicznych. Miarą tej intensywności może być zawartość produktów działania drobnoustrojów, a także aktywność enzymatyczna gleby [Skujins 1967, Ritz i in. 1992, Trasar-Cepeda i in. 2000]. Jak powszechnie wiadomo, enzymy pod względem chemicznym są białkami o wysokiej specyficzności w stosunku do substratu i bardzo podatnymi na wpływ czynników niekorzystnie oddziałujących na środowisko. Dlatego każda stwierdzona w badaniach zmiana ich aktywności jest czułym wskaźnikiem zachodzących w glebie przemian [Kuprewicz i Shcherbakova 1971, Ladd 1978, Gałstian 1982, Nannipieri 1994a].

Dla porównania wpływu różnych wariantów nawożenia organicznego i mineralnego na aktywność biologiczną różnych typów gleb, w szczególności w długotrwałych doświadczeniach nawożeniowych, wykorzystuje się często syntetyczne wskaźniki, będące funkcją różnych parametrów rozpatrywanych jednocześnie. Mogą one być formułowane na podstawie zawartości węgla organicznego, parametrów mikrobiologicznych oraz aktywności enzymatycznej gleb. Wyniki uzyskane przez niektórych autorów wskazują, że prowadzenie badań nad biologicznymi wskaźnikami dotyczącymi żyzności gleby pochodzącej z wieloletnich doświadczeń wydaje się być słuszne, ponieważ trwałe zmiany biologiczne w niej zachodzące ujawniają się najczęściej dopiero po wielu latach oddziaływania stosowanych zabiegów agrotechnicznych.

Hipoteza badawcza niniejszej pracy zakłada, że wieloletnie, zróżnicowane nawożenie organiczno-mineralne oraz zmianowanie upraw mogą istotnie wpływać zarówno na zmiany aktywności enzymatycznej, jak i innych właściwości badanej gleby.

Do realizacji celu głównego pracy przyjęto następujące cele cząstkowe :

- ♦ określenie zawartości węgla organicznego, azotu ogółem, odczynu gleby oraz przyswajalnych form magnezu, potasu i fosforu w warstwie ornej gleby, będących rezultatem wieloletniego zróżnicowanego jej nawożenia;
- ♦ określenie zawartości wybranych mikroelementów spełniających rolę aktywatorów enzymów biorących udział w przemianach zachodzących w glebie;
- ♦ oznaczenie aktywności wybranych enzymów glebowych w zależności od uprawianej rośliny na tle ich okresu wegetacyjnego oraz nawożenia organiczno-mineralnego.

Natomiast głównym celem przeprowadzonych badań własnych było:

- ♦ obliczenie wartości wskaźników żyzności gleby w oparciu o uzyskane wartości aktywności enzymatycznej oraz innych badanych cech z wykorzystaniem wzorów zaproponowanych wcześniej w literaturze;
- ♦ sformułowanie biochemicznego wskaźnika żyzności i wyliczenie jego wartości na podstawie aktywności enzymatycznej oraz zawartości węgla organicznego i azotu ogółem uzyskanych w badaniach własnych;
- ♦ poszukiwanie korelacji pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby, wskaźnikami jej żyzności, a pozostałymi właściwościami fizyko-chemicznymi badanej gleby;
- ♦ ocena stanu żyzności badanej gleby na podstawie klas żyzności określonych w oparciu o wartości proponowanego biochemicznego wskaźnika żyzności.

2. Przegląd literatury

2.1. Źródła, występowanie i funkcja enzymów glebowych

Biochemiczne procesy przemian składników organicznych i mineralnych występujących w glebie zachodzą przy udziale enzymów [Russel 1974, Tabatabai 1994]. Enzymy, jako biokatalizatory układów biologicznych, podnoszą wartość stałej szybkości reakcji i obniżają energię aktywacji potrzebną do zapoczątkowania i przebiegu reakcji biochemicznych. Najbardziej charakterystyczną cechą enzymów jest ich siła katalityczna oraz specyficzność w stosunku do substratu i typu przeprowadzanej reakcji [Stryer 1997]. W glebie można wykryć wiele enzymów ze wszystkich sześciu znanych klas [Gołębiowska i Grzyb-Mikłowska 1991, Paul i Clark 2000]. Najważniejszą jednak rolę odgrywają w glebie enzymy należące do klasy oksydoreduktaz (dehydrogenazy, reduktaza azotanowa, polifenolooksydazy, katalaza, peroksydazy) i hydrolaz (esterazy, fosfatazy, proteazy, celulazy, ureaza i inwertaza) w związku z ich udziałem w utlenianiu i uwalnianiu z materii organicznej nieorganicznych składników odżywczych dla roślin [Dick i Tabatabai 1993]. Enzymy występujące w glebie pochodzą z następujących źródeł:

- ♦ wydzielane są w wyniku działalności i autolizy drobnoustrojów;
- ♦ z systemu korzeniowego roślin;
- ♦ wytwarzane są w procesie przemiany materii fauny glebowej;
- ♦ wydzielane są podczas autolizy resztek roślinnych i zwierzęcych [Ladd 1978, Dick i Tabatabai 1993].

Na podstawie pomiaru aktywności enzymu nie można jednoznacznie wnioskować, czy jest on pochodzenia roślinnego, czy też mikrobiologicznego. Możliwe jest, że wysoka aktywność enzymu stwierdzona w ryzosferze nie jest spowodowana wydzieleniem go przez roślinę, a przez mikroorganizmy silniej namnażające się w tej strefie [Ladd i in. 1996]. Bezpośrednich dowodów na obecność enzymów pochodzenia roślinnego w glebie dostarczają obserwacje mikroskopowe. I tak na przykład obserwowano białko enzymatyczne wykazujące aktywność fosfatazy kwaśnej w komórkach ryzodermy i czapeczki korzenia oraz w wydzielinach pokrywających korzenie roślin [Foster i Dormaar 1991]. W związku z różnorodnością flory i fauny glebowej, wydzielone do gleby enzymy różnią się często wieloma właściwościami, jak np.: specyficznością wobec substratów, zakresem pH, poda-

tnością na działanie różnych inhibitorów i odpornością na proteolizę [Gołębiowska i Grzyb-Mikłowska 1991].

Całkowita aktywność enzymatyczna gleby to suma aktywności enzymów zarówno wewnątrzkomórkowych, jak i zewnątrzkomórkowych [Kieliszewska-Rokicka 2001]. Pierwsze z nich działają tylko w żywych organizmach i rozmnażających się ich komórkach, w formach przetrwalnikowych i w zarodnikach. Natomiast enzymy pozakomórkowe wydzielone z żywych lub obumierających komórek mogą być związane z fragmentami martwych tkanek [Ladd 1978] lub mogą być nagromadzane w glebie, gdzie są adsorbowane na powierzchni cząstek mineralnych. Ponadto wchodzi one w związki kompleksowe z koloidalnymi substancjami humusowymi, co w konsekwencji chroni je przed degradacją [Rossel i in. 1997]. W glebie istnieje też pewna ilość białek enzymatycznych nie związanych, występujących w roztworze glebowym, które narażone są na działanie niekorzystnych czynników powodujących ich degradację. Charakteryzują się one zwykle krótkim okresem istnienia [Kieliszewska-Rokicka 2001]. Niektóre z enzymów glebowych są konstitutywne, czyli stale syntetyzowane w komórce, inne natomiast, jak przykładowo celulazy są adaptacyjne i syntetyzowane tylko w obecności odpowiedniego substratu [Nannipieri 1994a].

Trudności związane z oddzieleniem wartości aktywności enzymów związanych z glebą od aktywności enzymatycznej organizmów glebowych i korzeni roślin to jedna z przyczyn dużych utrudnień w interpretacji wyników badań nad aktywnością enzymatyczną w glebie [Paul i Clark 2000].

2.2. Wpływ właściwości fizyko-chemicznych gleby na jej aktywność enzymatyczną

Aktywność enzymów glebowych zależy od bezwzględnej ich ilości, zawartości reagujących związków, innych niż enzymy oraz od katalitycznej sprawności układów enzymatycznych [Dick i Tabatabai 1993]. W glebie występuje wiele czynników oddziałujących na aktywność katalityczną. Abreyman [1993] dzieli je na naturalne i antropogeniczne. Do naturalnych zalicza on zawartość próchnicy, pH, skład minerałów, temperaturę i wilgotność. Czynniki antropogeniczne to zabiegi agrotechniczne, w tym system uprawy roli i roślin oraz nawożenie, a także skażenie gleb metalami ciężkimi, pestycydami i innymi związkami chemicznymi.

Zarówno działalność drobnoustrojów, jak i aktywność enzymów glebowych w dużym stopniu uzależniona jest od temperatury, wilgotności i pH gleby [Tabatabai 1994]. Szybkość reakcji enzymatycznych w określonym zakresie temperatur zwiększa się ze wzrostem temperatury poprzez wzrost energii kinetycznej reagujących cząstek. Ostatecznie jednak energia kinetyczna enzymu przekracza barierę energetyczną potrzebną do rozerwania słabych wiązań wodorowych i hydrofobowych utrzymujących ich strukturę II i III rzędową. W temperaturze denaturacji dominuje towarzysząca strąceniu białek utrata aktywności katalitycznej enzymu [Murray i in. 1994]. Dlatego też enzymy glebowe wykazują optymalne temperatury działania, które przykładowo dla enzymów hydrolitycznych mieszczą się w przedziale 15-23°C. Białka enzymatyczne zwykle zaczynają denaturować się już w temperaturze 40-50°C. Denaturacja zachodzi również w temperaturze poniżej zera, chociaż badania nad aktywnością fosfomonoesteraz w glebach organicznych tundry [Bremner i Zantua 1975] i w glebach mineralnych [Neal 1990] wykazywały znaczną ich aktywność jeszcze w temperaturze -20°C. Autorzy twierdzą, że aktywność wykrytej przez nich fosfatazy była związana z fazą koloidalną gleby. Enzymy immobilizowane w glebie są zwykle odporniejsze na zmiany temperatury, niż te występujące w roztworze glebowym. Wykazano na przykład jeszcze aktywność inwertazy w glebie ogrzewanej uprzednio w 100°C przez 3 godz. i w temperaturze 50°C przez 25 dni [Dick i Tabatabai 1999].

Wiele enzymów glebowych wykazuje dużą wrażliwość na zmiany pH środowiska. Pomiar pH gleby są ważnym kryterium niezbędnym do prognozowania zdolności gleby do wspomagania reakcji mikrobiologicznych i biochemicznych. Dla każdego enzymu istnieje optymalne pH, przy którym jego aktywność jest najwyższa. Aktywność enzymatyczna gleby zmienia się wraz ze zmianą koncentracji jonów wodorowych z powodu odwracalnych reakcji jonizacji lub dejonizacji grup w centrum aktywnym enzymatycznego białka i nieodwracalnej denaturacji enzymu. Jak wiadomo możliwość funkcjonowania enzymu na poziomie optymalnym jest uwarunkowana właściwym stanem jonizacji jego miejsca wiązania i miejsc katalitycznych. Znaczne osłabienie aktywności enzymatycznej gleby w wyniku potraktowania jej roztworami o dużym stężeniu jonu H^+ ($pH \leq 2$) może wynikać ze zniszczenia wiązań hydrofobowych, jonowych i wodorowych, co prowadzi do nieodwracalnego zniszczenia drugorzędowej struktury białka enzymatycznego [Frankenberger i Johanson 1982]. Tak więc zarówno zbyt kwaśne, jak i zbyt alkaliczne środowisko powoduje denaturację białka i hamuje jego aktywność katalityczną. Znając zakres pH w glebie można tę informację łączyć z danymi o liczebności mikroorganizmów i różnorodnością enzymów przez nie syntetyzowanych [Paul i Clark 2000]. Powiązaniom między aktywno-

ścią enzymatyczną a pH gleby poświęcono wiele prac. Jedne z nich wskazują na dodatnie lub ujemne korelacje pomiędzy tymi parametrami, inne natomiast stwierdzają ich brak [Frankenberger i Johanson 1982, Trevors 1984, Trasar-Cepeda i Gil-Sotres 1988]. Jednymi z najbardziej wrażliwych na zmiany pH enzymów są fosfomonoesterazy. I tak kwaśna fosfataza dominuje w glebach o pH kwaśnym i analogicznie fosfataza alkaliczna przeważa w glebach o pH zasadowym [Dick i Tabatabai 1984]. Jako odpowiedni zakres wartości pH gleby dla wzrostu i rozwoju roślin można uważać taką jego wartość, przy której występuje właściwy stosunek aktywności obu fosfataz [Dick i Tabatabai 1999].

W glebie enzymy są adsorbowane na powierzchni cząstek glebowych, w tym humusu, co powoduje podwyższenie wartości ich pH [Pacha 1984, Gołębiowska i Grzyb-Miklewska 1991, Paul i Clark 2000] nawet o 1 lub 2 jednostki [Dick i Tabatabai 1999]. Wykazano, że hydroliza glikozydów w glebie przebiega najszybciej w środowisku lekko kwaśnym (pH 4,5–5,9), amidazy działają najlepiej w środowisku obojętnym (pH 6,7–7,0), a oksydoreduktazy w lekko alkalicznym (pH 7,5 – 8,5) [Galstian 1974].

Reakcje biochemiczne zachodzące w glebie przebiegają jedynie w systemie faza ciekła – faza stała. Dlatego też zarówno deficyt wody w glebie lub jej nadmierne uwilgotnienie ograniczają rozwój mikroorganizmów i działalność wytwarzanych przez nie enzymów. Woda glebowa nie tylko stwarza warunki sprzyjające życiu i rozwojowi organizmów, ale także ma wpływ na stan napowietrzenia gleby, ilość i jakość rozpuszczalnych składników pokarmowych, ciśnienie osmotyczne i pH roztworu glebowego [Paul i Clark 2000]. Okresowe wahania aktywności enzymów są związane przede wszystkim ze zmianami wilgotności i natlenienia gleby. El-Shinnawi i El-Shimi [1981] stwierdzili, że aktywność dehydrogenazowa była wprost proporcjonalna do wzrostu wilgotności w glebie, natomiast optymalna aktywność ureazy i fosfatazy przypadała na 60% pojemności wodnej.

Pomimo wielu niekorzystnych czynników fizyko-chemicznych, w glebie istnieje pewien system ochrony dla enzymów, polegający na ich powiązaniu z cząstkami mineralnymi i organicznymi gleby [Lähdesmäki i Piispanen 1992]. Frakcją gleby mającą największy wpływ na aktywność biologiczną mikroorganizmów oraz wydzielanych przez nie enzymów, są koloidy glebowe, przede wszystkim minerały ilaste oraz substancje humusowe. Jest to wynikiem trzech ważnych właściwości tych koloidów, mianowicie:

- ♦ mają one wysoki stosunek powierzchni do objętości;
- ♦ wykazują właściwości jonowe i z reguły gromadzą na swej powierzchni kationy, a odpychają cząstki naładowane ujemnie;
- ♦ charakteryzują się dużym powinowactwem do cząsteczek wody [Pacha 1984].

Unieruchomienie enzymów przez związanie ich z koloidami glebowymi zapewnia im znaczną trwałość i odporność na procesy denaturacji i proteolizy [Burns 1978]. Związany enzym jest chroniony przed dyfundowaniem w głąb gleby, a jego aktywność staje się często mało wrażliwa na zmiany temperatury, wilgotności, pH itp. [Frankenberger i Johanson 1982]. Aktywność kompleksu humus - enzym jest na ogół niższa, niż wolnego enzymu, jednakże jego stabilność (procent aktywności zachowanej po zadziałaniu różnych niekorzystnych czynników) jest większa niż enzymu w stanie wolnym [Gołębiowska i Grzyb-Mikłowska 1991]. Aktywność kompleksów humus – enzym badano także kinetycznie. Stwierdzono, że związanie enzymu z substancją humusową prowadzi na ogół do zwiększenia K_m i zmniejszenia V_{max} [Burns 1978]. Spadek aktywności enzymu, objawiający się obniżeniem V_{max} , może wynikać z maskowania niektórych jego centrów aktywnych. Mechanizmy inhibicji poszczególnych enzymów są różne w zależności od rodzaju substancji humusowych gleby. Enzymy z klasy oksydoreduktaz ulegają inhibicji, jeżeli jednym z substratów jest koenzym NADH lub NAD^+ . Substancje humusowe wykazują właściwości akceptorowo-donorowe. Mogą one zarówno wiązać na swej powierzchni NAD^+ , jak i konkutować o miejsca wiążące enzymów z formą zredukowaną NADH. Badania nad wpływem kwasów humusowych na aktywność enzymów roślinnych wykazały, że substancje te w różny sposób modyfikują przebieg reakcji enzymatycznych. Mogą one być inhibitorami niektórych enzymów, a w stosunku do innych wykazywać działanie ochronne, polegające na silnym wiązaniu naturalnie występujących inhibitorów tych enzymów. Badania kinetyczne wykazują na kompetycyjny charakter inhibicji proteaz glebowych przez kwasy huminowe [Ladd i Butler 1975] oraz fosfatazy kwaśnej z korzeni pszenicy pod wpływem kwasów huminowych i fulwowych [Gołębiowska i Grzyb-Mikłowska 1991].

Utrzymująca się na względnie stałym poziomie aktywność kompleksów humus-enzym nie przekracza na ogół 15% aktywności enzymu niezwiązanego, ale jest to ta aktywność, która decyduje o przebiegu procesów biochemicznych zachodzących w glebie [Gołębiowska i Grzyb-Mikłowska 1991].

2.3. Oddziaływanie zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego na enzymy glebowe

Jednym z najczęstszych zabiegów agrotechnicznych zmierzających do intensyfikacji rolnictwa jest nawożenie, które stosowane w różnych formach i dawkach może odmiennie wpływać na różne właściwości gleby, a zwłaszcza na jej aktywność biologiczną [Runowska-Hryńczuk 1992], czyli całokształt zachodzących w niej przemian związków i zmian energii [Russel 1974]. Nawożenie mineralne i organiczne stymuluje rozwój roślin i drobnoustrojów oraz oddziałuje na aktywność enzymów glebowych [Kucharski 1997]. Wpływ nawożenia na enzymy glebowe zależy od charakteru enzymu, typu gleby, formy nawozu oraz czasu jego zastosowania [Gianfreda i Bollag 1996].

W literaturze dotyczącej tego problemu występują różne poglądy odnośnie roli nawożenia mineralnego w kształtowaniu aktywności enzymatycznej gleby. Einland [1980] przypisuje temu nawożeniu wpływ na wysoką aktywność dehydrogenaz, podczas gdy Kucharski [1997] wykazał, że zbyt wysokie nawożenie azotem (240 kg/ha) prowadzi do silnego ograniczenia jej aktywności. Wielu autorów uważa, że nawożenie mineralne, zwłaszcza stosowane długotrwale i w wysokich dawkach, może być inhibitorem reakcji enzymatycznych [Galstian 1982, Cieśla i Koper 1990] powodującym inaktywację białek enzymatycznych przez wysoką koncentrację jonów (zwłaszcza anionów) i związane z tym niskie pH gleby. Nie bez znaczenia jest też rodzaj zastosowanego nawozu mineralnego. Nawozy fizjologicznie kwaśne poprzez nawet nieznaczne obniżenie stanu zakwaszenia, decydują zarówno o rozwoju roślin i drobnoustrojów, jak i o nasileniu i kierunku procesów biochemicznych. Nawożenie mineralne może wywierać ujemny wpływ na aktywność ureazy, fosfatazy alkalicznej, chociaż poprawia jej właściwości fizyko-chemiczne [Kucharski 1997]. Schinner i in. [1980] stwierdzili inhibujący wpływ nawożenia mineralnego ($N : P_2O_5 : K_2O - 12\% : 12\% : 18\%$) na aktywność ureazy oraz jego aktywujący wpływ na działalność katalityczną celulaz, inwertazy i dehydrogenaz. Natomiast zastosowanie tych nawozów z dodatkiem $CuSO_4$ spowodowało obniżenie aktywności wszystkich badanych enzymów (w stosunku do kontroli). Wpływ nawożenia azotowego na aktywność biologiczną i enzymatyczną gleby jest uzależniony od obecności w glebie źródła węgla [Gianfreda i Bollag 1996]. I tak na przykład stymulujące działanie nawozów azotowych na aktywność dehydrogenaz w glebie pod uprawą ziemniaka było widoczne tylko w przypadku zastosowania równocześnie sacharozy, podczas gdy nie stwierdzono takiego oddziaływania samych nawozów azotowych lub stosowanych w połączeniu ze słomą [Ritz i in.

1992]. Dodatek NH_4 i NO_3 do gleby, gdzie zastosowano dodatkowo źródło węgla, hamował produkcję ureazy, podczas gdy aktywność mikrobiologiczna tej gleby mierzona ilością uwolnionego CO_2 wzrastała. Aktywność ureazy była prawdopodobnie hamowana obecnością produktu asymilowanego przez mikroorganizmy wykorzystujące N-NH_4 i N-NO_3 [Gianfreda i Bollag 1996].

Nawożenie organiczne, zwłaszcza obornikiem, wpływa na wzrost zawartości węgla organicznego i azotu w glebie oraz kształtuje ilość i jakość materii organicznej [Jarecki i Krzywy 1991]. Substancja organiczna gleby oraz produkty jej biochemicznych przemian decydują o korzystnym układzie całego kompleksu właściwości gleby, stanowiących o jej żyzności i urodzajności [Panak i in. 1990]. Pod wpływem wieloletniego i systematycznego nawożenia obornikiem ilość kationów wymiennych w kompleksie sorpcyjnym zwiększyła się dwukrotnie w porównaniu z jednostronnym nawożeniem mineralnym. Wykazano, że nawożenie różnymi formami nawozów powoduje duże zmiany właściwości chemicznych gleby, które decydują o jej żyzności. Największym zmianom pod wpływem nawożenia ulega odczyn gleby i zawartość w niej przyswajalnych form fosforu, potasu i magnezu [Łabętowicz i Szulc 1999, Strączyński 1999]. Materia organiczna gleby stanowi źródło pokarmu dla mikroorganizmów, decydując w ten sposób o poziomie biomasy drobnoustrojów, stanowiących główne źródło enzymów glebowych [Wiśniewski i Bielińska 1998]. Materia organiczna oddziałuje bezpośrednio nie tylko na rozwój mikroorganizmów glebowych, ale i roślin wyższych, czego wynikiem jest proporcjonalny do zawartości próchnicy wzrost żyzności gleb i zdrowotności roślin. Związki humusowe tworzą w komórkach układy oksydo-redukcyjne i w ten sposób wpływają na metabolizm. U badanych organizmów obserwowano, że pod wpływem różnych wyciągów z próchnicy zachodziło wzmożone oddychanie, zwiększała się aktywność enzymatyczna i fotosyntetyczna, intensywniej zachodziły również procesy fosforylacji [Dziadowiec 1983].

Wielu autorów [Burns 1978, Panak i in. 1990, Bleharczyk i in. 1993] uważa, że stan biologiczny gleby wyraźnie poprawia się jedynie pod wpływem systematycznego nawożenia organicznego, a nawożenie mineralne działa korzystnie tylko przy dostatecznej ilości substancji organicznej w glebie. Z nawozów organicznych obornik w największym stopniu wpływa na utrzymanie i poprawę ogólnej żyzności gleby, ale jest szczególnie aktywny przy łącznym stosowaniu z nawozami mineralnymi. Potwierdzają to badania Kopera i in. [1999], którzy najwyższą aktywność enzymów uzyskiwali zwykle w glebach nawożonych obornikiem i pełnym nawożeniem mineralnym (NPK + Ca + Mg) oraz wapnowaniem.

2.4. Znaczenie metali w funkcji katalitycznej enzymów

Wiele reakcji przemiany materii przebiega z udziałem enzymów w skład których wchodzi metale [Garrett i Grisham 1995]. Szczególnie ważną rolę w kształtowaniu aktywności katalitycznej enzymów odgrywa: żelazo, miedź, mangan, magnez, nikiel, wapń, cynk i molibden [Kretowicz 1971]. Powinowactwo określonego enzymu do jonu metalu jest podstawą rozróżnienia między metaloenzymami i enzymami aktywowanymi przez metale [Murray i in. 1994]. Metaloenzymy zawierają określoną liczbę funkcjonalnych jonów metali, które nie są usuwane podczas oczyszczania enzymu i bez których enzymy nie funkcjonują właściwie [Tyler 1981]. Enzymy aktywowane przez metale wiążą natomiast metal słabiej, ale jest on konieczny do ich funkcji katalitycznej [Murray i in. 1994]. Metal w tym przypadku może być zastąpiony przez inny metal o podobnej budowie jonowej z nieznaczną lub bez straty aktywności enzymu [Tyler 1981]. Mechanizmy działania jonów metali zarówno w przypadku metaloenzymów, jak i enzymów aktywowanych przez metale są podobne [Kretowicz 1971]. Są one następujące:

- ♦ metal może ułatwić wytworzenie się pośredniego związku enzym-substrat, np. w przypadku aktywności aminopeptydazy leucynowej i karboksypeptydazy A. Połączenie enzymu z substratem dokonuje się w przypadku tych enzymów dzięki wytworzeniu wiązań koordynacyjnych za pośrednictwem atomu Mn (Mg) i Zn;
- ♦ metal może sam uczestniczyć w reakcji, np. w przenoszeniu elektronów w procesach redox. Wchodzący w skład enzymu reduktazy azotanowej molibden sam współdziała z azotanem i następnie z enzymem flawinowym, który z kolei reaguje z dehydrogenazą zawierającą NAD^+ lub NADP^+ ;
- ♦ metal może zapewniać zachowanie wtórnej struktury białka enzymatycznego, jak np. wapń w działaniu α -amylazy;
- ♦ metal ułatwia wiązanie apoenzymu z koenzymem, np. w przypadku dehydrogenazy alkoholowej i oksydoreduktazy (aldehyd 3-fosfo-D-glicerynowy: NADP^+).

Metal może pełnić jednocześnie funkcję strukturalną i funkcjonalną, jak jest to w przypadku dehydrogenazy alkoholowej otrzymanej z *Sacharomycetes sp.*, czy fosfatazy alkalicznej z *E. coli*, która do swej aktywności potrzebuje czterech atomów Zn na jeden mol białka. Dwa z nich pełnią funkcje katalityczne, natomiast dwa pozostałe strukturalne [Tyler 1981]. Molibden w nitroreduktazie zmieniając stopień utlenienia bierze udział w transporcie elektronów, ale jest także składnikiem strukturalnym enzymu.

Metale tworzą połączenia kompleksowe z różnymi grupami funkcyjnymi apoenzymu i koenzymu, zawierającymi atomy S, N, O z wolnymi parami elektronów, jak imidazolowa, karboksylowa, fenolowa, amonowa czy sulfhydrylowa [Szkolnik 1980]. Atom żelaza hemu jako grupy prostetycznej enzymu katalazy i peroksydaz jest związany wiązaniami kowalencyjnymi i koordynacyjnymi z atomem azotu hemu, a wiązaniami koordynacyjnymi z grupą imidazolową histydyny i grupą ϵ -aminową lizyny wchodzących w skład apoenzymu. W cząsteczce dehydrogenazy fosfogliceraldehydowej cynk wiąże się prawdopodobnie z tlenem grup fosforanowych koenzymu i substratu, a ponadto z siarką grupy sulfhydrylowej i z azotem histydyny w apoenzymie.

Wiele metali, wskutek antagonistycznego wypierania, może hamować działanie enzymów. Na przykład sód jest konkurencyjnym inhibitorem w stosunku do potasu. Wapń hamuje aktywność enzymów stymulowanych przez Mg^{+2} , który z kolei hamuje aktywność np. ATPazy miozyny stymulowanej jonami Ca^{+2} . Cynk hamuje aktywność fosfotransferazy ATP:kreatyna, której aktywatorami są Mg^{+2} , Mn^{+2} lub Ca^{+2} [Szkolnik 1980]. Jony, które zwykle działają antagonistycznie, jak np. Ca^{+2} i Mg^{+2} w procesie aktywacji jednego enzymu mogą niekiedy wywierać wpływ synergiczny przy aktywacji innych enzymów, np. fosfohydrolaza monoestrów ortofosforanowych może być aktywowana przez Mg^{+2} , Mn^{+2} , Ca^{+2} lub Zn^{+2} . W zależności od stosunku Zn do Mg w środowisku reakcyjnym może się zmieniać optimum pH aktywności fosfatazy w kwaśny lub zasadowy jego zakres.

Enzymy zawierające cynk są głównie związane z metabolizmem węglowodanowym, fosforanowym i białkowym. Do najważniejszych z nich należą: anhidraza węglanowa, karboksypeptydaza A, peptydazy, proteinazy, α -amylaza, zasadowa fosfataza oraz szereg dehydrogenaz zależnych od $NADP^+$ i NAD^+ , jak dehydrogenaza alkoholowa i glutaminianowa i in. Działanie cynku w tych enzymach polega najprawdopodobniej na umożliwieniu wiązania enzymu z substratem, w czym Zn jest podobny do jonów Mn^{+2} i Mg^{+2} . Poza tym jony Zn^{+2} katalizują wiązanie $NADP^+$ i NAD^+ na nośniku białkowym, co umożliwia ich działanie oksydoredukcyjne. [Perez-Mateos i Gonzalez-Cercedo 1987].

Zdolność żelaza do tworzenia związków chelatowych oraz do zmiany wartościowości to dwie cechy umożliwiające spełnianie licznych funkcji fizjologicznych. Jedną z tych funkcji jest jego udział w układach enzymatycznych, w których hem stanowi grupę prostetyczną. Należą do nich katalaza, peroksydazy, oksydaza cytochromowa oraz liczne cytochromy [Dunford 1997]. Dwa pierwsze z nich pełnią rolę ochronną w tkankach roślinnych i zwierzęcych zapobiegając nagromadzeniu się H_2O_2 , który w większych stężeniach działa toksycznie. W obu tych enzymach występuje Fe^{+3} , które nie ulega redukcji

[**Lityński i Jurkowska** 1982]. Krystaliczna katalaza zawiera 0,09% Fe^{+3} , co odpowiada czterem atomom na jedną cząsteczkę [**Kretowicz** 1971].

Proces aktywacji enzymów przez Mg^{+2} jest ściśle związany z jego zdolnością do tworzenia ze związkami organicznymi połączeń kompleksowych. Jony Mg^{+2} mogą tworzyć wiązania chelatowe między strukturą pirofosforanową (ADP lub ATP). Główna rola Mg^{+2} w aktywacji enzymów polega na umożliwieniu powstania połączeń kompleksowych pomiędzy enzymem i substratem [**Stryer** 1997]. Magnez jest specyficznym aktywatorem tylko nielicznych enzymów, np. nieorganicznej pirofosfatazy czy karboksypeptydazy. W przypadku innych enzymów może on być zastąpiony przez inne kationy, takie jak Mn^{+2} lub Co^{+2} , jakkolwiek ich aktywujący wpływ jest na ogół słabszy [**Lityński i Jurkowska** 1982]. Niespecyficznie magnez aktywuje enzymy związane z procesami fosforylacji: fosfatazy, fosfokinazy, syntetazy i inne.

Mangan jest aktywatorem wielu enzymów, szczególnie tych związanych z reakcjami oksydoredukcyjnymi, dekarboksylacji i hydrolizy, czy też przenoszenia grup funkcyjnych [**Penner-Hahn** 1997]. W wielu przypadkach Mn^{+2} nie działa specyficznie i może być zastąpiony przez Mg^{+2} [**Kabata-Pendias i Pendias** 1993]. Uważa się, że Mn^{+2} , podobnie jak Zn^{+2} i Mg^{+2} łączy się z substratem, przez co doprowadza go do związania z białkiem enzymatycznym. Ważniejsze enzymy, które aktywuje Mn^{+2} to: enzymy dekarboksylacji w cyklu cytrynianowym – dehydrogenaza jabłczanowa i izocytrynianowa, enzymy metabolizmu azotowego – L-leucyloaminopeptydaza, arginaza, prolidaza oraz liczne enzymy metabolizmu fosforowego i węglowodanowego [**Stryer** 1997].

Główna funkcja potasu jako aktywatora polega na jego wpływie na apoenzym. Utrzymuje on konformację cząsteczki białka w stanie zapewniającym jej optymalną sprawność [**Lityński i Jurkowska** 1982]. Potas wpływa na ładunek i stopień hydratacji grup polarnych białka enzymu. To z kolei wpływa na strukturę pierścieniową wody znajdującej się na zewnątrz i wewnątrz makrocząsteczki białka. Fakt ten pozwala przypuszczać, że jony K^{+} zwiększają elastyczność nieruchomego płaszcza wodnego, co umożliwia ekspozycję aktywnych centrów białkowej części enzymu; ujawnia się to z kolei w zwiększeniu szybkości katalizowanej reakcji. Stężenia potasu konieczne do uzyskania V_{max} są duże i wynoszą one zależnie od enzymu od 0,005 do 0,4 M. W ten sposób można by tłumaczyć między innymi wysokie zapotrzebowanie roślin na potas. Do najważniejszych enzymów aktywowanych przez potas należą: enzymy fotosyntezy i przemian węglowodanowych (fosfofruktokinaza, kinaza pirogronianowa, syntetaza CoA, syntetaza skrobiowa) enzymy przemian nukleotydów i kwasów nukleinowych (kinaza adenylowa, ATPaza, deaminaza adenylowa) przemian azotu (reduktaza azotanowa, dekarboksylaza

glutaminianowa i in.). Istnieją również enzymy, np. amylazy, fosfatazy, proteinazy, oksydaza cytochromowa i inwertaza, które wykazują zwiększoną aktywność w warunkach niedoboru potasu.

Funkcja Ca^{+2} w aktywacji enzymów sprowadza się głównie do jego udziału w utrzymaniu odpowiedniej struktury II i III-rzędowej białka, która jest niezbędna do ich funkcji katalitycznej. Przykładem może tu być α -amylaza, która pozbawiona wapnia wykazuje wprawdzie taką samą aktywność, jak rodzimy enzym, ale tylko w optymalnym pH. α -amylazy zawierają silnie związany wapń (najczęściej w proporcji molarnej [enzym: Ca^{+2}] jak 1:1), niezbędny zarówno dla stabilizacji struktury wtórnej enzymu, jak i jego aktywności katalitycznej. Podobnie, jak w przypadku innych białek enzymatycznych, nadmiar jonów wapniowych w środowisku reakcji powoduje jednak spadek aktywności α -amylaz [Galas i in. 1996]. Enzym pozbawiony jonów wapnia łatwo ulega denaturacji i traci aktywność. Podobnie proteazy wchodzą w połączenia kompleksowe z wapniem i dzięki temu utrzymana zostaje konfiguracja enzymu.

Poza aktywującym działaniem na białko enzymatyczne metale, zwłaszcza ciężkie, występujące w wyższych stężeniach, są powszechnie uznawane za inhibitory aktywności enzymatycznej i mikrobiologicznej gleby. Ich dopływ do gleby powoduje zmiany ilościowe i jakościowe w składzie mikroflory glebowej, co powoduje zmiany w aktywności enzymów i doprowadza w konsekwencji do osłabienia rozkładu materii organicznej [Chander i in. 2001, Sandaa i Enger 2001]. Z badań Januszka [1999] wynika, że cynk działa bardziej toksycznie na mikroorganizmy i enzymy glebowe niż ołów. Ołów charakteryzuje się większym powinowactwem do substancji organicznej gleby niż cynk, dzięki czemu jest w większym stopniu kompleksowany w glebie przez materię organiczną. Doelman i Haanstra [1989] po 18 miesiącach inkubacji gleby piaszczystej z metalami ciężkimi ustalili ich dawki ekologiczne E_{50} i stwierdzili następującą kolejność ich hamującego działania na aktywność fosfataz: $\text{Zn} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{Cr}$. Juma i Tabatabai [1977] określili toksyczną dawkę $25 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ i następującą sekwencję dla fosfatazy kwaśnej: $\text{Hg} > \text{Cd} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Pb}$ i dla alkalicznej: $\text{Cd} > \text{Hg} > \text{Zn} > \text{Cr} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Ni}$. Enzymami szczególnie wrażliwymi na działanie związków toksycznych są dehydrogenazy. Aktywność ich może być stosowana jako wskaźnik zmian aktywności mikrobiologicznej pod wpływem pestycydów, metali ciężkich, a także ścieków czy odpadów przemysłowych [Rossel i in. 1997].

2.5. Zależności pomiędzy uprawianą rośliną i sezonem wegetacyjnym oraz aktywnością enzymatyczną gleby

Aktywność enzymatyczna gleby może być w dużym stopniu kształtowana przez obecność i skład gatunkowy szaty roślinnej oraz okres wegetacji roślin, co związane jest z okresowym nagromadzeniem się w glebie substratów reakcji przeprowadzanych przez enzymy [Rastin i in. 1988, Koper i Piotrowska 1996]. Przebieg procesów enzymatycznych w glebie w trakcie sezonu wegetacyjnego roślin jest trudny do wyjaśnienia z uwagi na wpływ różnych czynników kształtujących właściwości środowiska glebowego w tym zmieniająca się okresowo temperatura i uwilgotnienie środowiska glebowego [Cieśła i Koper 1990]. Ważnym czynnikiem okresowych zmian aktywności enzymatycznej są zmiany w działalności życiowej mikroorganizmów. W związku z tym wg Kuprewicza i Shcherbakovej [1971] najwyższa aktywność enzymatyczna gleb występuje latem (lipiec, sierpień) oraz na początku jesieni. Podobnie Januszek [1993] w badaniach aktywności enzymatycznej poziomów próchnicznych wybranych gleb Beskidu Zachodniego najwyższe jej wartości zanotował w okresie letnim. Natomiast Cieśła i in. [1977] oraz Pancholy i Rice [1973] stwierdzili, że enzymy badanych gleb były stosunkowo aktywne w końcu wiosny. Natomiast dla gleb pobranych latem, zwłaszcza gorącym i zbyt suchym, następowało obniżenie się ich aktywności, a jesienią zaobserwowano ponowny jej wzrost. Także Galstian [1982] w próbkach czarnoziemiu spod uprawy pszenicy ozimej zauważył, że aktywność amylaz była wyższa w próbkach glebowych pobranych w maju, obniżała się dla pobranych w lipcu. Ponowny wzrost aktywności tych enzymów nastąpił w próbkach gleby pobranej w październiku.

Niektórzy autorzy wskazują na następczy wpływ resztek poźniwnych dostających się do gleby jako główny czynnik zmienności aktywności enzymatycznej gleby [Gianfreda i Bollag 1996]. Resztki poźniwne są bardzo ważnym składnikiem stabilności ekosystemu polowego. Wzbogacają one glebę w związki mineralne oraz substancje wiążące agregaty glebowe, a także są źródłem łatwo dostępnego węgla dla mikroorganizmów. Wzrasta też poziom materii organicznej w glebie, która ma wpływ na wzrost pojemności wodnej, a więc na dobre warunki dla rozwoju roślin i mikroorganizmów [Kobus 1995]. Wyjaśnienie przyczyn szybkości mineralizacji resztek i jej wpływ na aktywność drobnoustrojów i enzymów wymagałyby oznaczenia różnych form azotu w tych resztkach, określenia zawartości w nich przyswajalnych węglowodanów, ilości i stopnia skondensowania lignin oraz struktury tkankowej roślin. Należałoby także zbadać produkty metabolizmu samych

drobnoustrojów, które mogły też wpływać na tempo rozkładu resztek poźniwnych. Spośród powszechnie uprawianych roślin największe ilości resztek poźniwnych pozostaje po lucernie siewnej oraz koniczynie wysiewanych w mieszankach z trawami, a najmniejsza po okopowych. **Mysków i Tobolska** [1965] w badaniach modelowych nad aktywnością biologiczną gleby w czasie rozkładu w niej resztek roślinnych wykazali, że aktywność enzymatyczna zależała od rodzaju resztek i była skorelowana z tempem ich rozkładu. Autorzy stwierdzili ponadto, że aktywność inwertazy była najwyższa w piasku z resztkami owsa, a słabsza w glebie pozostałościami łubinu i lucerny. Natomiast najwyższą aktywność katalazy zanotowali oni w piasku z łubinem na początku doświadczenia. Być może przyczyną tego była duża zawartość białka katalazy w brodawkach korzeni łubinu znajdujących się stanie rozkładu już w czasie jego zbioru. W doświadczeniu z lucerną i owsem aktywność tego enzymu stopniowo wzrastała w ciągu dwóch tygodni. Po tym okresie zaznaczył się w piasku z łubinem spadek aktywności katalazy, natomiast w piasku z resztkami owsa aktywność ta utrzymywała się na wyrównanym poziomie przez trzy miesiące trwania doświadczenia.

Duże znaczenie w utrzymaniu, oraz w podnoszeniu żyzności gleby ma system korzeniowy roślin. Dodatni wpływ systemu korzeniowego roślin uprawnych na fizykochemiczne i biologiczne właściwości najwyraźniej występuje u roślin motylkowych. Mają one duży udział w tworzeniu się struktury gruzełkowej, poprawiają warunki wodno-powietrzne gleby. U większości roślin motylkowych korzeń główny przebija zbite warstwy gleby i po obumarciu korzeni powstają kanaliki, przez które łatwo przenikają woda i powietrze, co w efekcie polepsza warunki rozwoju różnych grup mikroorganizmów. Rośliny motylkowe pobierają składniki pokarmowe ze związków trudno rozpuszczalnych w wodzie, a więc mało dostępnych dla innych roślin [**Sytnik i in.** 1977].

Roślina jest jednym z partnerów w układzie biocenotycznym i wszelkie zmiany fizjologiczne, jakie przechodzą w okresie wegetacyjnym, znajdują swe odbicie w cechach zespołu współżyjących z nią drobnoustrojów [**Balicka** 1983]. Podstawowym elementem zależności w układzie roślina - drobnoustroje jest wymiana metabolitów, wpływających na metabolizm podstawowy lub wtórny partnera. Roślina dostarcza ich w formie wydzielin korzeniowych. Dynamiczny rozwój drobnoustrojów w ryzosferze jest uwarunkowany obecnością substancji energetycznej, powstającej w procesie fotosyntezy [**Paul i Clark** 2000]. Dowodem wpływu rośliny na przylegające do korzeni drobnoustroje jest odmienny i w miarę czasu coraz bardziej specjalizujący się skład mikroflory i wydzielanych przez nią enzymów w monokulturach, w porównaniu do upraw ze zmianowaniem. Bywa to często przyczyna zjawiska tzw. zmęczenia gleby, polegającym na zaburzeniu równowagi biolo-

gicznej gleby. Substancje wydzielane przez korzenie wpływają selekcyjnie na mikroflorę ryzosfery, nie tylko przez zmiany w zawartości i jakości związków służących jako materiał energetyczny i budulcowy, ale również przez wydzielanie związków specyficznych hamujących wzrost bakterii [Balicka 1983].

2.6. Wykorzystanie wskaźników aktywności biologicznej gleby do oceny stanu jej żyzności i urodzajności

Żyzność gleby oraz jej potencjał plonotwórczy są związane z właściwościami fizykochemicznymi oraz aktywnością biologiczną, tj. intensywnością przebiegu katalizowanych przez drobnoustroje procesów przemian substancji organicznych i mineralnych [Gliński i in. 1983, Patzel i in. 2000]. Żyzność warunkuje współdział gleby we wzroście, rozwoju i plonowaniu roślin, przejawia się w zdolności gleby do przekazywania biotującym na niej roślinom składników pokarmowych, wody, powietrza czy też zapewnieniu odpowiedniej temperatury. Kryterium oceny żyzności opiera się na reagowaniu roślin na warunki edaficzne stwarzane przez daną glebę. Jeżeli jedna gleba wykazuje większą żyzność od drugiej to znaczy, że przy tej samej zasobności i agrotechnice, przy tych samych warunkach pogodowych, z tej samej powierzchni i w tym samym czasie przyrasta większa ilość biomasy [Kowaliński 1995].

Sama zasobność gleby w składniki pokarmowe nie wystarcza do wzrostu i rozwoju roślin. Na glebach z natury zasobnych rośliny mogą się źle rozwijać, kiedy inne czynniki nie będą sprzyjały włączeniu występujących składników pokarmowych w obieg biologiczny. Na przykład gleby wytworzone z ilów, pomimo dużej zasobności w składniki pokarmowe, są mniej żyzne od gleb wytworzonych z utworów gliniastych lub pyłowych, mają bowiem złe warunki wodno-powietrzne, które w tym przypadku są czynnikiem hamującym.

Wśród czynników warunkujących określony stan żyzności gleby do najważniejszych należą:

- ♦ właściwości fizyczne: skład granulometryczny, struktura i tekstura, porowatość, temperatura i zdolność nagrzewania się gleby, właściwości wodne, właściwości powietrzne poszczególnych poziomów profilu;
- ♦ właściwości chemiczne i fizykochemiczne: zasobność w makro- i mikroskładniki pokarmowe dla roślin, zawartość substancji toksycznych, pH i zawartość CaCO_3 , skład kompleksu sorpcyjnego, właściwości sorpcyjne (T i S), buforowość;
- ♦ właściwości biochemiczne i biologiczne: zawartość substancji organicznej, zwłaszcza próchnicy, skład edafonu, aktywność biologiczna gleby, produkcja CO_2 .

Wymienione powyżej czynniki wzajemnie na siebie oddziałują, uzupełniają się i wpływają kompleksowo na kształtowanie się określonego stanu żyzności każdej gleby.

Żyzność gleby możemy podzielić na: a) żyzność naturalną właściwą, cechującą gleby na które nie oddziałuje człowiek. Kształtowana jest ona wyłącznie przez naturalne czynniki przyrodnicze i dotyczy tylko gleb dziewiczych; b) żyzność naturalną podlegającą wpływowi człowieka, charakterystyczną dla gleb uprawnych, w których została ona w mniejszym lub większym stopniu zmieniona przez działalność człowieka; c) żyzność agrotechniczną lub antropogeniczną występującą tam, gdzie człowiek przez zabiegi uprawowe od początku wpływa na wytworzenie się gleb, lub też z materiału macierzystego o bardzo niskim stopniu zasobności i żyzności, formuje całkiem nową glebę.

W warunkach stosowanej często jednokierunkowej produkcji roślinnej, przy intensywnym stosowaniu środków chemicznych może dochodzić do naruszenia równowagi biologicznej i energetycznej agroekosystemów [**Perez-Mateos i Gonzalez-Ceredo** 1987, **Runowska-Hryńczuk** 1992]. Dlatego też coraz częściej zwraca się uwagę na kontrolowanie stanu żyzności w oparciu o jej parametry biologiczne.

Intensywność procesów przemian substancji organicznej jest warunkowana czynnikami środowiska glebowego, zwłaszcza dostępnością materiału energetycznego, odpowiednią wilgotnością, temperaturą i dostępem tlenu. Intensywnemu rozkładowi związków organicznych towarzyszy silne namnażanie się heterotroficznych grup mikroflory, wzmożenie ich aktywności enzymatycznej oraz powstawanie produktów syntezy i mineralizacji (m.in. CO_2 i NH_3) [**Burns** 1978]. W odniesieniu do tego procesu wskaźnikiem aktywności biologicznej mogą być: ogólna biomasa drobnoustrojów lub aktywność i liczebność niektórych grup fizjologicznych mikroorganizmów.

Skład mikroflory glebowej może być charakteryzowany stosunkiem liczby bakterii (łącznie z promieniowcami) do liczebności grzybów (B/G) jak zaproponował to **Myśków i in.** [1996]. Autorzy ci w wieloletnim doświadczeniu z nawożeniem obornikiem na piasku gliniastym, stwierdzili korzystne warunki dla rozwoju bakterii i promieniowców. Jednostronne stosowanie natomiast nawożenia NPK, w tym N w $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, ograniczyło ich liczebność przy stosunkowo silnym rozwoju grzybów. Z punktu widzenia żyzności gleb wzmożony rozwój grzybów jest zjawiskiem niekorzystnym, gdyż wiele ich gatunków odznacza się właściwościami toksynotwórczymi [**Smyk** 1974]. Stosunek liczebności bakterii i promieniowców do liczebności grzybów wyraża w stopniu pełniejszym właściwości biologiczne gleby, niż liczebność każdej z tych grup osobno [**Myśków** 1981]. Analiza zmian liczebności poszczególnych grup drobnoustrojów w glebie może informować o kierunku przeobrażeń w tym środowisku. Określenie jednak aktywności biologicznej gleby jedynie

poprzez oznaczenie liczby drobnoustrojów nie zawsze jest odpowiednią jej miarą. Duża liczebność drobnoustrojów w glebie może wykazywać małą aktywność i dlatego odpowiednie jest niekiedy określenie ich wydajności przy pomocy testów ich aktywności [Kobus 1995, Ścigalska i Klima 1997]. Takim testem może być ilość wydzielanego CO₂ powstającego w procesach przemiany materii, jak i pobranego O₂ [Gołębiowska i Pędziwilk 1984]. Innymi wskaźnikami aktywności biologicznej gleby mogą być:

- ♦ ilość CO₂ wydzielonego na jednostkę C biomasy w jednostce czasu: $q_{CO_2} = \text{ilość } CO_2 \cdot C\text{-biomasy}^{-1} \text{ h}^{-1}$ [Anderson i Domsch 1993];
- ♦ ilość C lub N biomasy przypadająca na jednostkę C i odpowiednio N ogółem [Barriuso i in. 1988];
- ♦ aktywność enzymatyczna przypadająca na jednostkę C biomasy [Kandeler i Eder 1993];
- ♦ potencjał metaboliczny (MP) wyliczony jako stosunek wartości aktywności dehydrogenazy i węgla organicznego: $MP = Dhase / WSOC$ [Masciandaro i in. 1998].

Wielu autorów za bardzo ważny wskaźnik aktywności biologicznej i żyzności gleby uważa jej aktywność enzymatyczną [Burns 1978, Dick i Tabatabai 1993, Nannipieri 1994b, Tabatabai 1994, Saviozzi i in. 2001]. Enzymy pod względem chemicznym są białkami o wysokiej specyficzności w stosunku do substratu i bardzo podatnymi na wpływ niekorzystnych czynników środowiska [Stryer 1997]. Dlatego każda zmiana ich aktywności może być czułym wskaźnikiem zachodzących w glebie przemian. Garcia i Hernández [1996] uważają aktywność enzymatyczną za bardziej przydatną do mierzenia produktywności gleb, niż intensywność oddychania lub oznaczenie populacji drobnoustrojów. Poszukiwania zależności pomiędzy aktywnością enzymów z klasy hydrolaz, a żyznością gleby było przedmiotem licznych badań [Nannipieri 1994b, Marchiori i in. 1998, Trasar-Cepeda i in. 2000, Saviozzi i in. 2001]. Ścigalska i Klima [1997] znaleźli korelację między aktywnością celulolityczną a plonami takich roślin jak bobik, owies i pszenżyto. Według Myśkowa [1981] istnieje korelacja między plonem roślin a aktywnością dehydrogenaz oraz zawartością C organicznego w glebach lekkich i średnich. Autor zaproponował, aby przy ocenie żyzności tych gleb posługiwać się m.in. Mikrobiologicznym Wskaźnikiem Żyzności (M) wyliczonym ze wzoru: $M = D \times C$, gdzie D – aktywność dehydrogenazowa w $\text{mm}^3 \text{H}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ s.m.}$ i C – zawartość węgla organicznego w %. Dla porównania wpływu różnych zabiegów agrotechnicznych, a zwłaszcza nawożenia organicznego i mineralnego na aktywność biologiczną różnych typów gleb w długotrwałych doświadczeniach nawożeniowych. Myśków i in. [1996] zmodyfikowali powyższy wskaźnik i na jego pod-

stawie sformułowali Biologiczny Wskaźnik Żyzności Gleb (F), który jest funkcją trzech wartości:

- ♦ aktywności biologicznej gleby (M);
- ♦ zawartości węgla organicznego (H);
- ♦ pojemności sorpcyjnej gleby (T).

Można go wyrazić wzorem: $F = M + H + T$

W równaniu tym M stanowi zamiennie liczebność bakterii (B), stosunek liczebności bakterii do liczebności grzybów B/G albo też aktywność dehydrogenaz lub fosfatazy alkalicznej. Także wielkość tego wskaźnika korelowała dodatnio z plonami roślin (kukurydzy i ziemniaków) niezależnie od rodzaju użytego wskaźnika aktywności biologicznej.

Wieloletnie badania mające na celu określenie poziomu aktywności biologicznej różnych typów gleb Rumunii prowadził **Stefanic i in.** [1984]. Autorzy zaproponowali Biologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (BIF) obliczony na podstawie aktywności dehydrogenaz (DA) i katalazy (CA) i wyrazili go wzorem:

$$BIF = (DA + kCA)/2$$

gdzie k – współczynnik proporcjonalności.

Wyliczony w ten sposób wskaźnik korelował z wartościami pH i stopniem wysycenia gleby zasadami (V%). Natomiast **Beck** [1984] przedstawił Enzymatyczny Wskaźnik Żyzności Gleby (EAN) pochodzący od aktywności takich enzymów, jak: dehydrogenazy, katalaza, fosfataza alkaliczna, proteazy i amylazy i wyrażony wzorem:

$$AN = 0,2 (mg \text{ trójjenyloformazanu} + cm^3 \text{ } O_2/10 + \mu g \text{ fenolu}/40 + mg \text{ N-aminowego}/2 + mg \text{ rozłożonej skrobi}/20)$$

Wskaźnik ten w badaniach autorów wynosił od 1 do 4 dla gleb ornych, a od 2 do 8 dla gleb leśnych i łąkowych. **Trasar-Cepeda i in.** [1998] sformułowali proste wyrażenie wielomianowe, które definiuje ilość azotu ogółem w naturalnych glebach Galicji (pół.-zach. Hiszpania) na podstawie mikrobiologicznej biomasy C, N zmineralizowanego oraz aktywność fosfomonoesterazy, ureazy i β -glukozydazy. Natomiast **Gajda i in.** [2000] do oceny żyzności gleby zaproponowali wskaźnik SBI obliczony na podstawie aktywności fosfatazy kwaśnej (F_{ac}) i alkalicznej (F_{al}), dehydrogenz (D) i zawartości biomasy drobnoustrojów (MB). Przy wyborze parametrów autorzy brali pod uwagę uzyskane we wcześniejszych badaniach wysokie, współczynniki ich korelacji z plonami roślin. Wskaźnik SBI został wyrażony wzorem:

$$SBI = [(F_{ac} \cdot 10) + (F_{al} \cdot 10) + D + MB]/100$$

Wartości wskaźnika SBI były istotnie skorelowane z plonami ziemniaków ($r = 0,85^*$) oraz jęczmienia jarego ($r = 0,88^*$).

Słuszne wydaje się prowadzenie badań nad biologicznymi wskaźnikami żyzności w doświadczeniach wieloletnich. Trwałe bowiem zmiany biologiczne w glebie ujawniają się najczęściej dopiero po wielu latach stosowania określonych zabiegów agrotechnicznych. Początkowo zmiany te są niewielkie, a w miarę upływu lat narastają. Niekorzystne oddziaływania uwidaczniają się najczęściej w postaci nagłego obniżenia się plonów. Prawdopodobnie wyniki odpowiednio wcześniej wykonanych analiz gleby z wykorzystaniem wskaźników biologicznych, wykazujących istotne ich zależności korelacyjne z plonami, mogą być sygnałem wskazującym na zachwianie równowagi biologicznej środowiska glebowego i możliwości szybkiego spadku plonów roślin [Runowska-Hryńczuk 1992].

W badaniach nad wskaźnikami biologicznymi należałoby uwzględnić różne typy gleb i rodzaje uprawianych roślin. Można przypuszczać, że w skrajnych pod względem właściwości typach gleb, ich żyzność będą odzwierciedlać inne wskaźniki aktywności biologicznej [Myśków 1981]. Wskaźniki biologiczne, zwłaszcza te wykorzystujące aktywność enzymatyczną, powinny stanowić uzupełnienie chemicznych i gleboznawczych parametrów jakości gleby. Żyzność jest bowiem, jak twierdzą Stefanic i in. [1984] funkcją nie tylko zasobności warstwy ornej, która jest najczęściej przedmiotem analiz biologicznych, ale także warunków wodno-powietrznych, klimatycznych, budowy profilu glebowego, a więc całego kompleksu czynników środowiskowych od siebie uzależnionych.

3. Charakterystyka badanych enzymów

3.1. Dehydrogenazy

Dehydrogenazy /EC 1.1.1–1.1.8/ katalizują utlenianie związków organicznych przez odłączenie od cząsteczki organicznej dwóch atomów wodoru (ściślej dwóch elektronów i dwóch protonów) i przekazanie ich na koenzymy, takie jak NAD^+ , NADP^+ lub FAD, które są pierwszymi akceptorami systemu transportu elektronów w procesie oddychania komórkowego [Stryer 1997, Kieliszewska-Rokicka 2001]. Na całkowitą aktywność dehydrogenazową składają się aktywności różnych dehydrogenaz, które są zasadniczą częścią systemu enzymatycznego związanego z procesami oddychania komórkowego. Wolne, abiotyczne dehydrogenazy nie są aktywne w glebie, ponieważ wchodzą w skład układów wewnątrzkomórkowych [Burns 1978, Ladd i in. 1996], a po obumarciu komórek bardzo szybko następuje ich degradacja. W związku z tym aktywność dehydrogenaz jest uważana za ogólny, pośredni wskaźnik liczebności i aktywności mikroorganizmów w glebie, ponieważ enzymy te są zaangażowane w utleniające sekwencje przenoszenia energii [Januszek 1999]. Aktywna dehydrogenaza może przenosić elektrony zarówno na tlen, jak i na węgiel oraz na inne połączenia. Wiele dehydrogenaz wytwarzanych jest przez bakterie beztlenowe, a więc w miarę ubytku tlenu wzrasta ogólna beztlenowość i aktywność dehydrogenaz [Kobus 1995]. Stwierdzono istnienie pozytywnej korelacji pomiędzy aktywnością dehydrogenaz glebowych, a zawartością ATP oraz aktywnością oddechową gleby [Nannipieri 1994a]. Dehydrogenazy są enzymami bardziej wrażliwymi na działanie związków toksycznych (metali, siarki, pestycydów), niż enzymy pozakomórkowe. Dlatego też aktywność dehydrogenaz jest uważana za bardzo czuły test w ocenie stanu zanieczyszczenia środowiska [Rogers i Li 1985, Nannipieri 1994b, Rossel i in. 1997].

3.2. Katalaza

Katalaza /EC 1.11.1.6/ rozkłada H_2O_2 tworzący się w wyniku dwuelektronowej aktywacji tlenu z udziałem oksydaz flavinowych. Ponieważ H_2O_2 jest silnym inhibitorem układów enzymatycznych, istnieją aktywne mechanizmy zdolne do jego rozkładu. Mechanizm działania katalazy polega na odwracalnym wytworzeniu nadtlenu enzymu z udziałem O_2 oderwanego od H_2O_2 i przeniesieniu odłączonych protonów i elektronów na drugą

cząsteczkę H_2O_2 [Murray i in. 1994, Dunford 1997]. Katalaza wykazuje również aktywność peroksydazy, tzn. może katalizować oderwanie atomów wodoru od substratów organicznych, rozkładając w ten sposób m.in. trujące cząsteczki kwasu mrówkowego, aldehydu mrówkowego czy etanolu [Garrett i Grisham 1995]. Katalaza jest enzymem powszechnie występującym w przyrodzie. Znalaziona została we wszystkich bakteriach tlenowych i u większości fakultatywnych beztlenowców, jest natomiast nieobecna u obligatoryjnych beztlenowców. Katalaza jest enzymem wewnątrzkomórkowym, może jednak być aktywna poza komórką dzięki adsorpcji na koloidach glebowych [Nannipieri i in. 1996].

Aktywność katalazy w glebie jest uważana za wskaźnik aktywności mikroorganizmów tlenowych i jest związana z poziomem biomasy oraz żyznością gleby [Garcia i Hernández 1997].

3.3. Enzymy amylolityczne

Wraz z resztkami roślin wyższych do gleby poza celulozą i hemicelulozą dostają się również znaczne ilości innych polisacharydów, m.in. skrobi. Skrobia w glebie ulega łatwo hydrolizie enzymatycznej katalizowanej przez amylazy, typowe enzymy trawienne występujące powszechnie w organizmach zwierząt, roślin i drobnoustrojach [Nigam i Singh 1995]. W katabolizmie skrobi biorą udział głównie α -amylaza /EC 3.2.1.1/ β -amylaza /EC 3.2.1.2/ oraz glukioamylaza /EC 3.2.1.3/ [Davies i in. 1997]. α -amylaza (4-glukanohydrolaza α -1,4- glukanu) katalizuje rozrywanie wyłącznie wiązań α -1,4-glikozydowych wewnątrz cząsteczki substratu (endoamylaza), a produktami jej działania są początkowo dekstryny wysokocząsteczkowe, przechodzące w miarę przebiegu reakcji w dekstryny o coraz krótszym łańcuchu. Produktami końcowymi hydrolizy z udziałem α -amylazy są głównie maltotrioza, izomaltoza i glukoza. β -amylaza (maltohydrolaza α -1,4- glukanu) działa na skrobię od strony nieredukującego końca łańcucha (egzoamylaza). Hydrolizuje ona co drugie wiązanie α -1,4-glikozydowe, odrywając jednostki β -maltozy. β -amylaza nie działa na wiązanie α -1,6-glikozydowe i nie jest w stanie go ominąć, jak α -amylaza, działanie jej zatrzymuje się więc po dojściu do tego wiązania. W wyniku działania β -amylazy na substraty rozgałęzione (zawierające wiązanie α -1,6-glikozydowe) produktami są: β -maltoza i wysokocząsteczkowa dekstryna graniczna. Glukioamylaza (glukohydrolaza α -1,4- glukanu) jest wytwarzana głównie przez drobnoustroje i katalizuje hydrolizę wiązań α -1,4 i α -1,6-glikozydowych odrywając kolejno cząsteczki glukozy od nieredukującego

końca cząsteczki wielocukru. Końcowym produktem działania glukoamylazy na skrobię i inne cukry jest glukoza [Garrett i Grisham 1995]

Z punktu widzenia przemian glebowej substancji organicznej główną rolę w hydrolizie skrobi należy przypisać enzymom z grupy α -amylaz. Enzymy tej podklasy wytwarzane są głównie przez bakterie, grzyby i pierwotniaki. Zostały wyizolowane m.in. z *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas saccharophila*, *Aspergillus oryzae* i wielu innych gatunków [Trojanowski 1973]. Amylazy są enzymami egzogennymi i trawienie skrobi przez drobnoustroje zachodzi zewnątrzkomórkowo [[Davies i in. 1997].

3.4. Enzymy proteolityczne

Białka są głównym składnikiem azotowym resztek roślinnych zwierzęcych oraz nawozów organicznych dostających się do gleby. Pewne ilości białka znajdują się w samej glebie – w komórkach jej drobnoustrojów [Trojanowski 1973]. Ze względu na dużą różnorodność białek, począwszy od niestrukturalnych łatwo ulegających degradacji (np. enzymy) do nieco bardziej opornych, strukturalnych i złożonych białek (np. keratyna, elastyna) jako substratów, istnieje bardzo duże zróżnicowanie proteaz [Burns 1983]. Enzymy proteolityczne podzielono na dwie grupy: peptydazy i proteinazy lub proteazy. Peptydazy są egzohydrolazami, które usuwają końcowe aminokwasy lub dipeptydowe jednostki z białek i peptydów. Proteinazy (endopeptydazy) są endohydrolazami, które rozpuszczają białka przez rozszczepienie wewnętrznych wiązań peptydowych. Proteinazy dzieli się często na cztery grupy wg optymalnego pH i sposobu ich działania: serynowe proteazy (pH 9-11), metaloproteazy (pH 7-8), które wymagają dla swego działania obecności jonów takich metali, jak: Zn, Mg, Co, Fe, Mn, Ni, cysteinowe proteazy (pH 4-8) oraz kwaśne proteazy (pH 1-5) [Loll i Bollag 1980, Burns 1983, Wharton 1997]. Wynika z tego, że enzymy proteolityczne jako podklasa hydrolaz mają szeroki zakres pH swojego działania.

Rozkład białek w glebie prowadzony jest głównie przez mikroflorę, która może wykorzystywać powstające w jego wyniku aminokwasy jako źródło węgla i azotu [Loll i Bollag 1980]. Wykazano również, że wewnątrzkomórkowe enzymy z korzeni, resztek roślinnych i zwierzęcych także mogą brać udział w hydrolizie białek w glebie [Ladd i Butler 1975]. W procesie przyswajania białek zewnętrznych przez mikroorganizmy wymagana jest przed adsorpcją ich uprzednia hydroliza do peptydów i aminokwasów. Proteazy działające na cząsteczki białka o wysokiej masie cząsteczkowej są zwykle zewnątrzkomórkowe, podczas gdy wewnątrzkomórkowe hydrolazy działają na cząstki białka o niskich masach [Ladd i Butler 1975]. Znanych jest wiele gatunków mikroorganizmów glebowych

wytwarzających proteazy. Do najważniejszych z nich należą bakterie głównie z rodzaju *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Peptococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* i in. oraz grzyby takie jak: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* i in. [Loll i Bollag 1980].

3.5. Fosfataza kwaśna i alkaliczna

Występujący w związkach organicznych fosfor stanowi od 30 do 50% zawartości fosforu ogółem w większości gleb. Niekiedy jednak jego ilość może się wahać w granicach od 5 do 95%. Fosfor w połączeniach organicznych występuje w glebie w postaci związków fitynowych, kwasów nukleinowych oraz fosfolipidów [Tarafdar i Claassen 1988, Paul i Clark 2000]. Enzymami uczestniczącymi w przemianach fosforu związków organicznych są specyficzne fosfatazy. Termin *fosfatazy* jest używany w odniesieniu do szerokiej grupy enzymów, które katalizują hydrolizę estrów i bezwodników kwasu ortofosforowego [Eivazi i Tabatabai 1977]. Przekształcają one organiczne związki fosforu w nieorganiczne fosforany (HPO_4^{2-} , H_2PO_4^-), które są bezpośrednio dostępne dla roślin i mikroorganizmów glebowych [Vourinen i Saharinen 1996, Januszek 1999]. Ze względu na liczbę wiązań estrowych odpowiedniego substratu fosfatazy podzielono na: hydrolazy monoestrów fosforanowych (fosfomonoesterazy) /EC 3.1.3/, hydrolazy diestrów fosforanowych (fosfodiesterazy) /EC 3.1.4/ i hydrolazy monoestrów kwasu trójfosforowego (fosfotrójesterazy) /EC 3.1.5/ [Margesin i Schinner 1994]. Najczęściej badane w glebie są fosfomonoesterazy. Różnią się one od innych fosfataz małą specyficznością względem substratu oraz różnym zakresem pH dla ich optymalnej aktywności. Kwaśny odczyn (pH 4-6) jest optymalny dla fosfomonoesterazy /EC 3.1.3.1/ nazywanej potocznie fosfatazą kwaśną, natomiast alkaliczny (pH 8-10) dla alkalicznej fosfomonoesterazy /EC 3.1.3.2/ zwanej fosfatazą alkaliczną [Eivazi i Tabatabai 1977, Dick i Tabatabai 1993]. Fosfatazy kwaśne są wytwarzane w glebie przez bakterie, grzyby, drożdże, pierwotniaki, grzyby mikoryzowe i korzenie roślin, natomiast fosfatazy alkaliczne jedynie przez bakterie i grzyby [Nakas i in. 1987, Tarafdar i Claassen 1988, Joner i Jakobsen 1995]. Korzenie wielu roślin, takich jak: koniczyzny, soja, łubiny, zboża i inne wydzielają fosfatazy do środowiska glebowego, szczególnie w warunkach niedoboru przyswajalnego fosforu. Roślinne fosfatazy kwaśne są więc typowymi enzymami adaptacyjnymi i ich aktywność wzrasta, gdy zawartość fosforu dostępnego dla roślin maleje [Tadano i Sakai 1991].

4. Materiał i metody badań

4.1. Charakterystyka doświadczenia polowego i badanej gleby

Materiał glebowy do badań pobrano z kolejnej rotacji zmianowania (1994-1998) realizowanej w statycznym jednoczynnikowym doświadczeniu nawozowym założonym w 1948 roku w Stacji Badawczej Wydziału Rolniczego ATR Bydgoszcz w Mochelku. Gleby Stacji, według Systematyki gleb Polski [Turski i Słowińska-Jurkiewicz 1992], reprezentują w całości gleby płowe typowe. Zaliczane są one do następujących jednostek hierarchicznych systematyki gleb:

Dział: Gleby autogeniczne

Rząd: Gleby brunatnoziemne

Typ: Gleby płowe

Podtyp: Gleby płowe typowe

Rodzaj: wytworzone z piasków fluwiogłacjalnych lub z gliny zwałowej

Gatunek: gleby obszaru stacji wykazują duże zróżnicowanie gatunkowe, zwłaszcza w poziomach skały macierzystej. W analizowanych utworach macierzystych spotyka się piaski (luźne do gliniastych mocnych pylastych), jak również glinę lekką.

Gleby płowe (lessive's) należą do gleb, które wytworzyły się w klimacie umiarkowanym wilgotnym. Są one wyługowane ze związków zasadowych, a przede wszystkim węglanów, do znacznych głębokości i dlatego mają odczyn kwaśny, a tylko niekiedy zbliżony do obojętnego. Stopień wysycenia kompleksu sorpcyjnego kationami o charakterze zasadowym jest zróżnicowany i w poziomach Ap i Eet waha się w granicach od 35 do 85% w zależności od uziarnienia. Natomiast w poziomach Bt wysycenie to wynosi od 60 do 93%. Gleby płowe typowe występujące na obszarze Stacji Badawczej w Mochelku posiadają w poziomie orno-próchnicznym Ap piasek gliniasty lekki lub mocny, niekiedy pylasty. W związku z tym zaliczyć je można do gleb lekkich. Pod względem przydatności rolniczej należą one do kompleksu żytniego.

W profilu badanej gleby wyróżnia się cztery poziomy: Ap, Eet, Bt, C o uziarnieniu piasku gliniastego lekkiego pylastego w poziomach wyżej położonych oraz gliny średniej w poziomie Bt i gliny lekkiej w poziomie C. Ilość części spławialnych w poziomie orno-próchnicznym wynosi około 15% [Długosz i in. 1999]. Skład granulometryczny badanej gleby przedstawiono w tabeli 3.1.

Tabela 3.1. Uziarnienie profilu badanej gleby

Poziom genetyczny	Głębokość pobrania pró- by [cm]	Zawartość frakcji [%]				Gatunek PTG
		1,0-0,1	0,1-0,02	0,02-0,002	<0,002	
		Ø mm				
Ap	15-27	56	19	10	5	pglp
Eet	38-48	56	13	7	4	pglp
Bt	65-80	35	25	22	17	gś
C	110-130	50	15	16	9	gl

Próbki gleb do badań pobrano z czternastu obiektów nawozowych, rozmieszczonych w układzie systematycznym w pięciu blokach stanowiących replikacje.

Obiektami były następujące kombinacje nawozowe:	W pracy zastosowano następujące skróty:
1. Bez nawożenia	'O'
2. Słoma 5t/ha + NPK	Słoma + NPK
3. NPK + Ca	NPK + Ca
4. NPK	NPK
5. Obornik	Ob.
6. Obornik + PK	Ob. + PK
7. Obornik + NK	Ob. + NK
8. Obornik + NK + Mg	Ob. + NK + Mg
9. Obornik + NP	Ob. + NP
10. Obornik + NP + Mg	Ob. + NP + Mg
11. Obornik + NPK	Ob. + NPK
12. Obornik + NPK + Mg	Ob. + NPK + Mg
13. Obornik + NPK + Ca	Ob. + NPK + Ca
14. Obornik + NPK + Ca + Mg	Ob. + NPK + Ca + Mg

Do nawożenia gleby użyto następujące nawozy: saletra amonowa, superfosfat prosty pylisty bądź potrójny granulowany, sól potasowa – wysokoprocentowa, siarczan magnezu, wapno nawozowe węglanowe. Obornik w dawce 50t/ha stosowano przed orką zimową pod burak cukrowy. Słomę w dawce 5t/ha stosowano w trakcie uprawy późniwej także pod burak cukrowy. Do słomy dodawano azot w dawce 35 kg N/ha.

Zmianowanie i nawożenie roślin w rotacji oraz wybrane elementy agrotechniki przedstawiono w tabelach 4.2. i 4.3. Plony roślin uprawianych w zmianowaniu w latach 1996-1998 przedstawiono w tabeli 6 (aneks).

Tabela 4.2. Wybrane elementy agrotechniki roślin

Gatunek rośliny	Odmiana rolnicza	Termin siewu	Ilość siewu $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$	Termin zbioru
Burak cukrowy	Colobri	22. 04. 94	Siew punktowy o rozstawie 20x45 cm	14. 10. 94
Jęczmień jary z wsiewką koniczyny czerwonej	Dema	20. 04. 95	118	03. 08. 95
Koniczyna czerwona	Hruszowska	20. 04. 95	19	I – pokos: 18. 06. 96 II – pokos: 31. 07. 96
Rzepak jary	Evita	21. 04. 97	11	koszenie – 13. 08. 97 omłot – 19. 08. 97
Pszenica ozima	Kobra	30. 09. 97	310	21. 08. 98

Obszar, na którym zlokalizowano doświadczenie charakteryzuje się małą ilością opadów. Średnia suma roczna opadów wynosi jedynie 432 mm. Najwyższe opady występują w miesiącach letnich: lipcu, czerwcu i sierpniu, stanowiąc 40% opadów rocznych, natomiast najniższe są w lutym i marcu. Opady atmosferyczne w poszczególnych latach, a zwłaszcza w miesiącach, wykazują bardzo dużą zmienność i rzadko zbliżone są do przeciętnych wartości [Informator ATR 1997]. Średnia roczna temperatura gruntu na głębokości 5 cm wynosi 8,8°C. Temperaturę 5 °C grunt osiąga w pierwszej dekadzie kwietnia, 10 °C na przełomie kwietnia i maja, 15 °C na przełomie drugiej i trzeciej dekadzie maja. W drugiej dekadzie lipca temperatura gruntu przekracza na krótko próg 20 °C. W latach 1996-1998 tylko w 1998 roku opady były wyraźnie większe i przekroczyły 600 mm. Niekorzystne warunki termiczne ujawniły się także w okresie od grudnia 1996 roku do lutego 1997 roku. Wystąpiły wówczas znaczne spadki temperatury, przy jednocześnie bardzo małych opadach w grudniu i styczniu. W związku z tym w badanym fragmencie rotacji zaszła konieczność uprawy rzepaku jarego.

Warunki temperaturowe i wilgotnościowe gleby panujące na terenie RZD Mochełek w terminach poboru prób glebowych przedstawiono w tabeli 4.4.

4.2. Pobieranie materiału glebowego i przygotowanie próbek do analiz

Próbki gleby do analiz pobierano z wierzchniej warstwy gleby (5-25 cm) statycznego doświadczenia nawożeniowego, czterokrotnie w okresie sezonu wegetacyjnego w latach: 1996-1998, tj. w 48 -50 roku prowadzenia doświadczenia. W 1996 roku glebę pobierano spod koniczyny czerwonej w następujących terminach: 15 kwiecień, 23 maj, 15 lipiec

Tabela 4.3. Zmianowanie i nawożenie roślin w latach 1994-1998

ROK	Roślina	Nawożenie – dawka (kg ha ⁻¹), jej podział i termin stosowania				Razem
		N	P	K	Ca	
1994	Burak cukrowy	90-przedświeinie 90-zwieranie międzyrzędzi	52,4-po zbiorze przedplonu	182,6-po zbiorze przedplonu	42,2-zwieranie międzyrzędzi	2145-w trakcie uprawy poziwnej
1995	Jęczmień jary + wsiewka koniczyny czerwonej	50-przedświeinie	53,0-przed orką zimową	99,6-przed orką zimową	-	202,6
1996	Koniczyna czerwona	30-wiosenne ruszenie wegetacji	26,2-wiosenne ruszenie wegetacji	83,0-wiosenne ruszenie wegetacji	-	139,2
1997	Rzepak jary	90-przedświeinie 60-tworzenie pąków kwiatowych	56,4-jesienią	132,8-jesienią	18,1-przedświeinie	1073-przed orką siewną
1998	Pszennica ozima	30-przedświeinie 60-wiosenne ruszenie 30-pelnia strzelania w zdźbło	43,7-przedświeinie	99,6-przedświeinie	-	263,3
Suma nawożenia w rotacji		530	231,7	597,6	60,3	3218
Średnie roczne nawożenie		106	46,3	119,6	12,1	643,6
						1359,3
						271,9

oraz spod rzepaku ozimego: 3 października. W drugim roku badań (1997) materiał glebowy pobierano spod uprawy rzepaku jarego w terminach: 8 maj, 10 czerwiec, 31 lipiec oraz spod pszenicy ozimej: 12 października. W ostatnim roku badań (1998) próbki glebowe pochodziły z obiektów, na których uprawiano pszenicę ozimą, a pobierano je: 4 kwietnia, 12 maja, 25 czerwca i 15 sierpnia.

Próbki glebowe zostały wysuszone w temperaturze pokojowej, a następnie przesiane przez sito o średnicy oczek 1 mm. Glebę po przesianiu przechowywano w plastikowych pojemnikach w temperaturze ok. 18°C. Tak przygotowane próbki stanowiły materiał wyjściowy do analiz. Poszczególne analizy laboratoryjne wykonano w czterech powtórzeniach. Oznaczenie aktywności dehydrogenaz oraz azotu ogółem wykonano w próbkach gleby świeżej, natomiast pozostałe oznaczenia w materiale powietrznie suchym.

Analizy laboratoryjne oraz obliczenia statystyczne wykonano oddzielnie dla próbek gleb pobranych z pięciu replikacji polowych każdego obiektu nawożeniowego, a w tabelach z wynikami zamieszczono średnie z tych powtórzeń.

4.3. Metody badań aktywności enzymatycznej gleby

Wykonano oznaczenie aktywności następujących enzymów glebowych:

Dehydrogenazy - oznaczone zostały kolorymetrycznie wg **Thalmanna** [1968] z zastosowaniem jako akceptora wodoru chlorku trójfenylo-tetrazolu /TTC/, który ulegając redukcji do formazanu przybiera czerwoną barwę. Powstały w glebie, po inkubacji przez 24 godziny, formazan ekstrahowano etanolem, a intensywność zabarwienia etanolowego ekstraktu oznaczono przy użyciu spektrofotometru typu "Marcel" PRO.

Katalaza - oznaczona była gazometrycznie wg **Zvyagintseva** [1980] z użyciem 5% H_2O_2 jako substratu. Metoda oparta jest na pomiarze objętości tlenu wydzielonego podczas enzymatycznego rozkładu nadtlenu wodoru.

Fosfataza alkaliczna w pH 8,5 i **fosfataza kwaśna** w pH 5,5 - została oznaczona kolorymetrycznie wg **Tabatabai i Bremnera** [1969] z użyciem fosforanu p-nitrofenolu jako substratu. Enzym hydrolizując substrat uwalnia p-nitrofenol, którego ilość, na podstawie intensywności żółtego zabarwienia, oznaczono przy użyciu spektrofotometru typu "Marcel" PRO.

Enzymy proteolityczne - oznaczono także kolorymetrycznie na podstawie metody opracowanej przez **Becka** [1984], która polega na określeniu ilości aminokwasów powstałych po enzymatycznej hydrolizie żelatyny. W metodzie tej oznacza się spektrofotometrycznie

intensywność barwnych kompleksów, jakie tworzą się w roztworze po reakcji aminokwasów z miedzią.

Enzymy amylolityczne – oznaczono nefelometrycznie wg metody opracowanej przez **Becka** (1984), polegającej na pomiarze ilości nierozłożonej przez enzymy skrobi, po uprzednim wytrąceniu jej etanolem.

4.4. Metody analiz chemicznych gleby

Wykonano następujące oznaczenia:

- ♦ formy przyswajalne: Zn, Mn, Fe oznaczono metodą absorpcji atomowej po uprzedniej ekstrakcji w 1 N HCl;
- ♦ formę przyswajalną K oznaczono metodą fotometrii płomieniowej po uprzedniej ekstrakcji mleczanem wapnia, a przyswajalny Mg ekstrahowano CaCl_2 i oznaczono metodą adsorpcji atomowej;
- ♦ kationy Ca oznaczono metodą fotometrii płomieniowej po uprzedniej ekstrakcji gleby 1 N octanem amonu.

Oznaczenia powyższe zostały wykonane przez Stację Chemiczno-Rolniczą w Bydgoszczy.

Oznaczono także niektóre właściwości chemiczne gleby:

- ♦ węgiel organiczny oznaczono metodą Tiurina;
- ♦ azot ogółem metodą destylacyjną przy użyciu aparatu do destylacji Büchi;
- ♦ fosfor przyswajalny ($\text{P}_{\text{E-R}}$) - oznaczono metodą Egnera-Riehma polegającą na ekstrakcji związków fosforu z gleby za pomocą zbuforowanego roztworu mleczanu wapnia z HCl o pH 3,6 i kolorymetrycznym pomiarze zawartości kwasu fosforowego po przeprowadzeniu go w błękit fosforo-molibdenowy;
- ♦ pH w 1 M KCl metodą elektrometryczną, zachowując stosunek wagowy układu gleba : roztwór jak 1 : 2,5.

4.5. Statystyczne opracowanie wyników

Wielopowtórzeniowe dane liczbowe będące wynikiem analiz materiału glebowego uzyskane w latach 1996-1998 podano procedurom statystycznym. Dla wyników aktywności enzymatycznej wykonano analizę wariancji według modelu właściwego dla doświadczeń trzyczynnikowych, w układzie losowanych podbloków. Jako pierwszy czynnik przyjęto lata badań, jako drugi terminy pobrania próbek glebowych, a trzeci czynnik stanowiły

obiekty nawozowe. Wyniki badań zawartości N_{og} , C_{org} i P_{E-R} wykonywanych corocznie opracowano jako doświadczenie dwuczynnikowe, także w układzie losowanych podbloków. Jako pierwszy czynnik przyjęto lata badań, a jako drugi obiekty nawozowe. Wyniki zawartości przyswajalnych form wybranych metali oraz wapnia wymiennego opracowano jako doświadczenie jednoczynnikowe w układzie losowanych bloków. Za czynnik badań przyjęto tu obiekty nawozowe. Analiza wariancji pozwoliła prześledzić istotność zmian badanych cech pod wpływem rozpatrywanych czynników doświadczalnych: lat badań, zmian sezonowych oraz zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego.

Ponadto wyniki wykonanych analiz badanych cech poddano analizie korelacji prostej ($p < 0,05$), która określiła stopień zależności pomiędzy badanymi cechami. Analizę korelacji wykonano w programie 'Statistica for Windows PL'.

4.6. Obliczenie wskaźników charakteryzujących żyzność gleby

Na podstawie otrzymanych wartości aktywności enzymatycznej i innych badanych cech obliczone zostały wskaźniki żyzności gleby:

1. **Biologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (BIF)**, obliczony wg wzoru przedstawionego przez **Stefanica i in.** [1984] z wykorzystaniem wartości aktywności dehydrogenaz i katalazy (w przeliczeniu na 100 g gleby):

$$BIF = (DA + k \cdot CA)/2$$

gdzie: DA – aktywność dehydrogenaz [mg TPF]

CA – aktywność katalazy [$cm^3 O_2$]

k – współczynnik proporcjonalności (0,01)

2. **Enzymatyczny Wskaźnik Żyzności Gleby (EAN)**, którego wartości oblicza się wg wzoru przedstawionego przez **Becka** [1984]:

$$EAN = 0,2 [mg\ TPF + cm^3\ O_2/10 + \mu g\ pNP/40 + mg\ N-NH_4/2 + mg\ rozl.\ skrobi/20]$$

Do jego wyliczenia niezbędne są analityczne wartości aktywności następujących enzymów (w przeliczeniu na 10 g gleby): dehydrogenaz (mg TPF), katalazy ($cm^3 O_2$), fosfatazy alkalicznej (μg pNP), proteaz (mg N-NH₄) i amylaz (mg rozł. skrobi).

Modyfikacja własna wskaźnika EAN

W badaniach własnych formuła EAN została zmodyfikowana poprzez zmianę wyrażenia przedstawiającego aktywność fosfatazy alkalicznej: ($\mu\text{g pNP} \cdot 40$) g^{-1} gleby na mg pNP g^{-1} gleby, a więc na jednostkę w jakiej przedstawiono inne aktywności enzymatyczne gleby. Pozwoliło to na zbliżenie wartości aktywności fosfatazy alkalicznej do zakresu aktywności pozostałych enzymów zawartych w formule wskaźnika. Zatem po modyfikacji własnej wartość wskaźnika EAN wyliczono według poniższego wzoru:

$$EAN = 0,2 [\text{mg TPF} + \text{cm}^3 \text{O}_2/10 + \text{mg pNP} + \text{mg N-NH}_4/2 + \text{mg rozł. skrobi}/20]$$

3. **Mikrobiologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (M)** zaproponowany przez Myśkowa [1981] i wykorzystujący analityczne wartości aktywności dehydrogenaz (DA) wyrażone jako ilość $\text{mm}^3 \text{H}_2$ 100 g^{-1} gleby 24h^{-1} oraz zawartości C organicznego [%]:

$$M = DA \cdot C_{org} [\%]$$

4. **Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (B)** zaproponowany na podstawie wyników badań własnych oraz porównania przydatności innych wskaźników do oceny żyzności gleby. Jego wartości obliczono według poniższego wzoru:

$$B = [C_{org} + N_{og} + DHA + F_{al} + Prot + (Amyl/10)]$$

gdzie: C_{org} – zawartość węgla organicznego [%]

N_{og} – zawartość azotu ogółem [%]

DHA – aktywność dehydrogenaz [mg TPF g^{-1}]

F_{al} – aktywność fosfatazy alkalicznej [mg pNP g^{-1}]

Prot – aktywność proteaz [$\text{mg N-NH}_4 \text{g}^{-1}$]

Amyl/10 – aktywność amylaz [$\text{mg rozł. skrobi g}^{-1}$] podzielona przez 10, aby zbliżyć jej wartość do zakresu wartości pozostałych enzymów.

Aktywność enzymatyczną wykorzystaną we wzorze podano w przeliczeniu na 1 g gleby.

O wyborze takich właśnie parametrów do sformułowania wskaźnika B zadecydowały ich wysokie współczynniki korelacji z pozostałymi cechami badanej gleby oraz plonami uprawianych roślin. Świadczy to o ich ścisłym powiązaniu w przemianach głównych składników materii organicznej gleby, jakimi są węgiel i azot, w warunkach prowadzenia doświadczenia polowego w Mochelku.

5. Omówienie i dyskusja wyników

5. 1. Właściwości chemiczne gleby

5.1.1. Zawartość węgla organicznego i azotu ogółem

Materia organiczna gleby ma zasadnicze znaczenie dla kształtowania się właściwości gleby decydujących o jej żyzności. Jak powszechnie wiadomo stanowi ona istotną część składową kompleksu sorpcyjnego gleby, wpływa korzystnie na jej właściwości fizyczne oraz przyczynia się do utrzymania właściwej struktury i prawidłowych stosunków wodno-powietrznych. Zawartość materii organicznej ogółem w glebie, jak i poszczególnych jej frakcji jest modyfikowana między innymi przez nawożenie organiczne i mineralne [Łoginow 1989].

Analiza wariancji uzyskanych w badaniach własnych wyników nie wykazała istotnego zróżnicowania zawartości C_{org} i N_{og} w badanej glebie w zależności od roku pobrania próbek glebowych. Zawartość tych składników materii organicznej była natomiast istotnie zróżnicowana w zależności od zastosowanego nawożenia organiczno-mineralnego (tab. 5.1, 5.2). Jak wynika z wcześniejszych badań zawartość C_{org} w glebach nienawożonych zwykle zmniejsza się. Natomiast w warunkach nawożenia organicznego lub organiczno-mineralnego jego ilość wyraźnie zwiększała się [Szulc i in. 1999]. Podobne tendencje dotyczące zmian zawartości C_{org} wykazano w badaniach własnych gleby płowej z Mochelka. Najwyższa zawartość C_{org} wystąpiła w próbkach gleby pobranych z obiektów, gdzie stosowano pełne nawożenie organiczno-mineralne z dodatkiem Mg i wapnowaniem (obiekty 13 i 14) (tab. 5.1). Zawartość C_{org} w glebie pobranej z obiektów 7-12 była niższa i kształtowała się w zakresie 5,31-5,49 g kg⁻¹. Najniższą zawartość C_{org} stwierdzono w próbkach pochodzących z obiektów 1-4 i 6, gdzie kształtowały się one odpowiednio w granicach 4,69-4,91 g kg⁻¹ oraz 4,87 g kg⁻¹ (tab. 5.1).

Najniższą ilość azotu ogółem (N_{og}) w badaniach własnych stwierdzono w próbkach gleby z obiektów: kontrolnych, nawożonych słomą z NPK, samym NPK, NPK z wapnowaniem oraz obornikiem z PK (tab. 5.2). Najwyższą zawartość N_{og} stwierdzono w próbkach gleby z obiektów od 9 do 14 oraz 5 i 7. Zawartość azotu ogółem w tych próbkach wynosiła odpowiednio od 0,50 do 0,66 g kg⁻¹. Zwykle wyższe zatem ilości N_{og} , podobnie

Tabela 5.1. Zawartość węgla organicznego [gkg⁻¹] w glebie w zależności od nawożenia organiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Obiekty nawozowe	Lata badań			średnio
	1996	1997	1998	
1. 'O'	4,65	4,73	4,68	4,69
2. Słoma + NPK	4,75	4,91	4,94	4,87
3. NPK + Ca	4,91	4,95	4,83	4,90
4. NPK	4,90	4,95	4,87	4,91
5. Ob.	5,05	5,15	5,07	5,09
6. Ob. + PK	4,96	4,87	4,77	4,87
7. Ob. + NK	5,47	5,33	5,37	5,39
8. Ob. + NK +Mg	5,52	5,50	5,45	5,49
9. Ob. + NP	5,34	5,47	5,50	5,44
10. Ob. + NP + Mg	5,38	5,53	5,37	5,43
11. Ob. + NPK	5,26	5,33	5,37	5,32
12. Ob. + NPK + Mg	5,36	5,25	5,33	5,31
13. Ob. + NPK + Ca	6,44	6,57	6,45	6,49
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	6,63	6,67	6,74	6,68
średnio	5,33	5,37	5,34	5,35
NIR _{0,05} dla: I czynnika N.I. II czynnika 0,233		NIR _{0,05} dla interakcji: I x II N.I. II x I N.I.		

I – I czynnik: lata badań;
II – II czynnik: zróżnicowanie nawożenia organiczno-mineralne
N.I. różnica nieistotna

jak w przypadku zawartości C_{org}, stwierdzono w próbkach gleby nawożonej obornikiem z jednoczesnym nawożeniem mineralnym z dodatkiem magnezu i wapnowaniem. Jest to zgodne z danymi innych autorów, którzy również największą zawartość C_{org} stwierdzili w glebie pod wpływem łącznego stosowania nawożenia organicznego i mineralnego [Szulc i in 1999].

Nawożenie obornikiem istotnie wpłynęło na wzrost zawartości C_{org} (5,09 gkg⁻¹) (tab. 5.1) oraz N_{og} (0,50 gkg⁻¹) (tab. 5.2), w porównaniu do tego jaki stwierdzono w próbkach gleby kontrolnej. Zawartość tych biopierwiastków wynosiła tam odpowiednio: C_{org} - 4,69 gkg⁻¹ i N_{og} - 0,45 gkg⁻¹. Zawartość omawianych makroskładników w próbkach gleby z wyłącznym nawożeniem obornikiem była jednak stosunkowo niska w porównaniu do tej, jaką oznaczono w materiale glebowym z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym (obiekty 13 i 14). Nie jest to zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych autorów [Jarecki i Krzywy 1991, Barczak i in. 1999]. Stwierdzili oni wyższą zawartość C_{org} w glebie pod wpływem stosowania samego obornika, w stosunku do tej, jaką oznaczyli w glebach nawożonych organicznie i mineralnie.

Tabela 5.2. Zawartość azotu ogółem [g kg^{-1}] w badanej glebie w zależności od nawożenia organiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Obiekty nawozowe	Lata badań			średnio
	1996	1997	1998	
1. 'O'	0,45	0,47	0,42	0,45
2. Słoma + NPK	0,43	0,47	0,45	0,45
3. NPK + Ca	0,41	0,45	0,42	0,43
4. NPK	0,43	0,46	0,43	0,44
5. Ob.	0,50	0,52	0,47	0,50
6. Ob. + PK	0,38	0,42	0,40	0,40
7. Ob. + NK	0,53	0,57	0,53	0,54
8. Ob. + NK +Mg	0,47	0,48	0,43	0,46
9. Ob. + NP	0,53	0,56	0,50	0,53
10. Ob. + NP + Mg	0,49	0,54	0,54	0,52
11. Ob. + NPK	0,50	0,53	0,52	0,52
12. Ob. + NPK + Mg	0,57	0,56	0,52	0,55
13. Ob. + NPK + Ca	0,59	0,60	0,58	0,59
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	0,62	0,68	0,68	0,66
średnio	0,49	0,52	0,49	0,50
NIR _{0,05} dla:		NIR _{0,05} dla interakcji:		
I czynnika N.I.		I x II N.I.		
II czynnika 0,128		II x I N.I.		

I – I czynnik: lata badań

II – II czynnik: zróżnicowanie nawożenia organiczno-mineralne

N.I. różnica nieistotna

Tabela 5.3. Wartości stosunku C:N w badanej glebie

Obiekty nawozowe	Lata badań			średnio
	1996	1997	1998	
1. 'O'	10,3	10,1	11,1	10,5
2. Słoma + NPK	11,0	10,5	11,0	10,8
3. NPK + Ca	12,0	11,0	11,5	11,5
4. NPK	11,4	10,8	11,3	11,2
5. Ob.	10,1	9,9	10,8	10,3
6. Ob. + PK	13,1	11,6	11,9	12,2
7. Ob. + NK	10,3	9,4	10,1	9,9
8. Ob. + NK +Mg	11,7	11,5	12,7	12,0
9. Ob. + NP	10,1	9,8	11,0	10,3
10. Ob. + NP + Mg	11,0	10,2	9,9	10,4
11. Ob. + NPK	10,5	10,1	10,3	10,3
12. Ob. + NPK + Mg	9,4	9,4	10,3	9,7
13. Ob. + NPK + Ca	10,9	11,0	11,1	11,0
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	10,7	9,8	9,9	10,1
średnio	10,9	10,4	10,9	10,7

Czynnikiem decydującym o udostępnieniu roślinom wyższym azotu wchodzącego w skład resztek roślinnych jest wartość stosunku C:N w rozkładającej się materii organicznej. Im stosunek ten jest węższy, tym w większym stopniu azot może być wykorzystywany przez rośliny [Lityński i Jurkowska 1982]. Wartość stosunku C:N obliczona dla badanej gleby płowej z Mochelka z poszczególnych obiektów wynosiła od 9,7 do 12,2 i mieściła się w zakresie charakterystycznym dla poziomów próchnicznych gleb ornych naszej strefy klimatycznej (tab. 5.3).

5.1.2. Odczyn badanej gleby

Zróznicowanie odczynu gleby w poszczególnych latach badań pod wpływem zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego przedstawiono w tabeli 5.4. Większość próbek badanej gleby charakteryzowała się odczynem bardzo kwaśnym (pH do 4.5), jedynie próbki gleby z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym (13 i 14) miały odczyn lekko kwaśny. Gleby kwaśne charakteryzują się z reguły obniżoną aktywnością mikrobiologiczną i niekorzystnymi zmianami właściwości chemicznych. Może to dotyczyć wymywania składników o charakterze zasadowym, wzrostu rozpuszczalności związków glinu, żelaza i manganu, spadku przyswajalności składników pokarmowych roślin oraz zmniejszającej się pojemności sorpcyjnej [Strączyński 1999].

Tabela 5.4. Odczyn badanej gleby (pH w 1M KCl) w zależności od nawożenia organiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Obiekty nawozowe	Lata badań			średnio
	1996	1997	1998	
1. 'O'	4,75	4,45	4,20	4,47
2. Słoma+ NPK	3,95	3,75	3,56	3,75
3. NPK + Ca	4,25	4,10	4,00	4,12
4. NPK	3,90	3,65	3,60	3,72
5. Ob.	4,20	3,90	3,75	3,95
6. Ob. + PK	4,35	3,90	3,75	4,00
7. Ob. + NK	4,05	3,75	3,45	3,75
8. Ob. + NK + Mg	4,00	3,70	3,40	3,70
9. Ob. + NP	3,95	3,65	3,50	3,70
10. Ob. + NP + Mg	4,10	3,80	3,73	3,88
11. Ob. + NPK	3,95	3,70	3,45	3,70
12. Ob. + NPK + Mg	4,25	4,35	3,35	3,98
13. Ob. + NPK + Ca	5,75	5,95	5,92	5,87
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	5,90	5,90	5,83	5,88
średnio	4,38	4,18	3,96	4,18

Rozpatrując wartości pH w 1 M KCl gleby pobranej w poszczególnych latach badań stwierdzić można, że najwyższym odczynem charakteryzowała się gleba spod konicy czerwonej, gdzie wynosił on 4,38 jednostek. Natomiast w glebach z kolejnych lat badań wartości odczynu były niższe (tab. 5.4).

Najwyższą wartość odczynu wynoszącą 5,87–5,88 jednostek posiadała gleba nawożona obornikiem łącznie z pełnym nawożeniem mineralnym (obiekty 13 i 14). Wartości te były dużo wyższe od tych, jakie stwierdzono w glebie z poletek kontrolnych (4,47 jednostek) oraz z pozostałych obiektów. Uzyskane wyniki potwierdzają dane innych autorów [Blecharczyk i in. 1993, Szulc i in. 1999], którzy również wskazują na pozytywne oddziaływanie łącznego nawożenia organiczno-mineralnego na odczyn gleby oraz na silne działanie zakwaszające nawozów mineralnych stosowanych bez dodatku obornika. W badaniach własnych, z trudnych do wyjaśnienia przyczyn, stwierdzono bardzo niską wartość - 3,95 jednostek odczynu - dla gleby pochodzącej z obiektu nawożonego obornikiem, chociaż była ona nieco wyższa od wartości odczynu, jakim charakteryzowały się próbki nawożone mineralnie (3,72 jednostek). W badaniach innych autorów [Mazur i Sądej 1989, Jarecki i Krzywy 1991], stwierdzono znaczniejszy wzrost odczynu gleby pod wpływem działania obornika.

Wieloletnie nawożenie mineralne lub organiczno-mineralne bez wapnowania, jakie stosowano na niektórych obiektach nawozowych w doświadczeniu w Mochełku doprowadziło do silnego zakwaszenia gleby. Wartości odczynu gleby uzyskane w niniejszych badaniach dowodzą, że jedynie systematyczne stosowanie łącznego nawożenia organiczno-mineralnego z wapnowaniem może uchronić glebę przed niekorzystnymi zmianami chemicznym, takimi jak na przykład wzrost zawartości wymiennego glinu w roztworze glebowym, który uważany jest za główny czynnik toksyczności dla roślin na kwaśnych glebach mineralnych.

5.1.3. Zawartość przyswajalnych form magnezu, potasu i fosforu oraz wymiennego wapnia w badanej glebie

Magnez jest pierwiastkiem, którego glebowe zasoby formy przyswajalnej są silnie związane z typem gleby, a w szczególności z rodzajem skały macierzystej. Gleby lekkie, wytworzone najczęściej z piasków luźnych lub gliniastych, są z reguły uboższe w magnez przyswajalny, w porównaniu do gleb cięższych [Łabętowicz i Szulc 1999].

Zawartość przyswajalnej formy magnezu w badanej glebie płowej z RZD Mochełek z większości obiektów, według klas zawartości [Boratyński 1988], była bardzo niska.

Kształtowała się ona w zakresie od $8,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w próbkach gleby nawożonej słomą do $26,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ w glebie pobranej z obiektu nawożonego (Ob.+ NPK + Ca + Mg) (tab. 5.5) Najwyższą zawartością omawianego makroskładnika, spośród uzyskanych w badaniach, cechowały się próby gleby pobrane z obiektów nawożonych: (Ob. +NPK + Ca + Mg), (Ob. + NPK + Ca) oraz (Ob.+ NPK + Mg), jak i też samym obornikiem. Stosowanie obornika odgrywa zatem ważną rolę w uzupełnianiu zawartości przyswajalnych form magnezu w glebie. Potwierdzają to badania **Adamusa i in.** [1976], którzy po 16 latach trwania doświadczenia polowego uzyskali wzrost zawartości dostępnego Mg o $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, stosując obornik w dawce ekwiwalentnej do nawozów mineralnych (NPK). Jednocześnie autorzy stwierdzili, że w glebie nawożonej wyłącznie mineralnie zawartość Mg wynosiła tylko $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. **Kuszelewski i Łabętowicz** [1986] stosując nawożenie obornikiem przy wyższych

Tabela 5.5. Zawartość przyswajalnych form magnezu i potasu oraz wapnia wymiennego w badanej glebie

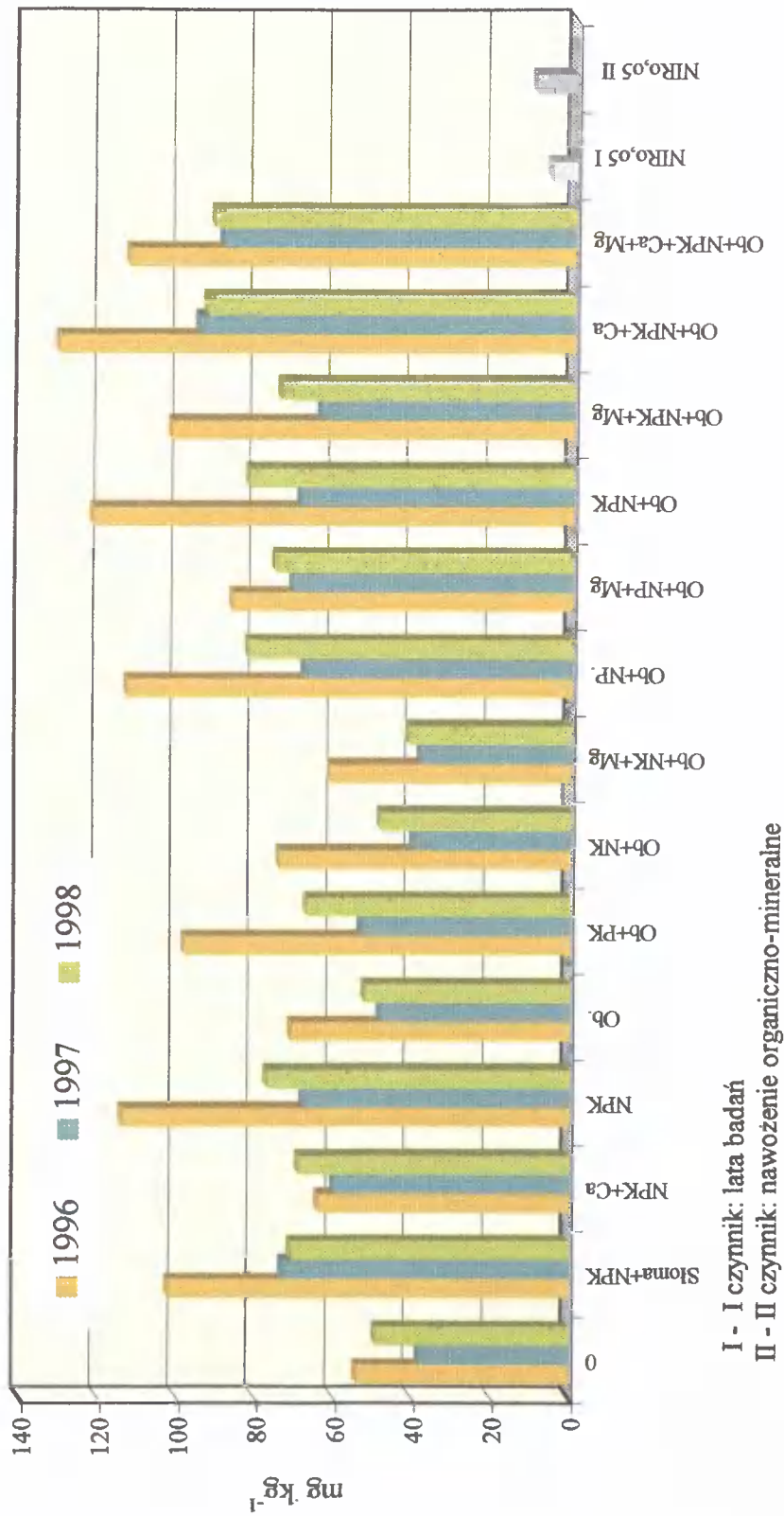
Obiekty nawozowe	Magnez	Potas	Wapń
	[$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]		[$\text{cmol (+)} \cdot \text{kg}^{-1}$]
1.'O'	12,0	47,2	1,26
2. Słoma + NPK	8,9	118,1	1,51
3. NPK + Ca	11,0	96,4	1,99
4. NPK	10,5	105,6	1,00
5. Ob.	14,7	106,2	1,25
6. Ob. + PK	13,2	141,3	1,25
7. Ob. + NK	9,2	119,5	0,73
8. Ob. + NK + Mg	12,5	98,4	0,73
9. Ob. + NP	10,0	81,1	1,25
10. Ob. + NP + Mg	13,5	104,0	1,00
11. Ob. + NPK	12,0	124,0	1,25
12. Ob. + NPK + Mg	17,5	146,2	2,26
13. Ob. + NPK + Ca	25,1	152,3	3,51
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	26,1	147,5	3,72
średnio	14,0	113,4	1,62
NIR_{0,05}	1,45	9,54	0,16

plonach roślin, uzyskali zawartość Mg przyswajalnego o 25% wyższą, w porównaniu do tej, jaką stwierdzili oni w glebach z poletek nienawożonych. Najwyższa jednak zawartość Mg przyswajalnego w glebach użytkowanych rolniczo występuje przy łącznym stosowaniu nawożenia organiczno-mineralnego [Szulc 1999]. Zasobność gleb lekkich w Mg przyswajalny jest w znacznym stopniu związana z ich zakwaszeniem. Wraz ze spadkiem pH gleby zmniejsza się ich zasobność w ten składnik. Stosowanie wapnowania podnoszącego pH gleby przyczynia się do wyraźnej zwyżki ilościowej przyswajalnych form Mg, co potwier-

dzają wyniki badań własnych (tab.5.4 i 5.5), jak i uzyskanych przez innych autorów [Gładysiak i in. 1999].

Chociaż zapasy glebowe potasu są wysokie, zasobność gleb w ten składnik zależy od zawartości w niej form dostępnych dla roślin oraz od stanu równowagi dynamicznej między tymi formami, a potasem silnie związanym w glebie [Sapek 2001]. Zawartość potasu przyswajalnego w badanej glebie z Mochelka kształtowała się w granicach od 47,2 mg·kg⁻¹ w glebie kontrolnej, do 152,3 mg·kg⁻¹ w glebie nawożonej: (Ob.+ NPK + Ca) (tab. 5.5). Najniższe zawartości omawianego makroskładnika w tej glebie wystąpiły w próbkach pobranych z obiektów, na których nie stosowano nawożenia potasowego. Dotyczy to poletek z obiektów nawozowych 1 i 9 (tab. 5.5). Analiza wariancji nie wykazała istotnego zróżnicowania zawartości potasu przyswajalnego w glebie z obiektów nawożonych obornikiem (wariant 5) oraz samym NPK (obiekt 4). Natomiast Barczak i in [1999], uzyskali prawie 100% wzrost zawartości potasu przyswajalnego w glebie nawożonej obornikiem, w porównaniu do tej, jaką otrzymali w glebie nawożonej nawozami mineralnymi. W badaniach powyższych autorów wapnowanie gleby powodowało nieznaczny wzrost zawartości przyswajalnych form potasu, natomiast w badaniach własnych gleby płowej z Mochelka stwierdzono obniżenie zawartości rozpatrywanej formy potasu w glebie nawożonej NPK z wapnowaniem na obiekcie 3 (96,4 mg·kg⁻¹), w porównaniu do zawartości, jaką stwierdzono w próbkach gleby nawożonej mineralnie (NPK) wynoszącej 105,6 mg·kg⁻¹ (tab. 5.5).

Analiza wariancji uzyskanych w badaniach własnych wyników zawartości fosforu przyswajalnego (P_{E-R}) wykazała, że zasobność gleby w tę formę fosforu była istotnie zróżnicowana w zależności od stosowanego nawożenia (rys. 1). Najwyższą zawartość P_{E-R} stwierdzono w próbkach gleby pobranych spod koniczyny czerwonej, w których wynosiła ona 93 mg·kg⁻¹ (średnio dla obiektów nawozowych). W glebie spod pozostałych dwu roślin zanotowano niższą zawartość P_{E-R}, która wynosiła w glebie pod rzepakiem jarym 62 mg·kg⁻¹, a w próbkach gleby spod pszenicy ozimej 69 mg·kg⁻¹. Najniższą zawartość P_{E-R} wynoszącą około 45-55 mg·kg⁻¹ stwierdzono w próbkach gleby kontrolnej oraz nawożonej: (Ob.+ NK + Mg) i (Ob.+ NK), czyli w glebie z obiektów, na których nie stosowano nawożenia fosforem. Nawożenie mineralne uwzględniające fosfor wpłynęło na wzrost zawartości glebowego P_{E-R}, w porównaniu do zawartości stwierdzonej w glebie kontrolnej i tej nienawożonej fosforem. Korzystny wpływ nawożenia fosforowego na zawartość P_{E-R} stwierdzono we wcześniejszych badaniach [Cieśla i Koper 1990, Kaniuczak i in. 1999, Barczak i in. 1999]. W badaniach własnych stwierdzono wyższą zawartość P_{E-R} w glebie nawożonej obornikiem, w porównaniu do tej, jaką stwierdzono w próbkach gleby kontrol-



Rys. 1. Zawartość fosforu przyswajalnego w badanej glebie w zależności od jej zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego

nej. Wykazano także wyższą jego zawartość w glebie nawożonej NPK (obiekt 4) NPK z obornikiem (obiekt 11), niż w glebie nawożonej tylko obornikiem. Taki sam kierunek zmian zawartości P_{E-R} w glebie płowej nawożonej obornikiem, NPK oraz łącznie obornikiem z NPK uzyskali **Barczak i in.** [1999]. Najwyższą zawartość P_{E-R} w glebie objętej badaniami własnymi stwierdzono w próbkach gleby pochodzącej z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym (obiekty 13 i 14). Korzystny wpływ łącznego nawożenia organiczno-mineralnego na poziom glebowego fosforu przyswajalnego potwierdzają badania innych autorów [**Cieśla i Koper** 1990, **Barczak i in.** 1999].

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji uzyskanych wyników stwierdzono istotny wpływ zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego stosowanego w doświadczeniu statycznym w RZD Mochelek na kształtowanie się zawartości wapnia wymiennego. Zawartość Ca^{+2} w badanej glebie mieściła się w zakresie od 0,73 cmol (+) · kg⁻¹ w glebie z obiektów 7 (Ob.+ NK) oraz 8 (Ob.+ NK +Mg) do 3,72 cmol (+) · kg⁻¹ w glebie z pełnym nawożeniem oraz dodatkiem magnezu i wapnowaniem (tab. 5.5). Zawartość Ca^{+2} była też stosunkowo wysoka w glebie z pozostałych obiektów, na których stosowano wapnowanie, czyli obiektu 3 (NPK + Ca) oraz 13 (Ob.+ NPK + Ca). Natomiast jego zawartość w glebie nienawożonej, jak i nawożonej samym obornikiem oraz w glebie z obiektów: 6, 9 i 11 nie była istotnie zróżnicowana. Podobnie **Stanisławska-Głubiak i Wróbel** [1999] uzyskali zbliżone zawartości Ca^{+2} w badanej przez siebie glebie kontrolnej i tej nawożonej obornikiem. Natomiast nawożenie gleby samym NPK lub NPK w kombinacji z obornikiem przyczyniło się do znacznego obniżenia zawartości kationów Ca, w porównaniu do tej, jaką autorzy ci stwierdzili w próbkach gleb kontrolnych i nawożonych obornikiem.

Niska zawartość przyswajalnych form K i Mg oraz Ca wymiennego jaką stwierdzono w glebie płowej z Mochelka, zwłaszcza z obiektów nawożonych tylko mineralnie, świadczy o stopniowej degradacji środowiska glebowego. Największą zdolność przeciwdziałania tym niekorzystnym zmianom, czyli pewną stabilność właściwości chemicznych, wykazała gleba, która była nawożona obornikiem w połączeniu z nawożeniem mineralnym. Dowodzi to dużego znaczenia nawożenia organicznego w utrzymaniu wysokiej kultury gleb uprawnych i wskazuje na konieczność ciągłego jego stosowania.

5.1.4. Zawartość przyswajalnych form wybranych mikroelementów w badanej glebie

Do czynników wpływających na przyswajalność mikroskładników w glebie należą przede wszystkim gatunek i odmiana rośliny, a także zawartość i formy występowania tychże mikroskładników w glebie. Zwykle zawartość mikroelementów w formie przyswajalnej zmniejsza się wraz ze wzrostem zawartości próchnicy, minerałów ilastych, tlenków żelaza, glinu i manganu, a także pojemności sorpcyjnej i na ogół jest większa przy odczynie kwaśnym, niż w warunkach odczynu zbliżonego do obojętnego [Dąbkowska-Naskręt i in. 1999].

Zawartość przyswajalnej formy cynku wynosiła w badanej glebie płowej od 3,00 do 5,95 mg·kg⁻¹ (tab. 5.6). Według klas uwzględniających kategorię agronomiczną gleby i jej odczyn [Boratyński 1988] mieściła się ona zatem w średniej klasie zasobności w ten składnik. Zawartość Fe ekstrahowanego 1M HCl wynosiła w próbkach gleb objętych badaniami własnymi 514,7 – 645,5 mg·kg⁻¹ (tab. 5.6). Zakres ten odpowiada zatem niskiej klasie zasobności gleb w ten mikroskładnik (< 700 mg·kg⁻¹). Z kolei zawartość przyswajalnych form Mn stwierdzonych w próbkach gleby z obiektów: 1, 3, 4, 6, 8-10 mieściła się w klasie średniej zasobności w ten składnik (dla gleby o pH<4,5), a zawartość tego mikroskładnika stwierdzona w próbkach gleby z obiektów: 2, 5, 11 i 12 pozwoliła na zakwalifikowanie gleby z tych wariantów nawożeniowych do wysokiej klasy zasobności w mangan.

Tabela 5.6. Zawartość wybranych przyswajalnych form mikroelementów w badanej glebie oznaczonych w 1 M HCl

Obiekty nawozowe	Zn	Mn	Fe
		[mg · kg ⁻¹]	
1. 'O'	4,00	119,1	519,6
2. Słoma + NPK	4,15	134,2	582,4
3. NPK + Ca	3,00	129,5	514,7
4. NPK	3,20	105,4	569,9
5. Ob.	4,23	130,5	557,2
6. Ob. + PK	4,20	127,8	542,3
7. Ob. + NK	3,25	101,2	522,6
8. Ob. + NK+ Mg	3,50	115,6	537,4
9. Ob. + NP	4,35	127,4	582,9
10. Ob. + N P+ Mg	4,55	129,5	590,3
11. Ob. + NPK	4,40	135,7	610,7
12. Ob. + NPK + Mg	4,63	146,2	645,5
13. Ob. + NPK + Ca	5,85	130,6	547,2
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	5,95	127,2	536,5
średnio	4,23	125,7	561,6
NIR _{0,05}	0,118	7,23	11,07

Zawartość Mn w glebie pobranej z obiektów 13 i 14 mieściła się w klasie zasobności średniej (dla gleb o $\text{pH} > 5,6$).

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji uzyskanych wyników zawartości przyswajalnych form Zn, Fe i Mn w badanej glebie można stwierdzić, że jej nawożenie organiczno-mineralne w istotny sposób wpłynęło na zasobność gleby w te mikroelementy. Zawartość Zn oznaczonego w 1M HCl była najwyższa w próbkach gleby pobranej z obiektu 13 (Ob.+ NPK + Ca) oraz 14 (Ob.+ NPK + Ca + Mg) i wynosiła średnio $5,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (tab. 5.6). Niższą zasobnością w cynk przyswajalny cechowała się gleba nawożona: (Ob. + PN + Mg) oraz (Ob.+ NPK + Mg), w której zawartość tego biopierwiastka wynosiła średnio $4,6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. W próbkach gleby nawożonej obornikiem stwierdzono wyższą zawartość Zn ($4,23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), niż w próbkach gleby z poletka kontrolnego, gdzie wynosiła ona $4,00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ i nawożonego samym NPK $3,20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wcześniej pozytywny wpływ nawożenia obornikiem na zawartość przyswajalnego Zn w glebie wykazali również **Stanisławska-Głubiak i Wróbel** [1999]. Najwyższą zawartość omawianej formy Fe i Mn w glebie z Mochelka objętej badaniami własnymi stwierdzono w próbkach pobranych z obiektów nawozowych: 11 (Ob.+ NPK) oraz 12 (Ob.+ NPK + Mg). W próbkach gleby z obiektów o $\text{pH} 5,9$ (warianty nawozowe 13 i 14) zawartości Fe i Mn w 1M HCl były znacznie niższe od tych jakie stwierdzono w glebie z obiektów 11 i 12, a także innych wariantów nawozowych. Nawożenie obornikiem wpłynęło na większą zawartość przyswajalnego Mn i Zn w badanej glebie, w porównaniu do ich ilości stwierdzonej w próbkach gleby nawożonej mineralnie (NPK). W glebie z tego obiektu zawartość Mn była o ok. 20% niższa, niż ta jaką stwierdzono w glebie nawożonej obornikiem z dodatkiem NPK (obiekt 11) oraz samym obornikiem (obiekt 5). Powyższe rezultaty są zgodne z wyniki uzyskanymi wcześniej przez **Stanisławska-Głubiak i Wróbla** [1999]. Natomiast **Rabikowska** [1999] w swych badaniach uzyskała nieco wyższą zawartość Mn w glebie nawożonej obornikiem w 1 roku rotacji, w porównaniu do jego zawartości, jaką stwierdziła w próbkach gleby kontrolnej oraz nawożonej wzrastającymi dawkami azotu.

5. 2. Aktywność enzymatyczna gleby

5. 2. 1. Aktywność oksydoreduktaz glebowych

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji uzyskanych wyników badań stwierdzono, że wszystkie rozpatrywane czynniki istotnie wpłynęły na kształtowanie się zarówno aktywności dehydrogenaz, jak i katalazy glebowej (tab. 5.7, rys. 2-5 - aneks).

Najwyższą aktywność dehydrogenaz stwierdzono w próbkach gleby pobranych w pierwszym roku badań (1996) niezależnie od terminu ich pobrania oraz rodzaju obiektu nawozowego (tab. 5.7 i 5.8). W pozostałych dwu latach stwierdzono niską aktywność dehydrogenaz bez istotnie statystycznej różnicy ich wartości (tab. 5.7, 5.9 i 5.10). Wysoka aktywność badanych dehydrogenaz w glebie pobranej spod koniczyny czerwonej i rzepaku ozimego (IV termin) może być tłumaczona pozytywnym oddziaływaniem tej rośliny na rozwój mikroorganizmów wytwarzających te enzymy. Prawdopodobnie proces mineralizacji resztek poźniwnych koniczyny łączy się z silnym namnażaniem się drobno-ustrojów co w efekcie prowadzi do wzrostu aktywności dehydrogenazowej. W badaniach **Myśkowa i Tobolskiej** [1965] aktywność enzymatyczna była dodatnio skorelowana z szybkością rozkładu resztek roślinnych. Autorzy badając aktywność dehydrogenaz w piasku słabo gliniastym o pH 6,4 stwierdzili wyższą jej wartość w glebie z resztkami łubinu, nostrzyku i koniczyny, niż w glebie z resztkami poźniwnymi żyta. Pozostałości roślin motylkowych najsilniej stymulowały aktywność dehydrogenaz w trzecim dniu inkubacji, natomiast w glebie z dodatkiem resztek poźniwnych żyta najwyższa ich aktywność została oznaczona dopiero po 120 dniach inkubacji.

Aktywność enzymatyczna gleby zmienia się w ciągu okresu wegetacyjnego uprawianych na niej roślin. We wszystkich latach badań własnych istotnie najwyższą aktywność dehydrogenaz stwierdzono w próbkach gleby pobranych w trzecim terminie (czerwiec – lipiec), gdzie wynosiła ona $0,098 \text{ mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$, natomiast najniższa była w próbkach pobranych w terminie drugim i wynosiła $0,052 \text{ mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$ (tab. 5.7). Obniżenie się aktywności enzymów w glebie z tego terminu jej pobrania mogło być spowodowane niską ilością opadów, jaką zanotowano w tym okresie w porównaniu do ich poziomu stwierdzonego w terminie III (lipiec 1996 – 1997 i sierpień 1998) (tab. 4.4). Niska wilgotność gleby może być przyczyną częściowej redukcji aktywności mikrobiologicznej i związanej z nią aktywności dehydrogenazowej [Tabatabai 1994], a nawet całkowitego zaniku obu aktywności. Natomiast **Nagaraja i in.** [1998] w próbkach gleb pobranych w okresie letnim uzyskali najniższą aktywność tego enzymu, tłumacząc to jego wrażliwością na duże wahania wilgotności gleby, jakie miały miejsce w tym okresie.

Tabela 5.7. Aktywność oksydoreduktaz glebowych w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego, lat i terminów pobrania próbek

Czynniki	Enzymy oksydoredukcyjne				
	Dehydrogenazy [mg TPF g ⁻¹ 24h ⁻¹]		Katalaza [cm ³ O ₂ g ⁻¹ min ⁻¹]		
I - Lata badań					
1996	0,144		1,51		
1997	0,040		1,04		
1998	0,041		1,10		
II - Terminy pobrania próbek					
I	0,074		1,30		
II	0,052		1,16		
III	0,098		0,99		
IV	0,075		1,43		
III - Obiekty nawozowe					
1. 'O'	0,057		1,18		
2. Słoma + NPK	0,073		1,20		
3. NPK + Ca	0,070		1,04		
4. NPK	0,054		0,96		
5. Ob.	0,093		1,31		
6. Ob. + PK	0,060		1,30		
7. Ob. + NK	0,072		1,20		
8. Ob. + NK + Mg	0,077		1,16		
9. Ob. + NP	0,058		1,11		
10. Ob. + NP + Mg	0,072		1,09		
11. Ob. + NPK	0,065		1,35		
12. Ob. + NPK + Mg	0,088		1,16		
13. Ob. + NPK + Ca	0,102		1,36		
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	0,111		1,61		
średnio		0,075	1,22		
NIR _{0,05} dla:					
I czynnika		0,004	0,157		
II czynnika		0,004	0,150		
III czynnika		0,007	0,180		
NIR _{0,05} dla interakcji:					
I x II	II x I	0,007	0,006	0,182	0,182
I x III	III x I	0,012	0,009	0,311	0,237
II x III	III x II	0,014	0,011	N. I.	

N.I. – różnica nieistotna

Zróżnicowane nawożenie stosowane przez wiele lat w doświadczeniu z Mochelka istotnie wpłynęło na aktywność dehydrogenaz glebowych (tab. 5.7–5.10, rys. 2, 3). Pełne nawożenie organiczno-mineralne z wapnowaniem - obiekt: (Ob.+ NPK + Mg + Ca) - przyczyniło się do najwyższej ich aktywności w próbkach gleby pobranej w 1997 i 1998 roku (wartości 0,079 i odpowiednio 0,060 mg TPF g⁻¹ 24 h⁻¹) (tab. 5.9-5.10). Istotnie niższa i mało zróżnicowana aktywność omawianej grupy enzymów wystąpiła w glebie pobranej z poletek nawożonych: (Ob.+ NPK + Ca) oraz (Ob.+ NPK + Mg) i samym obornikiem

(obiekt nr 5). Nawożenie gleby: (Ob. + PK) i (Ob. + NP), jak też samym NPK lub brak jej nawożenia ('0') przyczyniło się do istotnego obniżenia się aktywności dehydrogenaz (tab. 5.7-5.10). Wyniki badań aktywności dehydrogenaz w glebie pobranej w 1996 roku (tab. 5.8) wskazują na inhibujące działanie pełnego nawożenia (Ob. + NPK + Mg + Ca) na ich działalność, co wykazano w glebie pobranej we wszystkich czterech terminach.

Tabela 5.8. Aktywność dehydrogenaz ($\text{mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$) w glebie pod koniczyną czerwoną (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X *	średnio
1. '0'	0,091	0,073	0,157	0,128	0,112
2. Słoma + NPK	0,134	0,081	0,200	0,180	0,149
3. NPK + Ca	0,116	0,080	0,163	0,108	0,117
4. NPK	0,099	0,062	0,112	0,096	0,092
5. Ob.	0,120	0,117	0,210	0,193	0,160
6. Ob. + PK	0,091	0,079	0,157	0,094	0,105
7. Ob. + NK	0,158	0,114	0,173	0,089	0,134
8. Ob. + NK + Mg	0,182	0,092	0,147	0,124	0,136
9. Ob. + NP	0,116	0,090	0,166	0,093	0,116
10. Ob. + NP + Mg	0,128	0,118	0,181	0,140	0,142
11. Ob. + NPK	0,092	0,082	0,204	0,180	0,140
12. Ob. + NPK + Mg	0,176	0,116	0,283	0,208	0,196
13. Ob. + NPK + Ca	0,190	0,170	0,288	0,225	0,218
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	0,151	0,149	0,265	0,206	0,193
średnio	0,132	0,102	0,193	0,147	0,144

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

Potwierdzają to dane literaturowe [Martyniuk i in. 1997]. W badaniach aktywności enzymatycznej gleby pod uprawą ziemniaka autorzy wykazali, że dawki azotu w wysokości 120 kg ha^{-1} powodowały spadek aktywności dehydrogenazowej gleby. Myśków i Tobolska [1965] w glebie z obiektów wieloletnich doświadczeń polowych w ZD w Skierniewicach i Baborówku założonych na glebie lekkiej i średniej stwierdzili 4-krotnie niższą aktywność dehydrogenaz ($27 \text{ mm}^3 \text{ H}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ gleby) w glebie, gdzie stosowano NPK [N w $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] w dawkach $30\text{-}90 \text{ kg N ha}^{-1}$, w porównaniu do wartości jaką uzyskano w glebie kontrolnej ($114 \text{ mm}^3 \text{ H}_2 \cdot 100 \text{ g}^{-1}$ gleby).

Badania własne wykazały wzrost aktywności dehydrogenaz w glebie z obiektów nawożonych obornikiem, szczególnie pobranej spod pszenicy ozimej, czyli w trzecim roku prowadzenia badań, gdzie wyniosła ona $0,058 \text{ mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$ (tab. 5.10).

Tabela 5.9. Aktywność dehydrogenaz ($\text{mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$) w glebie pod rzepakiem jarym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X *	średnio
1. 'O'	0,023	0,018	0,039	0,024	0,026
2. Słoma + NPK	0,033	0,013	0,069	0,036	0,038
3. NPK + Ca	0,069	0,020	0,083	0,048	0,055
4. NPK	0,050	0,015	0,043	0,020	0,032
5. Ob.	0,053	0,038	0,093	0,056	0,060
6. Ob. + PK	0,042	0,026	0,043	0,033	0,036
7. Ob. + NK	0,055	0,028	0,034	0,029	0,037
8. Ob. + NK + Mg	0,058	0,031	0,050	0,028	0,042
9. Ob. + NP	0,033	0,010	0,028	0,019	0,023
10. Ob. + NP + Mg	0,034	0,015	0,041	0,030	0,030
11. Ob. + NPK	0,016	0,011	0,062	0,019	0,027
12. Ob. + NPK + Mg	0,032	0,023	0,042	0,032	0,032
13. Ob. + NPK + Ca	0,044	0,035	0,056	0,058	0,048
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	0,095	0,044	0,102	0,075	0,079
średnio	0,046	0,023	0,056	0,036	0,040

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

Tabela 5.10. Aktywność dehydrogenaz ($\text{mg TPF g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$) w glebie pod pszenicą ozimą (1998) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 4. IV	Termin II 12. V	Termin III 25. VI	Termin IV 15. VIII	średnio
1. 'O'	0,037	0,027	0,031	0,030	0,031
2. Słoma + NPK	0,032	0,029	0,034	0,038	0,033
3. NPK + Ca	0,042	0,027	0,042	0,041	0,038
4. NPK	0,050	0,022	0,042	0,035	0,037
5. Ob.	0,060	0,051	0,062	0,058	0,058
6. Ob. + PK	0,045	0,034	0,043	0,039	0,040
7. Ob. + NK	0,048	0,032	0,052	0,043	0,044
8. Ob. + NK + Mg	0,060	0,040	0,061	0,053	0,054
9. Ob. + NP	0,037	0,019	0,047	0,042	0,036
10. Ob. + NP + Mg	0,044	0,030	0,054	0,045	0,043
11. Ob. + NPK	0,028	0,018	0,035	0,027	0,027
12. Ob. + NPK + Mg	0,040	0,028	0,033	0,037	0,035
13. Ob. + NPK + Ca	0,047	0,035	0,044	0,029	0,039
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	0,058	0,046	0,069	0,065	0,060
średnio	0,045	0,031	0,046	0,042	0,041

Pozytywny wpływ obornika na aktywność enzymatyczną potwierdzają liczne badania [Eiland 1980, Cieśla i Koper 1990, Blecharczyk i in. 1993, Myśków i in. 1996].

Analizując natomiast wyniki aktywności dehydrogenaz uzyskane w badaniach własnych, należy zwrócić uwagę na wysoką ich wartość w glebie pobranej z obiektu nawożo-

nego słomą, w porównaniu do tych, jakie uzyskano w glebie z pozostałych obiektów nawozowych (tab. 5.7). Potwierdzają to wcześniejsze badania **Kucharskiego i Niklewskiej** [1991] oraz **Kucharskiego i Niklewskiej-Larskiej** [1992], w których zastosowanie słomy jako nawozu zwiększało populację mikroorganizmów i powodowało wzrost aktywności dehydrogenaz. Wzrost dawki słomy z $0,15 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ gleby do $1,5 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ w glebie piaszczystej (C – 0,5 %, N – 0,035%) powodował 100% wzrost aktywności tych enzymów.

Porównując aktywność dehydrogenaz w glebie z obiektów: (Ob.+ PK) i (Ob.+ NPK) doświadczenia w Mochelku można stwierdzić, że azot wywarł statystycznie istotny wpływ na wzrost aktywności tych enzymów w I roku prowadzenia badań, natomiast w pozostałych dwu latach, powodował jej spadek (rys. 3). Nawożenie azotem w niższych dawkach powoduje zwykle wzrost aktywności enzymatycznej [**Rusan i in.** 1977, **Šlimek i in.** 1999]. Wysokie dawki nawożenia tym składnikiem powodują zwykle inhibicję białek enzymatycznych [**Dancău i in.** 1984]. **Trevors** [1984] uzyskał obniżenie aktywności dehydrogenaz przy zastosowaniu dawki azotu $160 \mu\text{g N g}^{-1}$ gleby, a wcześniej **Moore i Russel** [1972] wykazali, że już dawka N-amonowego rzędu $80 \mu\text{g N g}^{-1}$ gleby powodowała obniżanie się aktywności dehydrogenaz. W badaniach **Kucharskiego i Niklewskiej** [1991] dawka nawożenia azotowego w wysokości 240 kg N ha^{-1} prowadziła do tym silniejszego obniżenia aktywności, szczególnie dehydrogenaz, im naturalna żyzność gleby była niższa.

W badaniach własnych nie stwierdzono jednoznacznego wpływu potasu na aktywność dehydrogenaz, porównując ich aktywność w glebie z obiektów nawożonych: (Ob.+ NP) i (Ob.+ NPK) oraz (Ob.+ NP + Mg) i (Ob.+ NPK + Mg), we wszystkich latach pobrania materiału glebowego (rys. 3). Podobny brak zróżnicowania aktywności omawianych enzymów pod wpływem nawożenia potasem wykazał **Šlimek i in.** [1999]. Porównując aktywność dehydrogenaz w glebie objętej badaniami własnymi pochodzącej z obiektów: (Ob.+ NK) i (Ob.+ NPK) oraz (Ob.+ NK + Mg) i (Ob.+ NPK + Mg) stwierdzono, że nawożenie fosforowe w dawkach 120 i $100 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$ (lata 1997 i 1998), we współdziałaniu z innymi czynnikami, mogło prowadzić do obniżenia jej poziomu (rys. 3). Podobne kierunki zmian aktywności analizowanych enzymów stwierdził **Šlimek i in.** [1999] w glebie nawożonej NPK w porównania do nawożonej NP. Wcześniej również **Stefanic** [1977] zauważył mniejszą ilość powstałego produktu działania dehydrogenaz wraz ze wzrostem dawek stosowanego superfosfatu do $100 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$, podczas gdy **Dancău i in.** [1984] wskazywali w tym przypadku na wzrost aktywności tych enzymów.

W badaniach własnych gleby z większości obiektów, na których do nawożenia dodano Mg z jednoczesnym wapnowaniem, stwierdzono wyższą aktywność dehydrogenaz w porównaniu do tej, jaką uzyskano w próbkach glebowych z odpowiednich obiektów

kontrolnych, np. (Ob.+ NK) i (Ob.+ NK + Mg) (rys. 2). Dodatni wpływ wapnia i magnezu na aktywność enzymatyczną gleby był obserwowany w wielu badaniach [Dancău i in. 1984, Cieśla i Koper 1990, Blecharczyk i in. 1993, Šlimek i in. 1999, Acosta-Martinez i Tabatabai 2000].

Analiza wariancji uzyskanych dla aktywności katalazy wyników wykazała, że była ona najwyższa (podobnie jak aktywność dehydrogenaz) w próbkach gleby pobranych w I roku prowadzenia badań. Natomiast w próbkach gleby pochodzących z lat 1997-1998 aktywność tego enzymu była niższa i statystycznie niezróżnicowana (tab. 5.7). Wysoka aktywność obu badanych oksydoreduktaz w glebie spod koniczyny wynikać może z jej wysokiej aktywności mikrobiologicznej. Obydwa te enzymy są związane bowiem z aktywnością mikrobiologiczną: dehydrogenazy z aktywnością ogólnej populacji mikroflory, natomiast katalaza głównie z działalnością mikroorganizmów tlenowych [Garcia i Hernández 1996].

Tabela 5.11. Aktywność katalazy ($\text{cm}^3 \text{O}_2 \text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$) w glebie pod koniczyną czerwoną (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X*	średnio
1. 'O'	1,63	1,47	0,83	1,80	1,43
2. Słoma + NPK	1,73	1,53	0,90	1,80	1,49
3. NPK + Ca	1,60	1,43	0,76	1,63	1,36
4. NPK	1,63	1,50	1,13	1,93	1,55
5. Ob.	1,53	1,53	1,13	1,87	1,52
6. Ob. + PK	1,67	1,60	1,27	1,90	1,61
7. Ob. + NK	1,57	1,47	0,90	1,50	1,36
8. Ob. + NK + Mg	1,60	1,43	0,97	1,70	1,43
9. Ob. + NP	1,53	1,40	1,13	1,77	1,46
10. Ob. + NP + Mg	1,53	1,43	1,17	1,53	1,42
11. Ob. + NPK	1,76	1,70	1,30	1,80	1,64
12. Ob. + NPK + Mg	1,53	1,43	1,13	1,73	1,46
13. Ob. + NPK + Ca	1,73	1,63	1,20	2,00	1,64
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	1,87	1,70	1,37	2,17	1,78
średnio	1,64	1,52	1,09	1,80	1,51

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

W badaniach własnych aktywność katalazowa gleby była zwykle dość wysoka w I terminie pobrania próbek glebowych, a obniżała się w drugim i w trzecim terminie ich pobrania. Natomiast pod koniec okresu wegetacyjnego (IV termin pobrania próbek) stwierdzono ponownie jej wzrost, aż do osiągnięcia aktywności maksymalnych, jakie uzyskano w całym okresie prowadzenia badań własnych (tab. 5.7, 5.11-5.13).

Tabela 5.12. Aktywność katalazy ($\text{cm}^3 \text{O}_2 \text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$) w glebie pod rzepakiem jarym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X *	średnio
1. 'O'	1,13	1,17	1,17	1,36	1,19
2. Słoma + NPK	1,23	1,33	1,03	1,23	1,21
3. NPK + Ca	0,90	0,83	0,63	1,13	0,87
4. NPK	0,47	0,37	0,27	1,03	0,54
5. Ob.	1,30	1,17	1,03	1,47	1,24
6. Ob. + PK	1,17	1,13	1,10	1,23	1,16
7. Ob. + KN	1,13	1,10	1,00	1,43	1,19
8. Ob. + KN + Mg	0,76	0,77	0,73	1,27	0,88
9. Ob. + PN	0,86	0,83	0,73	1,00	0,86
10. Ob. + PN + Mg	0,80	0,80	0,70	0,90	0,80
11. Ob. + NPK	1,27	1,17	1,00	1,50	1,24
12. Ob. + NPK + Mg	0,86	0,83	0,67	1,20	0,89
13. Ob. + NPK + Ca	1,07	1,00	0,70	1,37	1,04
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	1,33	1,60	1,23	1,73	1,47
średnio	1,02	1,01	0,86	1,28	1,04

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

We wcześniej badanych glebach aktywność katalazy zmieniała się w sezonie wegetacyjnym. Zwykle była ona dość wysoka w próbkach glebowych pobranych wiosną, natomiast niższa była w glebach pobranych latem. Często jesienią następował ponowny wzrost jej aktywności [Włodarczyk 1998 za Raguotis 1967]. W innych badaniach zmiany sezonowe aktywności katalazy nie zawsze były jednak stwierdzone [Skujins 1967].

Stwierdzono wysoką aktywność katalazy w glebie z kielkującymi nasionami, jak i młodymi, rozwijającymi się roślinami [Ram i in. 1985]. Tym faktem można w pewnym stopniu tłumaczyć wyższą aktywność tego enzymu otrzymaną w badaniach własnych w glebie pobranej zarówno po wschodach pszenicy ozimej (12. X 1997), jak i rzepaku jarego w I terminie 1997 oraz spod rzepaku ozimego w IV terminie pobrania próbek glebowych 1996 roku (tab. 5.11, 5.12). Aktywność katalazy jest bardziej związana z szatą roślinną, niż aktywnością mikrobiologiczną gleby [Vlasyuk i Lisoval 1978] i jej aktywność w ryzosferze jest znacznie wyższa, niż glebie pozarizosferowej. Jak wynika z badań tych autorów, zawsze im więcej drobnych korzonków wytwarza roślina i oplata nimi masę glebową, tym wyższą aktywność katalazową przejawia gleba. Aktywność katalazy uzależniona jest więc ściśle od budowy systemu korzeniowego uprawianej rośliny.

Tabela 5.13. Aktywność katalazy ($\text{cm}^3 \text{O}_2 \text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$) w glebie pod pszenicą ozimą (1998) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 4. IV	Termin II 12. V	Termin III 25. VI	Termin IV 15. VIII	średnio
1. 'O'	1,20	0,70	0,63	1,13	0,92
2. Słoma + NPK	1,20	0,76	0,60	1,03	0,90
3. NPK + Ca	1,13	0,90	0,67	0,90	0,90
4. NPK	0,80	0,63	0,77	0,97	0,79
5. Ob.	1,20	1,03	1,20	1,27	1,18
6. Ob. + PK	1,23	0,97	1,17	1,20	1,14
7. Ob. + NK	1,20	0,80	1,03	1,20	1,06
8. Ob. + NK + Mg	1,30	1,07	1,00	1,27	1,16
9. Ob. + NP	1,03	0,80	0,83	1,37	1,01
10. Ob. + NP + Mg	1,13	1,00	1,07	1,00	1,05
11. Ob. + NPK	1,27	1,03	1,10	1,23	1,16
12. Ob. + NPK + Mg	1,20	1,00	1,13	1,23	1,14
13. Ob. + NPK + Ca	1,53	1,20	1,33	1,50	1,39
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	1,73	1,50	1,57	1,50	1,58
średnio	1,23	0,96	1,01	1,20	1,10

Rozpatrując wpływ nawożenia, średnio dla wszystkich poziomów I czynnika (lata badań) należy stwierdzić, że istotnie najwyższa aktywność katalazy była w próbkach glebowych pobranych z obiektu: (Ob.+ NPK + Ca + Mg) i wynosiła ona $1,61 \text{ cm}^3 \text{O}_2 \text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$ (tab. 5.7). Niższą i statystycznie nieodróżnioną aktywność uzyskano w próbkach gleb pochodzących z następujących obiektów: kontrola, słoma, Ob., (Ob. + PK), (Ob. + NK), (Ob.+ NPK), (Ob.+ NPK + Ca). Natomiast najniższą aktywność badanego enzymu uzyskano w glebie z obiektów: NPK oraz NPK + Ca, gdzie średnio wynosiła ona $1,0 \text{ cm}^3 \text{O}_2 \text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$ (tab. 5.7).

Nie stwierdzono statystycznie istotnego wpływu nawożenia azotowego na aktywność katalazy w próbkach glebowych z porównywanych obiektów: (Ob.+ PK) i (Ob. + NPK) pobranych w całym okresie badań (rys. 5). Nawożenie potasem, fosforem oraz wapnowanie gleby tylko w nielicznych przypadkach wpływało istotnie na wzrost aktywności katalazy w próbkach gleby z porównywanych obiektów (rys. 4, 5). Dodatek magnezu w nawożeniu gleby nie wykazywał statystycznie istotnego wpływu na aktywność katalazy w próbkach gleb z obiektów nawozowych porównywanych w latach 1996 i 1998 (rys. 4). W próbkach gleby pobranych spod rzepaku jarego stwierdzono trudne do wytłumaczenia obniżenie się aktywności katalazy w próbkach obiektów z nawożeniem Mg (Ob.+ NK + Mg) i (Ob.+ NPK + Mg), w porównaniu do jej aktywności stwierdzonej w glebie z obiektów bez takiego nawożenia (Ob. + NK) oraz (Ob.+ NPK) (rys. 4). Natomiast w prób-

kach gleby pobranej w 1997 roku z obiektu 14 (Ob.+ NPK + Ca + Mg) aktywność katalazy była wyższa, niż ta jaką stwierdzono w glebie nawożonej: (Ob.+ NPK + Ca).

5. 2. 2. Aktywność amylolityczna i proteolityczna gleby

Na podstawie przeprowadzonej analizy wariancji otrzymanych wyników badań własnych stwierdzono, że zarówno aktywność amylaz, jak i proteaz glebowych była istotnie różnicowana przez wszystkie rozpatrywane w doświadczeniu czynniki (tab. 5.14, rys. 6-9 - aneks). Najwyższą aktywność amylaz uzyskano w próbkach gleby pobranych spod rzepaku ozimego (II rok badań), niższa natomiast była ona w glebie spod koniczyny czerwonej. Natomiast najniższą aktywność enzymów amylolitycznych oznaczono w glebie pochodzącej spod pszenicy ozimej (tab. 5.14 i 5.17). Amylazy są typowymi enzymami indukcyjnymi, których synteza przez mikroorganizmy wzrasta zwykle w obecności skrobi. Aktywność amylaz jest zatem w dużym stopniu zależna od zawartości skrobi w resztkach roślinnych, co z kolei stymuluje wydzielanie amylaz przez mikroorganizmy [Ram i in. 1985]. Właściwości skrobi, w tym jej podatność na działanie enzymów amylolitycznych, zależą od gatunku rośliny, jej odmiany, a także warunków siedliskowych w okresie wegetacji [Leszczyński 2001].

W literaturze dotyczącej aktywności amylaz można obserwować brak jednolitych poglądów dotyczących zmian ich aktywności w okresie wegetacji roślin. Galstian [1982] badając glebę czarnoziemną spod pszenicy zauważył, że aktywność tej grupy enzymów była wyższa w próbkach pobranych w maju, a obniżała się w pobranych w lipcu. Natomiast ponowny wzrost aktywności tych enzymów nastąpił w próbkach pobranych w październiku. Często aktywność amylaz glebowych wzrasta wraz z rozwojem wegetacyjnym roślin. Maksymalne wartości aktywności tych enzymów uzyskuje się w glebie badanej w drugiej połowie lata [Ross 1965]. W badaniach przeprowadzonych przez Kissa i in. [1978] dla próbek gleby spod jęczmienia aktywność amylaz była wyższa latem, w porównaniu do tej jaką autorzy uzyskali w próbkach pobranych wiosną i jesienią. Podobne wyniki uzyskano w badaniach własnych. Aktywność amylaz (średnio dla lat badań) była stosunkowo niska w próbkach gleb pobranych w pierwszych dwu terminach badań. Natomiast w glebie pochodzącej z III terminu pobrania próbek nastąpił ich wzrost, a w glebach w IV terminie nastąpił statystycznie istotny spadek aktywności amylolitycznej (tab. 5.14).

Tabela 5.14. Aktywność enzymów hydrolitycznych gleby w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego, lat i terminów pobrania próbek

Czynniki		Enzymy hydrolityczne				
		Amylasy mg rozł. skrobi g ⁻¹ 16h ⁻¹		Proteazy μg N-NH ₄ g ⁻¹ 16h ⁻¹		
I - Lata badań						
	1996	4,79		109,9		
	1997	5,04		92,4		
	1998	3,08		81,5		
II - Terminy pobrania próbek						
	I	3,92		89,1		
	II	3,79		77,8		
	III	5,44		99,2		
	IV	4,05		112,3		
III - Obiekty nawozowe						
	1. 'O'	3,85		89,8		
	2. Słoma + NPK	3,72		82,1		
	3. NPK + Ca	3,89		87,3		
	4. NPK	3,79		74,6		
	5. Ob.	4,30		86,4		
	6. Ob. + PK	4,07		85,3		
	7. Ob. + NK	4,09		77,9		
	8. Ob. + NK + Mg	4,26		96,0		
	9. Ob. + NP	4,13		78,5		
	10. Ob. + NP + Mg	4,38		97,0		
	11. Ob. + NPK	4,41		80,8		
	12. Ob. + NPK + Mg	4,42		106,5		
	13. Ob. + NPK + Ca	5,34		138,4		
	14. Ob. + NPK + Ca + Mg	5,56		143,8		
	średnio	4,30		94,6		
NIR _{0,05} dla:						
	I czynnika	0,041		7,77		
	II czynnika	0,041		6,41		
	III czynnika	0,077		11,41		
NIR _{0,05} dla interakcji:						
	I x II	II x I	0,070	0,061	11,10	10,23
	I x III	III x I	0,133	0,094	19,77	14,25
	II x III	III x II	0,154	0,119	22,82	17,82

Rozpatrując wpływ zróżnicowanego nawożenia na aktywność amylaz, średnio dla wszystkich lat badań, (tab. 5.14) wykazano, że najwyższe jej wartości wystąpiły w glebie nawożonej: (Ob.+ NPK + Ca + Mg) oraz (Ob.+ NPK + Ca). W próbkach gleby z tych obiektów aktywność wynosiła odpowiednio 5,56 oraz 5,34 mg rozł. skrobi g⁻¹16h⁻¹. Nieco niższą i statystycznie nie zróżnicowaną aktywność amylaz uzyskano w glebach pobranych z obiektów nawożonych: (Ob.+ NP + Mg), (Ob.+ NPK) oraz (Ob.+ NPK + Mg) (tab. 5.14).

Tabela 5.15. Aktywność enzymów amylolitycznych (mg rozł. skrobi g⁻¹ 16h⁻¹) w glebie pod koniczyną czerwoną (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X *	średnio
1. 'O'	3,13	3,16	8,20	5,62	5,03
2. Słoma + NPK	2,47	2,99	7,93	5,51	4,73
3. NPK + Ca	2,85	3,00	7,26	3,66	4,19
4. NPK	3,33	3,34	7,15	3,63	4,36
5. Ob.	3,55	3,61	7,45	4,31	4,73
6. Ob. + PK	3,18	3,40	7,22	3,92	4,43
7. Ob. + NK	3,01	3,12	6,71	3,86	4,18
8. Ob. + NK + Mg	3,35	3,53	7,78	3,90	4,64
9. Ob. + NP	3,52	3,45	7,32	3,73	4,51
10. Ob. + NP + Mg	3,54	3,45	7,36	3,67	4,51
11. Ob. + NPK	3,71	3,54	7,51	3,84	4,65
12. Ob. + NPK + Mg	3,65	3,76	7,37	3,83	4,65
13. Ob. + NPK + Ca	4,93	5,43	8,58	5,13	6,02
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	5,25	5,81	8,94	5,45	6,36
średnio	3,53	3,69	7,63	4,29	4,79

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

Vlasyuk i Lisoval [1978] badali wpływ długotrwałego stosowania nawozów mineralnych i wapnowania na aktywność różnych enzymów, w tym również amylaz. Systematyczne stosowanie przez autorów nawozów mineralnych (NPK) użytych w różnych kombinacjach przez kilkanaście lat bez wapnowania, miało negatywny wpływ na aktywność amylolityczną gleby. Wcześniej **Kiss i Drăgan-Bularda** [1977] prowadzili serię badań wazonowych w glebie torfowej (o pH 4,2), w których stosowali N (NaNO₃), K i P (K₂HPO₄) oraz wapno, które wysiewali oddzielnie lub w kombinacjach z NPK. Po 140 dniach inkubacji w niektórych glebach, zwłaszcza wapnowanych, wykazali oni nawet 200-225% wzrost aktywności amylaz.

W badaniach własnych stwierdzono, że wapnowanie gleby także istotnie podwyższyło aktywność amylaz, w porównaniu do ich aktywności, jaką oznaczono w próbkach gleby niewapnowanej. Wzrost aktywności amylaz był jednak niższy od tego, jaki uzyskali **Kiss i Drăgan-Bularda** [1977] i tylko w niektórych próbkach wynosił 25% (rys. 6).

Natomiast **Gianfreda i Bollag** [1996] stosując dodatek wapna (oddzielnie z N, PK lub NPK) stwierdzili wzrost pH gleby, z jednoczesnym obniżeniem się aktywności omawianych enzymów. W innych badaniach [**Vlasyuk i Lisoval** 1978] prowadzonych na glebie bielicowej spod ziemniaka nawożonej NPK (N-60, P₂O₅-60, K₂O) w formie NH₄NO₃, superfosfatu, KCl, z samym obornikiem (30t/ha) lub obornikiem z NPK stwierdzono, że najwyższa aktywność amylaz wystąpiła w glebie kontrolnej. Natomiast nawożenie wyłą-

Tabela 5.16. Aktywność enzymów amylolitycznych (mg rozł. skrobi g⁻¹ 16h⁻¹) w glebie pod rzepakiem jarym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno- mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X*	średnio
1. 'O'	3,46	3,66	4,18	3,28	3,65
2. Słoma + NPK	3,90	3,81	3,86	3,75	3,83
3. NPK + Ca	4,95	5,12	5,07	4,27	4,85
4. NPK	4,65	4,57	4,73	4,41	4,59
5. Ob.	5,00	5,06	5,31	5,05	5,11
6. Ob. + PK	4,77	4,78	4,90	4,73	4,80
7. Ob. + NK	5,25	5,43	5,23	4,28	5,05
8. Ob. + NK + Mg	4,88	5,14	5,05	4,50	4,89
9. Ob. + NP	5,10	5,10	5,07	4,39	4,92
10. Ob. + NP + Mg	5,35	5,44	5,58	5,19	5,39
11. Ob. + NPK	5,41	5,68	5,42	5,04	5,39
12. Ob. + NPK + Mg	5,54	5,28	5,37	4,72	5,23
13. Ob. + NPK + Ca	6,24	6,23	6,73	6,14	6,34
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	6,38	6,57	6,85	6,28	6,52
średnio	5,06	5,13	5,24	4,72	5,04

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

Tabela 5.17. Aktywność enzymów amylolitycznych (mg rozł. skrobi g⁻¹ 16h⁻¹) w glebie pod pszenicą ozimą (1998) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 4. IV	Termin II 12. V	Termin III 25. VI	Termin IV 15. VIII	średnio
1. 'O'	2,55	2,23	3,62	3,06	2,87
2. Słoma + NPK	2,42	2,12	3,14	2,67	2,59
3. NPK + Ca	2,59	2,09	3,17	2,69	2,64
4. NPK	2,29	2,04	2,92	2,37	2,41
5. Ob.	3,14	2,75	3,19	3,17	3,06
6. Ob. + PK	3,07	2,45	3,26	3,17	2,99
7. Ob. + NK	3,03	2,78	3,31	3,07	3,05
8. Ob. + NK + Mg	3,36	2,96	3,47	3,21	3,25
9. Ob. + NP	2,93	2,79	3,10	2,99	2,95
10. Ob. + NP + Mg	3,37	2,73	3,42	3,48	3,25
11. Ob. + NPK	3,43	2,36	3,57	3,35	3,18
12. Ob. + NPK + Mg	3,85	2,43	3,67	3,57	3,38
13. Ob. + NPK + Ca	4,03	3,03	4,07	3,51	3,66
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	4,27	2,99	4,28	3,68	3,81
średnio	3,17	2,55	3,44	3,14	3,08

cznie NP redukowało tę aktywność silniej, niż stosowanie obornika. Cervelli i in. [1978] stwierdzili, że w wierzchniej warstwie gleby (5-20 cm) różnica pomiędzy aktywnością amylaz w glebie z poletek nawożonych (NPK + Ob.) i nienawożonych nie była statystycz-

nie istotna. Inaczej przedstawiały się wyniki uzyskane w badaniach własnych. Aktywność amylaz w glebie kontrolnej była około 30% niższa, od tej, jaką stwierdzono w próbkach pobranych z poletek z pełnym nawożeniem, gdzie wynosiła ona $5,56 \text{ mg rozł. skrobi g}^{-1}16\text{h}^{-1}$ (tab. 5.14). **Remeiko i in.** [1968] badali wpływ nawozów mineralnych na aktywność amylaz w glebie bielcowej. NPK (N-60, P_2O_5 -60, K_2O -60), obornik (80 t ha^{-1}) i wapno (3 t ha^{-1}) zmieszane z glebą spowodowały, według autorów, wzrost aktywności amylaz, nie tylko w warstwie ornej, ale także i głębszej. **Semenov i in.** [1974] wykazali, że aktywność amylaz była dwukrotnie wyższa w glebach nawożonych: (NPK + Ob.+ wapno) w stosunku do tej, jaką stwierdzili oni w próbkach gleby kontrolnej (NPK + Ob.). W niniejszych badaniach różnica aktywności amylaz w glebie z obiektów: (Ob.+ NPK + Ca) oraz (Ob.+ NPK) była niższa i wynosiła niecałe 20% (tab. 5.14).

Rozpatrując wpływ poszczególnych nawozów mineralnych na aktywność amylaz w badanej glebie płowej z Mochelka wykazano, że zarówno nawożenie azotowe, fosforowe jak i potasowe istotnie wpływało na wzrost aktywności enzymów, w porównaniu do ich aktywności stwierdzonej w próbkach gleby z odpowiednich obiektów kontrolnych np.: (Ob. + NP) oraz (Ob.+ NPK) dla wszystkich lat badań (rys. 7).

Wiele badań nad aktywnością amylaz w glebie poświęcone było wpływowi różnego rodzaju resztek roślinnych na ich działalność [**Perruci i in.** 1984, **Martens i in.** 1992]. Przykładowo w badaniach nad aktywnością enzymatyczną w glebach nawożonych resztkami roślin uprawnych (kukurydza, słonecznik, słoma pszenna, sorgo) **Perruci i in.** [1984] stwierdzili wzrost aktywności amylaz w tych glebach, w porównaniu do ich aktywności stwierdzonej w glebach kontrolnych.

W badaniach własnych w próbkach gleby pobranej z obiektu nawożonego słomą aktywność amylaz była bardzo niska ($3,72 \text{ mg rozł. skrobi g}^{-1}16\text{h}^{-1}$), w porównaniu do aktywności, jaką stwierdzono w próbkach gleb z pozostałych wariantów nawozowych (tab. 5.14). Jest to prawdopodobnie spowodowane tym, że analizowana gleba była pobierana w trzecim, czwartym i piątym roku po zastosowaniu słomy i wpływ ten mógł nie być już widoczny.

Hydroliza białek, pierwszy etap mineralizacji azotu związanego organicznie, zależy między innymi od aktywności enzymów proteolitycznych [**Stryer** 1997]. Analiza wariacji uzyskanych wyników badań własnych aktywności proteaz glebowych wykazała, że rozpatrywane czynniki istotnie wpłynęły na kształtowanie się ich poziomu (tab. 5.14, rys. 8, 9). Najwyższą aktywność omawianej grupy enzymów stwierdzono w próbkach gleby pobranej spod koniczyny czerwonej, gdzie wynosiła ona $109,9 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1}16\text{h}^{-1}$, średnio dla terminów poboru prób glebowych i wariantów nawozowych (tab. 5.14). Związane to

mogło być z wyższą aktywnością mikrobiologiczną tej gleby, o której można wnioskować na podstawie analizy aktywności dehydrogenazowej. Rozkład białek w glebie jest bowiem związany głównie z aktywnością mikroorganizmów, zarówno bakterii, jak i grzybów [Loll i Bollag 1980, Watanabe i Hayano 1994]. Wykazano, że 40% bakterii izolowanych ze strefy rizosferowej pszenicy i jęczmienia może hydrolizować białka, a przy izolacji z rizosfery koniczyny taką zdolność ma tylko 31% bakterii [Loll i Bollag 1980]. W mniejszym stopniu w rozkładzie substancji białkowych w glebie biorą udział proteazy pochodzące z korzeni roślin oraz ich resztek, a także fauny glebowej [Badalucco i in. 1996].

Tabela 5.18. Aktywność proteolityczna ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$) w glebie pod koniczyną czerwoną (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X*	średnio
1. 'O'	72,7	91,3	88,7	182,7	108,9
2. Słoma + NPK	57,7	70,7	74,3	149,0	87,9
3. NPK + Ca	75,0	95,3	97,7	144,3	103,1
4. NPK	72,7	65,3	83,7	135,0	89,2
5. Ob.	79,0	73,3	81,7	129,0	90,8
6. Ob. + PK	73,3	101,0	125,0	139,3	109,7
7. Ob. + NK	67,0	70,3	89,0	121,7	87,0
8. Ob. + NK + Mg	87,3	105,0	126,3	154,0	118,2
9. Ob. + NP	75,3	80,3	98,3	121,0	93,7
10. Ob. + NP + Mg	108,3	95,3	126,3	138,7	117,2
11. Ob. + NPK	76,7	68,7	78,7	96,3	80,1
12. Ob. + NPK + Mg	94,7	100,0	108,3	132,3	108,8
13. Ob. + NPK + Ca	150,7	169,3	165,7	174,7	165,1
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	140,3	162,0	183,3	229,3	178,7
średnio	87,9	96,3	109,1	146,2	109,9

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

W próbkach gleby pochodzącej z pozostałych dwu lat badań własnych aktywność protez była istotnie niższa, od tej jaką stwierdzono w próbkach gleb pobranych spod koniczyny czerwonej. Wynosiła ona $92,4 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ w glebie pochodzącej spod rzepaku jarego oraz $81,5 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ w glebie spod pszenicy ozimej, średnio dla terminów pobrania prób glebowych i obiektów nawozowych (tab. 5.14).

Tabela 5.19. Aktywność proteolityczna ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$) w glebie pod rzepakiem ozimym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X*	średnio
1. 'O'	88,7	71,7	96,7	92,7	87,5
2. Słoma + NPK	81,0	75,3	98,3	104,3	89,7
3. NPK + Ca	86,7	57,0	79,0	100,3	80,8
4. NPK	84,0	46,0	71,7	99,0	75,2
5. Ob.	90,7	61,0	98,3	121,0	92,8
6. Ob. + PK	83,3	75,3	82,3	96,0	84,2
7. Ob. + NK	78,3	50,7	98,7	92,0	79,9
8. Ob. + NK + Mg	82,0	75,7	97,7	102,3	89,4
9. Ob. + NP	73,0	50,0	94,7	74,3	73,0
10. Ob. + NP + Mg	79,0	81,0	84,7	98,0	85,7
11. Ob. + NPK	74,0	70,3	98,0	114,3	89,2
12. Ob. + NPK + Mg	133,0	83,7	94,7	124,7	109,0
13. Ob. + NPK + Ca	155,7	101,0	109,3	160,3	131,6
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	146,7	96,0	128,3	133,3	126,1
średnio	95,4	71,1	95,2	108,0	92,4

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

Zmiany sezonowe aktywności proteaz glebowych były już wcześniej przedmiotem badań [Watanabe i in. 1994, Watanabe i Hayano 1995]. Omawiana w niniejszej pracy aktywność proteolityczna także ulegała istotnym zmianom w okresie wegetacji uprawianych w doświadczeniu roślin (tab. 5.14, 5.18-5.20). Najwyższą aktywność proteaz stwierdzono w materiale glebowym pobranym w ostatnim terminie badań w latach 1996 i 1997. Mogło się to wiązać z wyższą zawartością białek znajdujących się w rozkładających się w tym okresie resztkach poźniwnych, jak podają Loll i Bollag [1980]. Wzrost aktywności proteaz miał tu prawdopodobnie charakter indukcyjny i związany był z rozwojem odpowiednich grup drobnoustrojów odpowiedzialnych za rozkład substancji białkowych. W próbkach gleby pobranej w ostatnim roku badań (1998) najwyższą aktywność proteaz stwierdzono w tych pochodzących z trzeciego terminu ich pobrania (czerwiec). Natomiast w próbkach badanych w drugim i czwartym terminie (maj i sierpień) stwierdzono spadek aktywności proteaz. Mogło to być wynikiem niskiej ilości opadów atmosferycznych, jakie wystąpiły w II dekadzie maja i sierpnia (tab. 4.4). Wilgotność ma bowiem kluczowe znaczenie dla procesów mineralizacji białek, jak zresztą dla wszystkich innych procesów metabolicznych [Kandeler i in. 1999]. Stwierdzono ścisłą zależność pomiędzy stopniem hydrolizy białek, a wilgotnością gleby [Watanabe i Hayano 1994].

Tabela 5.20. Aktywność proteolityczna ($\mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$) w glebie pod pszenicą ozimą (1998) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 4. IV	Termin II 12. V	Termin III 25. VI	Termin IV 15. VIII	średnio
1. 'O'	80,7	50,3	88,7	71,7	72,9
2. Słoma + NPK	72,3	42,0	81,3	79,0	68,7
3. NPK + Ca	83,0	64,0	85,0	80,0	78,0
4. NPK	56,3	47,0	64,7	70,0	59,5
5. Ob.	72,7	63,3	87,3	79,3	75,7
6. Ob. + PK	65,7	43,7	70,3	67,7	61,9
7. Ob. + NK	64,6	59,7	72,3	70,7	66,8
8. Ob. + NK + Mg	80,0	70,3	89,0	82,7	80,5
9. Ob. + NP	69,0	62,7	73,0	70,0	68,7
10. Ob. + NP + Mg	89,0	78,0	98,3	87,3	88,2
11. Ob. + NPK	72,7	63,7	87,0	69,0	73,1
12. Ob. + NPK + Mg	103,3	83,7	128,0	92,0	101,8
13. Ob. + NPK + Ca	128,3	97,7	136,3	112,0	118,6
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	138,3	96,7	146,7	124,7	126,6
średnio	84,0	65,9	93,4	82,6	81,5

Wysoka aktywność proteaz stwierdzona w próbkach gleb pobranych w IV terminie badań 1996 roku (I dekada października), gdzie stwierdzono bardzo niską ilość opadów (4,2 mm), mogła być związana z wysokim poziomem substratów oraz prawdopodobnie z aktywnością proteaz zaadsorbowanych na koloidach glebowych, które są odporniejsze na niekorzystne warunki środowiska.

Wieloletnie nawożenie organiczno-mineralne z dodatkiem magnezu i wapnowaniem (obiekty 13 i 14), we współdziałaniu z innymi czynnikami, wpłynęło na ukształtowanie się najwyższej aktywności proteaz w badanej glebie, w porównaniu z ich aktywnością stwierdzoną w próbkach z pozostałych obiektów nawozowych. Wartości te (średnio dla lat badań oraz terminów poboru prób glebowych) wynosiły odpowiednio: $143,8 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ w próbkach gleby z obiektu nr 14 i $138,4 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ w glebie pobranej z wariantu nawożeniowego nr 13 (tab. 5.14). Nieco niższą i statystycznie nieistotną aktywność badanych enzymów stwierdzono w próbkach gleby z obiektów, gdzie stosowano dodatek magnezu (obiekty nr 8, 10 i 12). Najniższą i mało zróżnicowaną aktywność hydrolaz peptydowych oznaczono w materiale glebowym pochodzącym z następujących obiektów: słoma, NPK, (Ob. + PK), (Ob. + NK), (Ob. + NP) oraz (Ob. + NPK). Średnio w okresie prowadzenia badań wartości te mieściły się w przedziale $85,3\text{--}74,6 \mu\text{g N-NH}_4 \text{ g}^{-1} 16\text{h}^{-1}$ (tab. 5.14).

We wcześniejszych badaniach wykazano pozytywny wpływ siarczanu amonu oraz azotanu potasu na syntezę proteaz glebowych [Cervelli i in. 1978]. **Blagoveshchenskaya i Danchenko** [1974] uzyskali wyższą aktywność proteaz w glebie, w której zastosowano nawozy fosforowe, azotowe i potasowe po zastosowaniu obornika, w porównaniu do tej, jaką stwierdzili w glebie nawożonej wyłącznie nawozami mineralnymi.

Porównując w badaniach własnych aktywność proteaz w glebie z obiektów nawożonych: NPK oraz (Ob.+ NPK) nie stwierdzono istotnego wpływu obornika na ich aktywność (tab. 5.14). Z kolei na podstawie porównania aktywności enzymów proteolitycznych w glebach z obiektów: (Ob. + PK) i (Ob.+ NPK) nie stwierdzono istotnego wpływu nawożenia azotowego w postaci saletry amonowej na omawianą aktywność w próbkach gleby pochodzącej spod rzepaku jarego i pszenicy ozimej. Natomiast w glebie spod konicyzny czerwonej zanotowano istotny spadek aktywności hydrolaz peptydowych pod wpływem nawożenia azotowego (rys. 9). **Fauci i in.** [1994] wykazali, że stosowanie nieorganicznego azotu przez dłuższy czas powodowało obniżkę aktywności proteaz. Natomiast stosowanie takiego nawożenia przez krótki okres miało niewielki wpływ na poziom aktywności omawianego enzymu w glebie. Zawartość N-azotanowego i N-amonowego w glebie może wpływać pozytywnie lub negatywnie na aktywność proteaz [**Ross** 1977.] Autor obserwował spadek tej aktywności przy zastosowaniu wysokich dawek obu form nawożenia azotowego. Ponadto uzyskał on niskie współczynniki korelacji pomiędzy zawartością azotu mineralnego, a aktywnością proteaz w glebie spod pastwiska. Na tej podstawie stwierdził, że aktywność enzymów proteolitycznych nie jest dobrym wskaźnikiem zaopatrzenia roślin w azot. Natomiast **Silva i in.** [1998] wykazali, że aktywność proteaz korelowała dodatnio z zawartością N-NO_3 i N-NH_4 po 45 dniach inkubacji gleby z zastosowaniem żelatyny jako substratu.

Wapnowanie istotnie zwiększyło aktywność proteaz w glebie objętej badaniami własnymi. Szczególnie istotna różnica wystąpiła w materiale glebowym pochodzącym z następujących obiektów nawozowych: (Ob. + NPK) i (Ob. + NPK + Ca) (rys. 8). Podobnie **Gianfreda i Bollag** [1996] w glebie z obiektu: (Ob.+ NPK + Ca) stwierdzili nawet 100% wyższą aktywność proteaz, w porównaniu do tej, jaką oznaczyli w glebie z obiektu: (Ob.+ NPK). Korzystne działanie wapnowania na aktywność wielu enzymów glebowych jest ogólnie znana [Cervelli i in. 1978, Acosta-Martinez i Tabatabai 2000]. Wapń bowiem stabilizuje niektóre enzymy proteolityczne i chroni je przed autolizą [Wharton 1997].

W większości badanych próbek glebowych pochodzących z badań własnych z obiektów z dodatkiem magnezu uzyskano wyższe aktywności proteaz, niż w glebach z

obiektów, na których nie stosowano magnezu (rys. 8). Może to być związane z faktem, że pewne enzymy proteolityczne zaliczane są do metaloproteaz i wymagają do swej działalności odpowiedniego stężenia jonów Mg^{+2} [Loll i Bollag 1980].

W badaniach gleby z doświadczenia z Mochelka, w większości próbek, nie wykazano statystycznie istotnego wpływu nawożenia potasowego i fosforowego na aktywność proteaz (rys. 9).

Aktywność omawianych enzymów stwierdzona w glebie objętej badaniami własnymi była niska w jej próbkach pochodzących z obiektu nawożonego słomą. Średnio dla lat badań aktywność proteaz w glebie z tego obiektu wynosiła $82,1 \mu g N-NH_4 g^{-1} 16h^{-1}$. Wartość ta była niższa od tej, jaką stwierdzono w próbkach gleby pochodzącej z obiektów: (Ob.+ NPK + Ca + Mg) ($143,8 \mu g N-NH_4 g^{-1} 16h^{-1}$), a nawet od tej, jaką uzyskano w próbkach gleby kontrolnej, która wynosiła $89,8 \mu g N-NH_4 g^{-1} 16h^{-1}$ (tab. 5.14). **Kandeler i in.** [1999] natomiast obserwowali, że dodatek do gleby słomy wpływał na wzrost aktywności proteaz w glebie, która nie zawierała wcześniej tego typu materiału organicznego.

5.2.3. Aktywność fosfomonoesteraz glebowych.

Analiza wariancji wyników aktywności obu badanych fosfataz, a zwłaszcza alkalicznej, wykazała, że reagują one silnie na działanie wszystkich rozpatrywanych czynników doświadczalnych (tab. 5.21, rys. 10-13). Aktywność zarówno fosfatazy kwaśnej, jak i alkalicznej w warstwie ornej była najwyższa w próbkach gleby pobranej w II roku badań (1997). Średnio dla terminów pobrania próbek i wariantów nawozowych w tym roku badań, aktywność fosfatazy alkalicznej (F_{al}) wynosiła $79,1 \mu g pNP g^{-1} h^{-1}$, a kwaśnej (F_{kw}) $187,7 \mu g pNP g^{-1} h^{-1}$ (tab. 5.21). Zwykle fosfataza kwaśna dominuje w glebach kwaśnych, podczas gdy forma zasadowa w glebach o pH obojętnym lub zasadowym [**Juma i Tabatabai** 1977]. W glebie pobranej w pozostałych latach badań własnych aktywność obu fosfataz była zdecydowanie niższa, nawet o 60-65%, w porównaniu do tej, jaką stwierdzono w próbkach spod koniczyny czerwonej (tab. 5.21). Niska aktywność obu fosfataz w glebie spod koniczyny czerwonej mogła być związana z faktem intensywniejszego pobierania fosforu przez tę roślinę ze słabo rozpuszczalnych związków nieorganicznych. Pewne rośliny wydzielające większe ilości CO_2 przez korzenie oraz rośliny, w ryzosferze których występuje liczna mikroflora wydzielająca CO_2 mogą wykorzystywać fosfor z trudniej przyswajalnych nieorganicznych jego połączeń. Do takich roślin należą m.in. motylkowate [**Lityński i Jurkowska** 1982]. Wykazano, że często aktywność fosfatazowa jest odwrotnie

Tabela 5.21. Aktywność enzymów hydrolitycznych gleby w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego, lat i terminów pobrania próbek

Czynniki	Enzymy hydrolityczne				
	Fosfataza alkaliczna μg pNP g ⁻¹ h ⁻¹		Fosfataza kwaśna μg pNP g ⁻¹ h ⁻¹		
I - Lata badań					
1996	27,9		63,4		
1997	79,1		187,7		
1998	32,4		-		
II - Terminy pobrania próbek					
I	47,2		141,8		
II	42,4		123,7		
III	54,2		127,0		
IV	42,0		109,7		
III - Obiekty nawozowe					
1. 'O'	44,5		99,3		
2. Słoma + NPK	39,2		114,1		
3. NPK + Ca	41,0		122,1		
4. NPK	35,7		110,2		
5. Ob.	41,2		119,4		
6. Ob. + PK	37,2		110,1		
7. Ob. + NK	39,7		132,4		
8. Ob. + NK + Mg	50,6		140,0		
9. Ob. + NP	42,0		137,3		
10. Ob. + NP + Mg	50,9		128,5		
11. Ob. + NPK	40,9		128,5		
12. Ob. + NPK + Mg	51,6		123,2		
13. Ob. + NPK + Ca	63,1		148,5		
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	73,2		142,7		
średnio	46,5		125,5		
NIR _{0,05} dla:					
I czynnika		2,33	5,70		
II czynnika		0,86	9,51		
III czynnika		2,88	12,90		
NIR _{0,05} dla interakcji:					
I x II	II x I	1,49	2,27	13,44	8,96
I x III	III x I	4,99	3,74	18,24	10,59
II x III	III x II	5,76	4,32	25,79	20,73

proporcjonalna do zawartości fosforu przyswajalnego dla roślin [Tadano i Sakai 1991]. Jest to zgodne z wynikami uzyskanymi w badaniach własnych, w których w glebie spod konicznej czerwonej wystąpiła najwyższa z uzyskanych w całym okresie badań zawartość $P_{\text{E-R}}$ przy jednocześnie niskiej aktywności fosfatazowej (tab. 5.21, rys. 1).

Jony fosforanowe, będące produktem reakcji hydrolizy prowadzonej przez fosfatazy, są kompetycyjnym inhibitorem tego enzymu [Ferens i Morawiecka 1984]. Wykazano także, że rośliny motylkowate mają zdolność wydzielania fosforu do gleby, który może hamować aktywność fosfatazową w ryzosferze tych roślin. Nie zanotowano natomiast takiego zjawia-

ska u roślin zbożowych [Sytnik i in. 1977]. Wysoka aktywność fosfataz w glebie spod rzepaku jarego mogła być związana z wyższą zawartością jego form organicznych w resztkach poźniwnych pozostawionych po koniczynie. Wyższe stężenie substratu oraz mniejsze pobieranie przez rzepak fosforu z trudniej rozpuszczalnych nieorganicznych źródeł mogło stymulować rozwój poszczególnych grup mikroflory oraz syntezę fosfatazy kwaśnej przez rośliny rzepaku.

Tabela 5.22. Aktywność fosfatazy alkalicznej ($\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$) w glebie pod koniczyną czerwoną (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X*	średnio
1. 'O'	19,5	21,2	31,1	22,7	23,6
2. Słoma + NPK	17,5	22,2	21,8	17,5	19,8
3. NPK + Ca	18,3	19,2	27,0	21,8	21,6
4. NPK	13,9	20,9	23,2	16,7	18,7
5. Ob.	21,2	25,4	22,5	21,8	22,7
6. Ob. + PK	20,1	21,6	22,4	17,0	20,3
7. Ob. + NK	27,4	25,7	25,7	21,3	25,0
8. Ob. + NK + Mg	39,3	35,8	31,7	26,3	33,3
9. Ob. + NP	30,5	32,3	28,6	23,1	28,6
10. Ob. + NP + Mg	38,9	42,5	31,6	28,2	35,3
11. Ob. + NPK	29,6	29,3	23,2	20,1	25,6
12. Ob. + NPK + Mg	36,3	35,3	28,8	25,4	31,5
13. Ob. + NPK + Ca	40,3	44,1	42,5	34,9	40,5
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	44,4	46,7	47,2	39,7	44,5
średnio	28,4	30,2	29,1	24,0	27,9

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

Zmiany sezonowe aktywności enzymatycznej zależą od wielu czynników, np. typu gleby, jej warunków wodno-powietrznych, pokrywy roślinnej czy poziomu biomasy mikroorganizmów [Speir i Ross 1978]. W badaniach własnych nie stwierdzono istotnego zróżnicowania aktywności fosfatazy alkalicznej w próbkach gleby pobranych w trzech pierwszych terminach 1996 roku, natomiast w próbkach gleby pochodzącej z ostatniego terminu aktywność jej była istotnie niższa (tab. 5.22). Odmiennie natomiast kształtowała się aktywność tego enzymu w próbkach gleby pobranych w pozostałych dwu latach badań. Wówczas najwyższą jej wartość stwierdzono w materiale glebowym pobranym w III terminie, niższą aktywność zaobserwowano w glebie pochodzącej z I terminu. Natomiast najniższe i mało zróżnicowane wartości aktywności uzyskano w próbkach gleby z II i IV terminu. (tab. 5.23, 5.24). Stwierdzone zmiany sezonowe aktywności F_{al} były podobne do tych, jakie stwierdzono dla aktywności dehydrogenaz. Może to sugerować, że występująca w badanej glebie F_{al} była w całości pochodzenia mikrobiologicznego.

Tabela 5.23. Aktywność fosfatazy alkalicznej ($\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$) w glebie pod rzepakiem jarym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X*	średnio
1. 'O'	72,0	70,4	107,1	58,0	76,9
2. Słoma + NPK	61,0	66,4	93,9	50,5	68,0
3. NPK + Ca	66,5	61,6	76,5	55,2	65,0
4. NPK	61,3	60,7	68,3	52,4	60,7
5. Ob.	75,4	73,1	72,3	61,5	70,6
6. Ob. + PK	62,3	65,1	67,7	57,7	63,2
7. Ob. + NK	74,8	62,3	70,0	61,2	67,1
8. Ob. + NK + Mg	85,2	67,4	105,2	58,5	79,1
9. Ob. + NP	75,3	67,6	70,9	61,2	68,8
10. Ob. + NP + Mg	88,2	72,1	108,3	67,0	83,9
11. Ob. + NPK	68,5	60,0	79,7	67,1	68,8
12. Ob. + NPK + Mg	88,7	78,0	103,0	94,2	91,0
13. Ob. + NPK + Ca	110,8	96,6	120,7	98,9	106,8
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	122,2	100,2	165,3	137,0	131,2
średnio	79,4	71,5	93,5	70,0	78,6

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

Tabela 5.24. Aktywność fosfatazy alkalicznej ($\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$) w glebie pod pszenicą ozimą (1998) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 4. IV	Termin II 12. V	Termin III 25. VI	Termin IV 15. VIII	średnio
1. 'O'	38,0	27,8	37,3	29,9	33,3
2. Słoma + NPK	34,9	25,4	32,8	26,6	29,9
3. NPK + Ca	40,2	31,5	44,6	28,7	36,3
4. NPK	28,6	24,1	30,5	27,2	27,6
5. Ob.	31,0	26,4	35,5	28,8	30,4
6. Ob. + PK	29,9	21,1	33,7	27,1	28,0
7. Ob. + NK	26,7	21,6	35,3	24,1	26,9
8. Ob. + NK + Mg	31,4	23,3	44,9	30,6	32,6
9. Ob. + NP	31,1	20,9	34,7	28,1	28,7
10. Ob. + NP + Mg	33,6	23,4	47,3	29,5	33,5
11. Ob. + NPK	30,7	20,3	34,7	27,2	28,2
12. Ob. + NPK + Mg	33,2	22,6	41,0	32,1	32,2
13. Ob. + NPK + Ca	41,9	35,7	53,4	37,5	42,1
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	42,4	34,8	56,0	42,1	43,8
średnio	33,8	25,6	40,1	30,0	32,4

W badaniach własnych odmiennie natomiast kształtowała się aktywność kwaśnej fosfatazy glebowej (F_{kw}) (tab. 5.21, 5.25, 5.26). W glebach pochodzących z pierwszego roku badań (1996), szczególnie w próbkach z I i II terminu ich pobrania, jej aktywność

była najwyższa i jednocześnie mało zróżnicowana. W próbkach pobranych w III i IV terminie 1996 roku nastąpił spadek aktywności oznaczonej F_{kw} (tab. 5.25). W materiale glebowym pobranych w 1997 roku istotnie najwyższą aktywność omawianego enzymu stwierdzono w próbkach z I terminu, a najniższą w próbkach gleby pochodzącej z II i IV terminu ich pobrania (tab. 5.26). Fosfatazy są enzymami indukcyjnymi i intensywność ich wydzielania przez rośliny i mikroorganizmy jest uzależniona od ich zapotrzebowania na fosfor [Dormaar i in. 1984, Speir i Cowling 1991]. Wykazano, że korzenie młodych, intensywnie rozwijających się roślin charakteryzują się wysoką aktywnością F_{kw} [Joner i Jakobsen 1995], co może w pewnym stopniu tłumaczyć fakt wysokiej jej aktywności stwierdzonej w próbkach gleby pobranej w pierwszych terminach obu lat prowadzonych badań (tab. 5.21, 5.25, 5.26). Wcześniej także stwierdzono, że aktywność fosfatazowa była najwyższa w próbkach gleb pobranych wiosną [Koper i Piotrowska 1996, Gianfreda i Bollag 1996]. Często obserwowano wzrost jej aktywności w glebie badanej wiosną i latem oraz spadek w próbkach analizowanych jesienią [Nagaraja i in. 1998]. Stefanic [1977] w czarnoziemie nawadnianym i bez nawadniania pod pszenicą ozimą wykazał, że aktywność fosfatazowa mierzona w tej glebie co miesiąc była najwyższa w próbkach pobranych w maju, a w następnych okresach wegetacji pszenicy aktywność ta się obniżała.

Analizując dane zawarte w tabelach 5.21-5.26 zauważyć można, że aktywność obu fosfataz, podobnie jak i innych badanych enzymów, najwyższa była w próbkach gleby pochodzącej z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym z dodatkiem magnezu i wapnowaniem (obiekt 13 i 14). Dla fosfatazy alkalicznej wartości te wynosiły odpowiednio 63,1 i 73,2 $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{h}^{-1}$, a dla fosfatazy kwaśnej 148,5 i 142,7 $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{h}^{-1}$ (tab. 5.21). Dość wysoką aktywność F_{al} stwierdzono także w próbkach gleby z obiektów, na których stosowano dodatek magnezu (warianty nawozowe 8, 10 i 12). Wynosiła ona (tab. 5.21) średnio dla lat badań i terminów poboru prób 51,0 $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{h}^{-1}$. Gleba nawazona przez wiele lat samym NPK oraz (Ob.+ PK) wykazywała najniższą aktywność F_{al} , w porównaniu do aktywności stwierdzonych w glebie z pozostałych analizowanych obiektów. W glebach z tych obiektów oraz w warunkach kontrolnych stwierdzono także najniższą aktywność F_{kw} (tab. 5.21). W badaniach własnych wykazano także, że nawożenie potasowe i fosforowe nie miało statystycznie istotnego wpływu na aktywność F_{al} w większości próbek gleb z porównywalnych obiektów, np.: (Ob.+ NP) i (Ob.+ NPK) oraz (Ob.+ NK) i (Ob.+ NPK), we wszystkich latach badań (rys. 11). Podobnie wcześniej Goian i Goian [1977] stosując niskie dawki superfosfatu (16 kg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{ha}$) nie stwierdzili zmian

Tabela 5.25. Aktywność fosfatazy kwaśnej ($\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$) w glebie pod koniczyną czerwona (1996) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 15. IV	Termin II 23. V	Termin III 15. VII	Termin IV 3. X*	średnio
1. 'O'	59,7	42,7	52,3	30,3	46,3
2. Słoma + NPK	54,7	61,7	53,3	44,0	53,4
3. NPK + Ca	64,3	61,3	64,7	47,0	59,3
4. NPK	60,0	43,0	53,0	43,0	50,0
5. Ob.	67,7	64,7	54,3	49,7	59,1
6. Ob. + PK	51,3	67,0	55,0	43,7	54,3
7. Ob. + NK	76,7	75,7	61,0	58,0	67,9
8. Ob. + NK + Mg	71,0	68,7	62,0	75,7	69,4
9. Ob. + NP	99,0	80,0	63,0	59,0	75,3
10. Ob. + NP + Mg	98,3	86,0	65,7	62,3	78,1
11. Ob. + NPK	74,3	82,3	62,3	50,7	67,4
12. Ob. + NPK + Mg	80,7	83,3	50,0	37,3	62,8
13. Ob. + NPK + Ca	99,7	74,7	65,0	60,7	75,0
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	82,7	76,0	58,7	52,0	67,4
średnio	74,3	69,1	58,6	51,0	63,3

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod rzepaku ozimego

aktywności F_{al} , ale wraz ze wzrostem dawek tego nawozu do $96 \text{ kg P}_2\text{O}_5 \text{ ha}^{-1}$ następował stopniowy jej spadek. Natomiast nawożenie fosforowe w wyższych dawkach stosowane łącznie z nawożeniem azotowym działało stymulująco na aktywność omawianego enzymu. Ci sami autorzy [Goian i Goian 1977] stwierdzili spadek aktywności F_{al} pod wpływem nawożenia potasowego stosowanego w dawkach $60\text{-}80 \text{ kg ha}^{-1}$ w glebie bielkowej. Nawożenie gleby superfosfatem w badaniach własnych także nie wykazywało istotnego zróżnicowania aktywności F_{kw} w większości badanych próbek gleby. Natomiast nawożenie potasowe ($120\text{-}160 \text{ kg K}_2\text{O ha}^{-1}$) powodowało niewielki jej spadek w glebach z obu lat badań (1996-1997) (rys. 13). Nawożenie azotowe z reguły stymuluje aktywność obu izoenzymów fosfatazy glebowej [Gianfreda i Bollag 1996, Dick i Tabatabai 1999, Colvan i in. 2001]. Potwierdzają to wyniki badań własnych aktywności F_{al} i F_{kw} , w których była ona wyższa w glebie z obiektu nawożonego azotem: (Ob.+ NPK), w porównaniu do jej aktywności stwierdzonej w glebie z obiektu nawożonego: (Ob.+ PK) w pierwszych dwu latach prowadzonych badań (rys. 11, 13, tab. 5.22, 5.23, 5.25, 5.26). Nie wykazano natomiast istotnego wpływu NH_4NO_3 na aktywność fosfatazy alkalicznej mierzonej w glebie pobranej spod pszenicy ozimej z tych samych obiektów (rys. 11).

Tabela 5.26. Aktywność fosfatazy kwaśnej ($\mu\text{g pNP g}^{-1} \text{h}^{-1}$) w glebie pod rzepakiem jarym (1997) w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego i terminu pobrania próbek

Obiekty nawozowe	Termin I 8. V	Termin II 10. VI	Termin III 31. VII	Termin IV 12. X*	średnio
1. 'O'	173,0	159,3	143,0	134,0	152,3
2. Słoma + NPK	171,7	161,7	195,0	170,7	174,8
3. NPK + Ca	193,3	185,7	183,0	177,0	184,8
4. NPK	172,3	182,0	171,0	156,3	170,4
5. Ob.	205,3	174,3	180,0	158,3	179,5
6. Ob. + PK	194,0	156,3	178,7	134,0	165,8
7. Ob. + NK	249,7	180,0	171,7	178,3	194,9
8. Ob. + NK + Mg	258,3	208,7	195,7	183,0	211,4
9. Ob. + NP	206,3	223,3	187,7	171,7	197,3
10. Ob. + NP + Mg	203,0	170,0	181,7	160,3	178,8
11. Ob. + NPK	212,0	186,7	192,3	167,3	189,6
12. Ob. + NPK + Mg	202,3	136,7	234,0	131,3	183,6
13. Ob. + NPK + Ca	257,0	153,3	262,3	215,3	222,0
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	224,0	199,0	258,7	190,0	217,9
średnio	208,7	176,9	195,3	168,4	187,4

*- w terminie IV próby glebowe pobierano spod pszenicy ozimej

Kucharski [1997] wykazał, że nawożenie azotem w dawkach wzrastających do 240 kg N ha^{-1} systematycznie obniżało aktywność glebowej fosfatazy alkalicznej, podczas gdy aktywność fosfatazy kwaśnej wzrastała w glebie nawożonej dawkami do 120 kg N ha^{-1} . Okazało się, że dopiero dawka 240 kg N ha^{-1} działała na enzym hamująco. Nawożenie samym NPK w badaniach prowadzonych przez **Kucharskiego** [1997] powodowało wzrost aktywności F_{kw} o 25%, ale przyczyniało się do spadku aktywności F_{al} o około 20%, w stosunku do aktywności tych enzymów jaką stwierdzono w próbkach gleby kontrolnej. Podobne tendencje zmian aktywności fosfataz wystąpiły w badaniach własnych. Aktywność F_{al} była w glebie nawożonej samym NPK o około 20% niższa od tej, jaką stwierdzono w próbkach gleby kontrolnej. Natomiast aktywność F_{kw} była w przybliżeniu 10% wyższa w glebie z obiektu nawożonego NPK, niż w glebie obiektu kontrolnego (tab.5.21). Analizując dane zamieszczone na rysunku 10 i w tabelach 5.22-5.24 stwierdzono, że dodatek magnezu do gleby wpływał na wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej w próbkach pobranych we wszystkich latach badań, w porównaniu do tej aktywności, jaką oznaczono w glebie z odpowiednich obiektów kontrolnych. Jedynie działanie magnezu w glebie z obiektu nawożonego: (Ob.+ NPK + Ca + Mg) pod pszenica ozimą nie wykazywało statystycznie istotnego wpływu na aktywność enzymu. Sekrecja białka fosfatazy roślin jest stymulowana przez kationy Ca^{+2} i Mg^{+2} . W tkankach w których poziom fosforu spada poniżej określonego poziomu następuje gwałtowny wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w

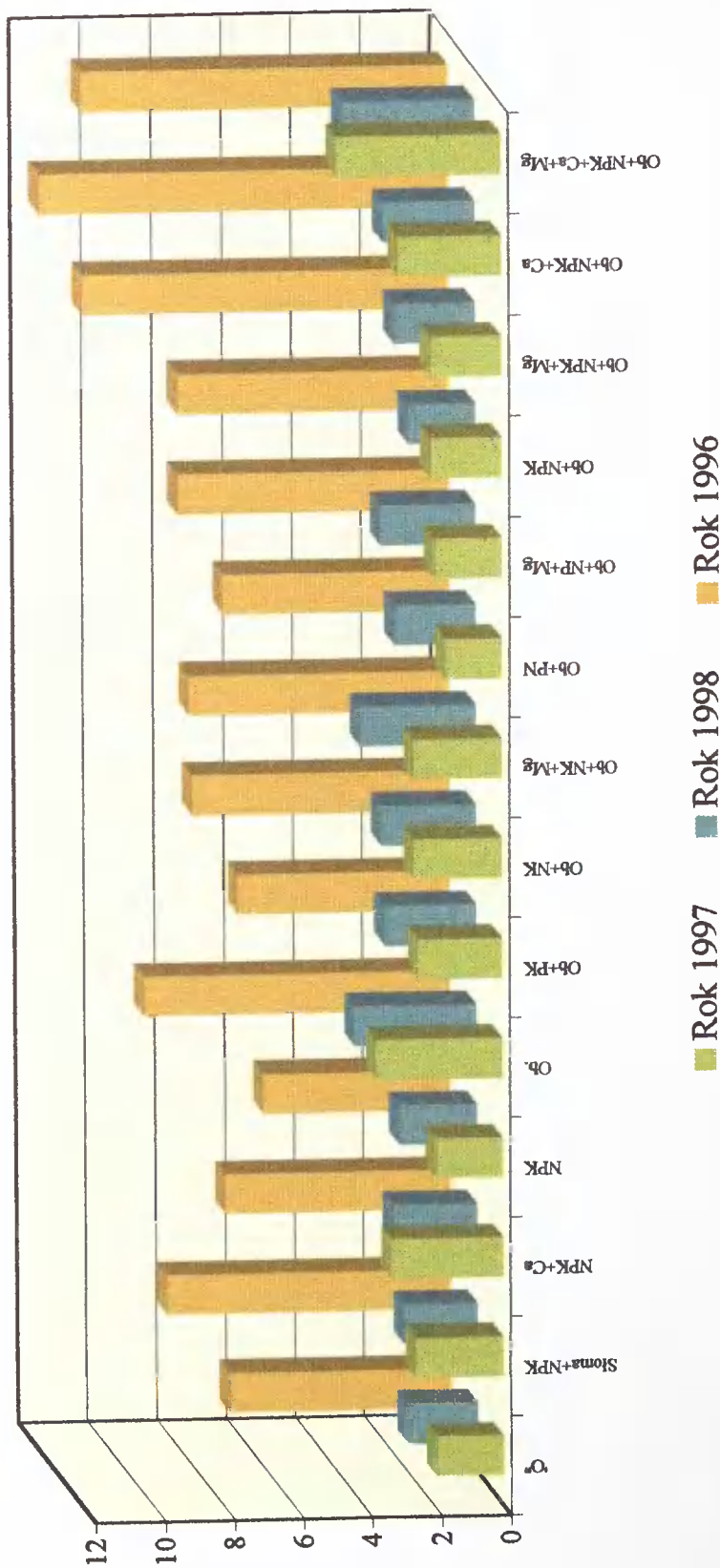
ścianie komórkowej i plazmalemie [Ferens i Morawiecka 1984]. W niektórych badaniach wykazano jednak, że niekiedy wapnowanie gleby zmniejsza jej aktywność fosfatazową [Gianfreda i Bollag 1996]. Często im większy był dodatek wapna do gleby, tym stwierdzono większą obniżkę tej aktywności [Trasar-Cepeda i Carballas 1991]. Wpływ wapna na aktywność fosfatazową gleby jest zatem bardzo złożony. Z jednej strony związany jest on ze zmianami odczynu gleby, od którego zależy kierunek rozwoju poszczególnych grup mikroorganizmów glebowych. Wykazano jednak, że niewapnowana gleba, którą inkubowano w buforze o pH 8,0 wykazywała wyższą aktywność fosfatazową, niż ta sama gleba wapnowana przed inkubacją w tym buforze. Wynika z tego, że zmiany odczynu gleby tylko w pewnym stopniu przyczyniają się do inhibującego wpływu wapnowania na aktywność omawianego enzymu. Z drugiej strony wapnowanie zwiększa zawartość fosforu nieorganicznego, który może hamować tę aktywność [Speir i Ross 1978]. Jest to typowa inhibicja przez nadmiar substratu. Zastosowanie $\text{Ca}(\text{OH})_2$ i MgO w nawożeniu gleby obniżało jej aktywność fosfatazową, podczas gdy dodatek chlorku i siarczanu Ca i Mg nie wykazywały istotnego wpływu na tę aktywność [Cerveli in. 1978]. W badaniach gleby płowej z Mochelka wapnowanie gleby wpłynęło na wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej. Taką tendencję można wyraźnie wykazać porównując jej aktywność w próbkach gleby z obiektów : (NPK + Ca) i (NPK) oraz (Ob. + NPK) i (Ob. + NPK + Ca) (rys. 10). Podobną tendencję wzrostową aktywności F_{al} w glebie pochodzącej z obiektów z jej wapnowaniem wykazano we wcześniejszych badaniach [Acosta-Martinez i Tabatabai 2000].

Jak wynika z danych literaturowych [Kucharski 1997, Colvan i in. 2001] obornik zwykle wpływał stymulująco na aktywność zarówno fosfatazy alkalicznej, jak i kwaśnej. Spowodowane to jest prawdopodobnie podwyższeniem aktywności biologicznej gleby i stabilizację zewnątrzkomórkowych enzymów przez związanie ich ze substancją humusową [Nannipieri i in. 1996, Kandeler i in. 1999]. W niektórych badaniach [Goian i Goian 1977, Kucharski 1997] aktywność fosfataz była wyższa w glebach nawożonych wyłącznie samym obornikiem, w porównaniu do ich aktywności w glebach nawożonych pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym. Inną tendencję uzyskano w glebie objętej badaniami własnymi. W próbkach gleby nawożonej obornikiem aktywność obu fosfataz była zwykle stosunkowo niska. Wartość aktywności F_{kw} stanowiła tam 80%, a aktywność F_{al} około 60% tych wartości, jakie stwierdzono dla aktywności tych enzymów w próbkach gleby z obiektu nawożonego: (Ob.+ NPK + Ca + Mg) (tab. 5.21). Wynika z tego, że najlepsze warunki dla działalności fosfataz, czyli mineralizacji fosforu organicznego występują w badanej glebie pod wpływem łącznego nawożenia organiczno-mineralnego.

5.3. Biochemiczne wskaźniki żyzności gleby

Dla porównania wpływu zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego na aktywność biologiczną gleby w długotrwałych doświadczeniach nawozowych, oprócz wskaźników agrotechnicznych, przydatne mogą być różne syntetyczne wskaźniki, wyrażające związek pomiędzy tą aktywnością a żyznością gleby. **Myśków i in.** [1996] preferują, w formułowaniu takich wskaźników, wykorzystanie aktywności enzymatycznej uważając, że w przeciwieństwie do określania liczebności wybranych grup drobnoustrojów w glebach, oznaczanie aktywności enzymów jest wygodniejsze. Jest ono również łatwiejsze do przeprowadzania seryjnych analiz gleb.

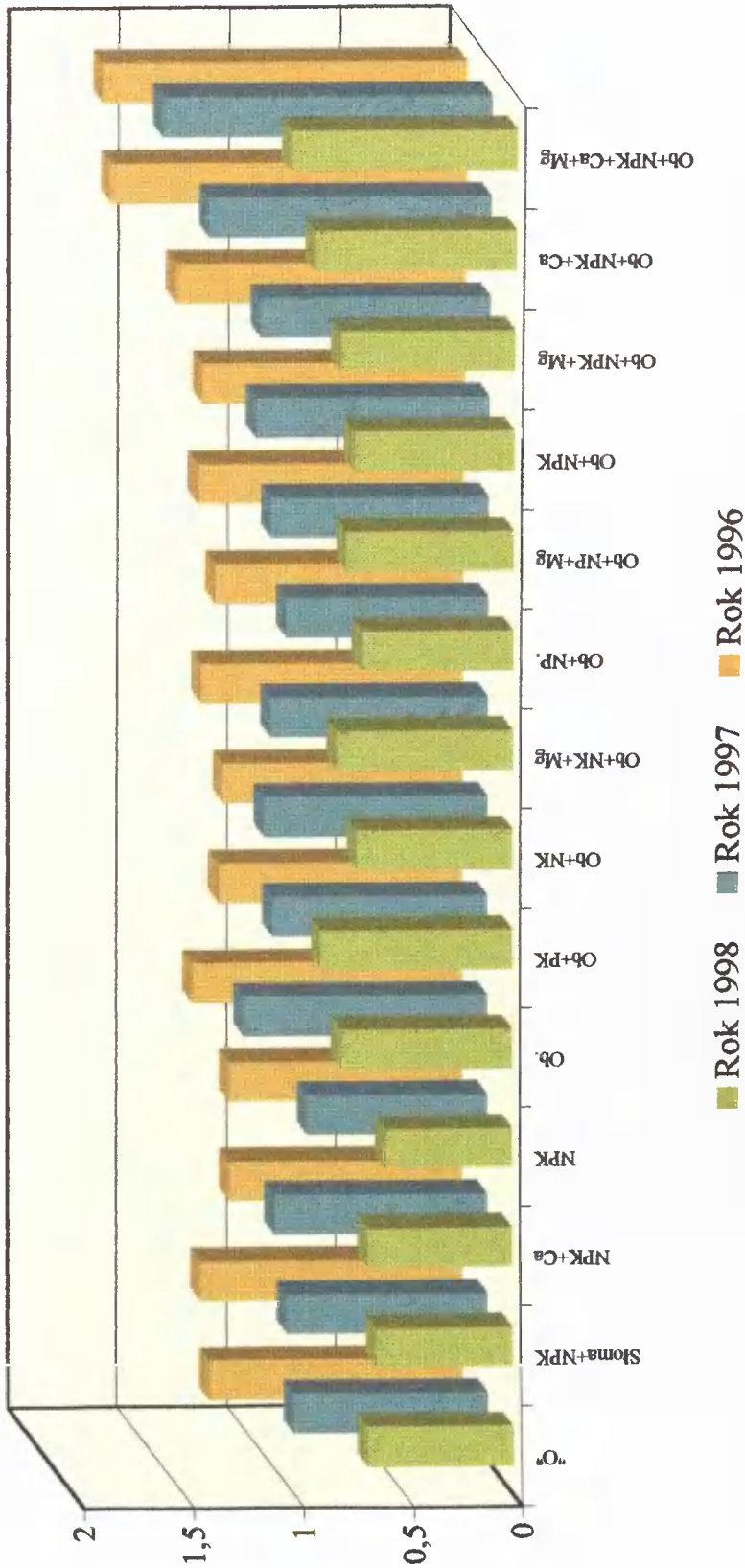
Na podstawie uzyskanych wyników aktywności dehydrogenaz i katalazy obliczono Biologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (BIF), którego wartości przedstawiono na rysunku 14. Najwyższą wartość wskaźnika BIF, wyliczonego na podstawie aktywności obu enzymów, stwierdzono w próbkach gleby pobranej spod koniczyny czerwonej. Wynosiła ona 8,0 - średnio dla gleby ze wszystkich czternastu wariantów nawozowych. Natomiast gleba pochodząca spod pozostałych dwu roślin charakteryzowała się niższą wartością omawianego wskaźnika. Wynosiła ona 2,5 dla próbek gleby spod rzepaku jarego oraz 2,6 dla próbek pobranych spod pszenicy ozimej. Zróżnicowane nawożenie organiczno-mineralne w dużym stopniu wpłynęło na zmiany wartości omawianego wskaźnika. Rozpatrując wartość BIF obliczonego dla próbek gleby z poszczególnych obiektów, na których uprawiano koniczynę czerwoną stwierdzono, że najwyższą żyznością cechowała się gleba z obiektu nawożonego: (Ob.+ NPK + Ca), ponieważ osiągnął on tam wartość 11,7. Natomiast dla gleby pobranej z obiektu: (Ob. + NPK + Ca + Mg) oraz (Ob.+ NPK + Mg) wskaźnik BIF był nieco niższy i wynosił 10,5. Nawożenie obornikiem przyczyniło się do wzrostu wartości wskaźnika BIF obliczonego dla próbek gleby pobranej z obiektu nawozowego nr 5. W glebie pobranej spod rzepaku jarego i pszenicy ozimej jego wartość wynosiła odpowiednio 3,5 i 3,6. Była zatem niższa tylko od tej, jaką wyliczono z wykorzystaniem aktywności oksydoreduktaz w glebie nawożonej: (Ob.+ NPK + Ca + Mg). Dla gleby z tego obiektu nawozowego spod uprawy rzepaku jarego wartość BIF wynosiła 4,7, podczas gdy dla gleby pobranej spod pszenicy ozimej jego wartość zmalała do 3,8. **Stefanic i in.** [1984] badali kształtowanie się sformułowanego przez siebie wskaźnika BIF w różnych typach gleb nawożonych mineralnie (NPK), wapnowanych i nawadnianych w wieloletnim doświadczeniu. Uzyskane przez autorów wartości omawianego wskaźnika mieściły się w zakresie od 0,95 - dla nie nawożonej gleby biellicowej o pH 4,6 - do 17,9 dla czarnoziemiu kasztanowego o pH 8,0.



Rys. 14. Wartości wskaźnika BIF badanej gleby w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Wartości BIF wyliczone przez cytowanych autorów dla gleb bielcowych kształtowały się w zakresie od 0,95 do 6,80. Natomiast w badaniach własnych wskaźnik ten dla badanej gleby płowej poddawanej wieloletniemu, zróżnicowanemu nawożeniu mieścił się w zakresie od 1,9 do 11,7. Wielkości wskaźnika BIF obliczonego przez **Stefanica i in.** [1984] były zwykle 4 lub nawet 5-krotnie wyższe dla gleb bielcowych nawożonych NPK i wapnowanych, niż dla gleb kontrolnych. W badaniach własnych wartości wskaźnika BIF kształtowały się na podobnym poziomie zarówno dla gleby kontrolnej (6,4), jak i nawożonej (NPK + Ca) (6,5) dla próbek pobranych spod koniczyny czerwonej. Dla gleby pobranej spod rzepaku jarego wskaźnik ten był wyższy o ok. 40% dla gleby pobranej z obiektu: (NPK + Ca), w porównaniu z jego wartością wyliczoną dla gleby kontrolnej. W zależności od roku badań najniższe wartości wskaźnika BIF uzyskiwano dla gleby z różnych obiektów nawozowych. Przykładowo pod uprawą koniczyny czerwonej najmniej żyzną glebą okazała się ta pobrana z obiektu, gdzie stosowano wyłącznie nawożenie NPK (obiekt 4). W drugim roku badań najniższą żyznością cechowała się gleba z wariantu (Ob.+ NP), a pod pszenicą ozimą najniższą wartość BIF stwierdzono w glebie pobranej z obiektu (Ob.+ NPK).

Do oceny stanu żyzności badanej gleby posłużono się również Enzymatycznym Wskaźnikiem Żyzności Gleby (EAN) (rys. 15). Jego wartości różniły się w zależności od roku pobrania próbek glebowych, jak i od zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego stosowanego przez 48-50 lat trwania doświadczenia. Najwyższą wartość wskaźnika EAN, podobnie jak wskaźnika BIF, wyliczono dla aktywności enzymów oznaczonych w próbkach gleby pobranej spod koniczyny czerwonej (1996). Wynosiła ona 1,24 - średnio dla próbek gleby z wszystkich obiektów nawozowych - i była o 16% wyższa od tej, jaką stwierdzono w glebie pobranej spod rzepaku jarego, wyliczonej również średnio dla wszystkich obiektów nawozowych. Najwyższą żyznością, zgodnie z obliczonym wskaźnikiem, cechowała się gleba pobrana z obiektu nawozowego: (Ob.+ NPK + Mg + Ca), w całym okresie prowadzenia badań. Dla próbek gleby z tego obiektu pobranych spod koniczyny czerwonej wartość ta wynosiła 1,65, spod rzepaku jarego 1,5, a spod pszenicy ozimej 1,0. Nieco niższe wartości wskaźnika EAN uzyskano dla aktywności enzymatycznej oznaczonej w próbkach gleby pobranych z poletek nawożonych pełnym nawożeniem z wapnowaniem (obiekt 13). Analizując dane przedstawione na rysunku 15 zauważyć można dodatni wpływ nawożenia obornikiem (obiekt 5) na wartość wskaźnika EAN, zwłaszcza w glebie pobranej spod rzepaku jarego (1,1). Była ona niższa jedynie od wartości, jaką wyliczono dla gleby spod tej rośliny pobranej z obiektu z pełnym nawożeniem



Rys. 15. Wartości wskaźnika EAN badanej gleby w zależności od zróżnicowanego jej nawożenia organiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

i wapnowaniem (obiekt 13) oraz dla próbek z obiektu z pełnym nawożeniem przy uwzględnieniu Mg i wapnowania (wariant 14). Według obliczonego wskaźnika EAN najniższą żyznością charakteryzowały się próbki gleby nawożonej samym NPK (obiekt 4), które były pobrane spod wszystkich trzech rozpatrywanych roślin. Niskie wartości wskaźnika EAN wyliczono także dla gleby nawożonej: (NPK + Ca), (Ob.+ NK) oraz (Ob.+ PK) pobranej pod koniczyny czerwonej. Rozpatrując natomiast kształtowanie się tego wskaźnika dla gleby spod rzepaku jarego stwierdzono, że najniższą żyznością cechowała się także gleba kontrolna (obiekt 1) oraz nawożona słomą (wariant 2), a także (Ob.+ NP). Gleba kontrolna, nawożona słomą oraz (NPK + Ca) pobrana spod pszenicy ozimej cechowała się najniższą żyznością określoną na podstawie obliczonego wskaźnika EAN, który kształtował się tu w granicach 0,6–0,7 (rys. 15).

W nielicznej literaturze, zajmującej się kształtowaniem się wskaźnika EAN, brak jest danych dotyczących jego wartości dla gleb ze zróżnicowanym nawożeniem organiczno-mineralnym oraz zmianowaniem roślin. Jedynie w pracy **Becka** [1984] można znaleźć dane odnośnie wartości tego wskaźnika obliczonego dla różnych typów gleb. Według autora wskaźnik ten mieścił się w zakresie 1-4, dla gleb ornych oraz pomiędzy 2-8, dla gleb łąkowych i leśnych.

Wyliczone w badaniach własnych wartości wskaźnika EAN nie mogą być dyskutowane z danymi przedstawionymi przez **Becka** [1984], ponieważ formuła wskaźnika została w niniejszych badaniach zmodyfikowana ze względu na kilkukrotnie wyższą aktywność fosfatazy alkalicznej, jaka wystąpiła w próbkach glebowych pobranych w drugim roku prowadzenia badań, w porównaniu z jej aktywnością stwierdzoną w glebie pobranej w pozostałych latach. Wykorzystanie wzoru przedstawionego przez autora prowadziło do błędnego podwyższenia wartości omawianego wskaźnika, spowodowanego wpływem jednej cechy (fosfataza alkaliczna). Dlatego też wskaźnik ten zmodyfikowano zmieniając wyrażenie przedstawiające aktywność fosfatazy: $(\mu\text{g pNP}/40) \text{ g}^{-1}$ gleby na mg pNP g^{-1} gleby, a więc na jednostkę w jakiej przedstawiono inne aktywności enzymatyczne gleby. Pozwoliło to na zbliżenie wartości aktywności fosfatazy do zakresu aktywności pozostałych enzymów zawartych w formule wskaźnika.

Na podstawie aktywności dehydrogenaz glebowych wyrażonych jako ilość $\text{mm}^3 \text{H}_2/100 \text{ g}^{-1}$ gleby 24h^{-1} oraz zawartości C_{org} [%] obliczono tzw. Mikrobiologiczny Wskaźnik Żyzności (M), wg wzoru przedstawionego przez **Myśkowa** [1981]. Autor znalazł wcześniej korelację pomiędzy aktywnością dehydrogenaz, a zawartością C_{org} w badanych przez siebie glebach lekkich i średnich. Następnie zaproponował on, aby do oceny ich żyzności posługiwać się tak właśnie wyliczonym wskaźnikiem. Wartości obliczonego

wskaźnika M, jakie uzyskano w badaniach własnych przedstawiono w tabeli 5.27. Jego wartości były zróżnicowane w zależności od zastosowanego przez wiele lat nawożenia organiczno-mineralnego oraz roku prowadzenia badań. Na podstawie uzyskanych wartości wskaźnika M można stwierdzić, że najwyższą żyznością charakteryzowała się gleba pod koniczyną czerwoną, gdzie średnio dla wszystkich obiektów nawozowych, jego wartość wynosiła 6,31. Wartości tego wskaźnika żyzności wyliczone dla próbek tej gleby z poszczególnych obiektów nawozowych wahały się w zakresie 3,36 (obiekt: NPK) do 16,48 (obiekt: Ob.+ NPK + Ca + Mg). Były one niekiedy nawet 5-krotnie wyższe, od tych, jakie wyliczono dla próbek gleby pobranej spod rzepaku jarego i pszenicy ozimej. Wartości omawianego wskaźnika w glebie pobranej spod tych dwu roślin, średnio dla wszystkich kombinacji nawozowych, nie różniły się znacznie.

Tabela 5.27. Wartości Mikrobiologicznego Wskaźnika Gleby (M) w zależności od jej zróżnicowanego nawożenia oraganiczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Obiekty nawozowe	Lata badań		
	1996	1997	1998
1.'O'	3,92	0,92	1,08
2. Słoma + NPK	5,27	1,39	1,22
3. NPK +Ca	4,28	2,03	1,37
4. NPK	3,36	1,18	1,11
5. Ob.	6,02	2,30	2,19
6. Ob. + PK	3,88	1,31	1,42
7. Ob. + NK	5,46	1,47	1,76
8. Ob. + NK + Mg	5,60	1,72	2,20
9. Ob. + NP	4,62	0,94	1,47
10. Ob. + NP + Mg	5,70	1,24	1,72
11. Ob. + NPK	5,49	1,07	1,08
12. Ob. + NPK + Mg	7,84	1,25	1,39
13. Ob. + NPK + Ca	10,47	2,35	1,88
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	16,48	3,93	3,01
średnio	6,31	1,65	1,64

We wszystkich trzech latach badań wskaźnik M najwyższy był dla próbek gleby pobranej z obiektu nawożonego: (Ob.+ NPK + Ca + Mg). W glebie spod koniczyny czerwonej jego wartość wynosiła 16,48. Natomiast w glebie pobranej spod rzepaku jarego jego wartość spadała do 3,93. Najniższą wartość tego wskaźnika, wynoszącą 3,01, obliczono dla gleby z tego obiektu pobranej spod pszenicy ozimej. Nieco niższe, w porównaniu do wyżej omówionych, wartości wskaźnika M uzyskano dla próbek gleby z obiektów nawożonych: (Ob. + NPK + Ca) pod koniczyną czerwoną (10,47) oraz pod rzepakiem jarym (2,35). Niższe były wartości M także w próbkach gleby pochodzącej z wariantu nawozowego: (Ob.

+ NPK + Mg) w glebie spod koniczyny czerwonej (7,84). Najniższą natomiast żyznością zgodnie z wyliczonym wskaźnikiem M charakteryzowała się gleba kontrolna pobrana spod rzepaku jarego (0,92), pszenicy ozimej (1,08) oraz nawożona samym NPK pod koniczyną czerwoną (3,36). Gleba nawożona samym NPK pod rzepakiem jarym i pszenicą ozimą cechowała się tylko nieznacznie wyższą wartością wskaźnika, jaki obliczono dla gleby z poletek kontrolnych spod tych roślin. Powyższe wyniki są tylko częściowo zgodne z tymi, jakie uzyskał **Myśków** [1981] badając kształtowanie się tego wskaźnika dla gleb o składzie piasku słabo gliniastego z doświadczenia nawozowego zlokalizowanego w Skierniewicach. Autor w I roku badań uzyskał wyższą wartość wskaźnika M w porównaniu do gleb nawożonych samym NPK, gdzie wskaźnik ten wyniósł tylko 12,2. W drugim roku badań autora wartość omawianego wskaźnika wynosiła odpowiednio 128,0 i 28,5, czyli gleba kontrolna była 4,5-krotnie żyzniejsza, niż ta nawożona tylko NPK. Otrzymane w badaniach własnych wartości wskaźnika M należą do bardzo niskich, w porównaniu do wartości otrzymanych przez innych autorów [**Myśków** 1981, **Kucharski i Niklewska** 1991]. Również **Kucharski i in.** [1996] otrzymali bardzo wysokie wartości wskaźnika M, wynoszące ok. 400 dla gleby ze ścisłego doświadczenia polowego, w którym uprawiano rośliny po różnych przedplonach i w zmianowaniu z różnym udziałem zbóż. W badaniach własnych wykazano natomiast wysokie wartości wskaźnika M w glebach nawożonych obornikiem (obiekt 5), w porównaniu do tych, jakie stwierdzono w glebie kontrolnej i w glebach z pozostałych obiektów nawozowych, co świadczy o korzystnym wpływie zastosowanego nawożenia obornikiem na kształtowanie się żyzności gleby. Podobnie **Myśków** [1981], obliczając wartości omawianego wskaźnika w glebach z doświadczenia nawozowego w Baborówku uzyskał jego wartość wynoszącą 80,2 w glebie kontrolnej, podczas gdy dla gleby nawożonej obornikiem wyniósł on 174,2. Żyzność gleby nawożonej obornikiem była więc ponad 100% wyższa, niż ta stwierdzona w glebie kontrolnej. **Kucharski i Niklewska** [1991] badając wpływ zastosowanej substancji organicznej, którą stanowiły między innymi: słoma, celuloza i mocznik na poziom wskaźnika M wykazali, że stosowanie słomy wywarło pozytywny wpływ na wartość tego wskaźnika. Było to szczególnie widoczne w piasku słabo gliniastym, gdzie w glebie kontrolnej jego wartość wynosiła 17, a w glebie nawożonej słomą aż 110. Natomiast wartości tego wskaźnika wyliczonego dla gleby o składzie gliny lekko pylastej wynosiły odpowiednio 114 i 202. Znaczny wzrost wartości wskaźnika M w próbkach gleb nawożonych słomą autorzy tłumaczą stymulującym wpływem tego materiału na aktywność dehydrogenazową badanej gleby. Wzrost aktywności dehydrogenaz, a co się z tym wiąże i wartości wskaźnika M wykazał także **Myśków** [1981] w badaniach mikropoletkowych prowadzonych w Puławach, gdzie dla gleby spod

pszenicy ozimej nawożonej samym NPK był on dwa razy niższy, niż dla gleby nawożonej NPK z dodatkiem słomy.

Na podstawie analitycznych wartości, jakie uzyskano w badaniach własnych dla aktywności dehydrogenaz, fosfatazy alkalicznej, proteaz i amylaz oraz zawartości C_{org} i N_{og} w badanej glebie płowej z Mochelka zaproponowano Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (B). Wartości wskaźnika obliczonego wg podanego w części metodycznej wzoru przedstawiono w tabeli 5.28. Mieściły się one w zakresie 0,90-1,78. Obliczone

Tabela 5.28. Wartości Biochemicznego Wskaźnika Żyzności Gleby (B) w zależności od zróżnicowanego nawożenia oragniczno-mineralnego w poszczególnych latach badań

Obiekty nawozowe	Lata badań		
	1996	1997	1998
1. 'O'	1,26	1,08	0,94
2. Słoma + NPK	1,25	1,11	0,94
3. NPK +Ca	1,19	1,23	0,93
4. NPK	1,17	1,17	0,90
5. Ob.	1,30	1,31	1,03
6. Ob. + PK	1,21	1,20	0,95
7. Ob. + NK	1,27	1,28	1,04
8. Ob. + NK + Mg	1,34	1,31	1,09
9. Ob. + NP	1,27	1,26	1,03
10. Ob. + NP + Mg	1,33	1,34	1,09
11. Ob. + NPK	1,30	1,31	1,04
12. Ob. + NPK + Mg	1,40	1,34	1,09
13. Ob. + NPK + Ca	1,72	1,64	1,28
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	1,78	1,72	1,35
średnio	1,34	1,31	1,05

zostały z wartości średnich uzyskanych dla gleby z terminów pobrania próbek w danym roku badań, dla poszczególnych obiektów nawozowych. Najniższą żyznością, wg obliczonego wskaźnika, charakteryzowała się gleba pobrana spod pszenicy ozimej. Dla tych próbek, średnio dla wszystkich wariantów nawozowych, wartość wskaźnika B wynosiła 1,05. Natomiast dla gleby pobranej spod pozostałych dwu roślin (średnio dla obiektów nawozowych) jego wartość była wyższa i mieściła się w dość wąskim zakresie 1,31-1,34. Najwyższą żyzność, wyrażoną wskaźnikiem B, we wszystkich latach badań, charakteryzowała się gleba z obiektów z pełnym nawożeniem z dodatkiem Mg i wapnowaniem (obiekt 14), a także gleba z obiektu 13, nawożonego: (Ob.+ NPK + Ca). We wszystkich latach badań wysoką wartością Biochemicznego Wskaźnika B charakteryzowały się również próbki gleby z obiektów, gdzie stosowano pełne nawożenie organiczno-mineralne z dodatkiem Mg (warianty 8, 10, 12). Niższą żyznością, od wyżej wymienionych obiektów, cechowała

się gleba pobrana we wszystkich latach badań z poletek nawożonych samym obornikiem. Również nawożenie samym NPK (obiekt 4) oraz (NPK + Ca) (obiekt 3) gleby pod koniczyną czerwoną oraz pszenicą ozimą przyczyniło się do obniżenia jej aktywności enzymatycznej, a tym samym, także do obniżenia się wartości wskaźnika B. Dla próbek gleby z tych właśnie obiektów osiągnął on najniższe wartości: 1,17-1,19 (gleba pod koniczyną czerwoną) oraz 0,90-0,93 (gleba pod pszenicą ozimą), w porównaniu do tych wartości, jakie obliczono dla gleby z pozostałych obiektów nawozowych. Dla gleby spod rzepaku jarego (II rok badań) najniższą wartość omawianego wskaźnika 1,08 - a zarazem najniższą żyzność, stwierdzono w próbkach pobranych z obiektu 'O' oraz 2, gdzie stosowano w nawożeniu słomę (1,11).

Z uzyskanych wartości wszystkich rozpatrywanych wskaźników wynika, że najwyższą żyznością odznaczała się gleba spod koniczyny czerwonej. Świadczy to o dużym wpływie roślin motylkowych na kształtowanie się właściwych parametrów gleb umożliwiających udostępnienie przez nie składników pokarmowych czerpanych przez systemy korzeniowe. Natomiast w poszczególnych latach badań zawsze najżyźniejszą była gleba z obiektu, który był systematycznie nawożony obornikiem i nawozami mineralnymi z dodatkiem Mg i wapnowanych (Ob.+ NPK + Ca + Mg). W próbkach gleby z tego obiektu wszystkie obliczone wskaźniki osiągały najwyższe wartości.

Omówione wyżej wskaźniki powinny stanowić uzupełnienie chemicznych i gleboznawczych parametrów dotyczących charakteryzowania jakości gleby. Żyzność jest bowiem funkcją nie tylko zasobności warstwy ornej, ale także budowy profilu glebowego, stosunków wodno-powietrznych, warunków klimatycznych, a więc całego kompleksu czynników środowiskowych wzajemnie od siebie uzależnionych. Zatem w zależności od warunków należy poszukiwać odpowiednich parametrów i na ich podstawie obliczać właściwe wskaźniki, które w sposób adekwatny odzwierciedlają aktualny stan fizykochemiczny gleby.

5.4. Korelacje pomiędzy aktywnością enzymatyczną i wskaźnikami żyzności, a innymi cechami badanej gleby

Dla uzyskanych wyników aktywności enzymatycznej i pozostałych badanych cech przeprowadzono analizę korelacji. Obliczone współczynniki korelacji przedstawiono w tabelach 5.29-5.33. Zawartość C_{org} i N_{og} korelowała dodatnio z aktywnością wszystkich badanych enzymów, oprócz aktywności katalazy oznaczonej w próbkach gleby pobranej w latach 1996-1997 (tab. 5.29-5.31). Najwyższe jednak współczynniki korelacji uzyskano pomiędzy zawartością C_{org} a aktywnością fosfatazy alkalicznej w próbkach gleb pobranych spod koniczyny czerwonej ($r = 0,86^*$) (tab. 5.31) oraz pomiędzy zawartością N_{og} a aktywnością amylazy w glebie pobranej w 1997 roku, gdzie $r = 0,74^*$. Wysokie współczynniki Pearsona pomiędzy ilością C_{org} i N_{og} a aktywnością enzymów świadczą o tym, że aktywność enzymatyczna jest ściśle związana z poziomem materii organicznej gleby [Frankenberger i Dick 1983]. Substancja organiczna gleby chroniąc enzymy przed niekorzystnymi czynnikami, przedłuża okres ich aktywności w środowisku glebowym [Kobus 1995]. W licznych badaniach wykazano istotne i dodatnie współczynniki korelacji pomiędzy zawartością C_{org} i aktywnością dehydrogenaz w wielu typach gleb ze zróżnicowanym ich użytkowaniem ($r = 0,57^*-0,92^*$) [Baligar i in. 1991, Martens i in. 1992, Bielińska 1999, Taylor i in. 2002]. W innych badaniach wykazano natomiast istnienie niskich współczynników korelacji pomiędzy zawartością C_{org} a aktywnością dehydrogenaz lub niekiedy brak istotności powiązania tych parametrów [Frankenberger i Dick 1983, Albiach i in. 2001]. Istotne zależności pomiędzy aktywnością dehydrogenazową a zawartością N_{og} znaleźli m.in. Moore i Russel [1972], Baligar i in. [1991] oraz Bielińska [1999]. Deng i Tabatabai [1997] wykazali korelację pomiędzy zawartością C_{org} a aktywnością fosfatazy kwaśnej ($r = 0,71^*-0,92^*$) oraz fosfatazy alkalicznej ($r = 0,75^*$). Podobnie w badaniach Frankenbergera i Dicka (1983) pomiędzy tymi samymi cechami współczynniki korelacji wynosiły odpowiednio $r = 0,72^*$ i $r = 0,70^*$. Ci sami autorzy nie uzyskali natomiast istotnej korelacji pomiędzy zawartością C_{org} i N_{og} a aktywnością katalazy glebowej ($r = 0,28$ i odpowiednio $r = 0,23$). Natomiast wykazali oni zdecydowanie wyższe i dodatnie współczynniki korelacji dla aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz zawartości N_{og} ($r = 0,70^*$ i $0,69^*$). Istotne i dodatnie zależności pomiędzy zawartością materii organicznej, a aktywnością fosfatazową gleby, oprócz wyżej wspomnianych autorów znaleźli także Chhonkar i Tarafdar [1984] oraz Albiach i in. [2001].

Tabela 5.29. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy aktywnością dehydrogenaz i katalazy, a innymi cechami badanej gleby

ROK	Prot.	Amyl.	F _{al}	F _{kw}	C _{org}	N _{og}	P _{E-R}	pH KCl	Plon I	Plon II	Kat.
1996	0,38*	0,64*	0,32*	0,13	0,38*	0,34*	0,20	0,31*	0,20	0,26	-0,25
1997	0,47*	0,40*	0,60*	0,24	0,43*	0,38*	0,25	0,46*	0,37*	-	0,14
1998	0,31*	0,22	0,24	-	0,36*	0,36*	0,15	0,33*	0,24	0,07	0,28
1996	0,36*	0,61*	0,03	0,03	0,22	0,12	0,27	0,25	0,13	0,21	-
1997	0,39*	0,01	0,08	0,09	0,21	0,22	0,16	0,29*	0,21	-	-
1988	0,64*	0,59*	0,40*	-	0,68*	0,61*	0,28	0,55*	0,51*	0,22	-

* -wyniki istotne statystycznie z $p < 0,05$

Objaśnienia symboli użytych w tabelach 5.29 - 5.32:

DHA - aktywność dehydrogenaz

Kat. - aktywność katalazy

F_{al} - aktywność fosfatazy alkalicznej

F_{kw} - aktywność fosfatazy kwaśnej

Prot. - aktywność proteaz

Amyl. - aktywność amylaz

C_{org} - zawartość węgla organicznego

N_{og} - zawartość azotu ogółem

P_{E-R} - zawartość fosforu przyswajalnego

1996: Plon I - I pokos koniczyny czerwonej

Plon II - II pokos koniczyny czerwonej

1997: Plon I - plon nasion rzepaku jarego

1998: Plon I - plon ziarna pszenicy ozimej

Plon II - plon słomy pszenicy ozimej

Tabela 5.30. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy aktywnością amylaz i proteaz, a innymi cechami badanej gleby

	ROK	DHA	Kat.	F _{al}	F _{kw}	C _{org}	N _{og}	P _{E-R}	pH KCl	Plon I	Plon II	Prot.
Amylazy	1996	0,64*	-0,61*	0,30*	-0,18	0,27	0,15	0,15	0,32*	0,21	0,25	0,34*
	1997	0,40*	0,00	0,65*	0,49*	0,84*	0,74*	0,58*	0,62*	0,76*	-	0,39*
	1998	0,22	0,59*	0,67*	-	0,60*	0,57*	0,23	0,42*	0,43*	0,22	0,81*
Proteazy	1996	0,38*	0,36*	0,45*	-0,16	0,62*	0,33*	0,19	0,69*	0,53*	0,59*	-
	1997	0,47*	0,39*	0,57*	0,19	0,56*	0,48*	0,43*	0,65*	0,54*	-	-
	1998	0,31*	0,64*	0,80*	-	0,74*	0,69*	0,44*	0,67*	0,69*	0,42*	-

*-wyniki istotne statystycznie z $p < 0,05$

Objaśnienia użytych symboli pod tabelą 5.29.

Tabela 5.31. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy aktywnością fosfatazy alkalicznej i kwasnej, a innymi cechami badanej gleby

	ROK	DHA	Kat.	Prot.	Amyl.	C _{org}	N _{og}	P _{E-R}	pH KCl	Plon I	Plon II	P _{kw}
Fosfataza	1996	0,32*	0,03	0,45*	0,30*	0,86*	0,36*	0,27	0,64*	0,48*	0,52*	0,57*
alkaliczna	1997	0,60*	0,08	0,57*	0,65*	0,74*	0,67*	0,46*	0,73*	0,60*	-	0,46*
	1998	0,24	0,40*	0,80*	0,67*	0,47*	0,40*	0,28	0,58*	0,54*	0,24	-
Fosfataza	1996	0,13	0,03	0,16	0,18	0,42*	0,03	0,19	0,09	0,11	0,09	-
kwaśna	1997	0,24	0,09	0,19	0,49*	0,50*	0,39*	0,31*	0,32*	0,35*	-	-

*-wyniki istotne statystycznie z $p < 0,05$

Objaśnienia użytych symboli pod tabelą 5.29

Natomiast **Martens i in.** [1992], w swych badaniach stwierdzili niską zależność dla zawartości C_{org} i aktywności fosfatazy kwaśnej ($r = 0,17$) oraz dla zawartości C_{org} i aktywności fosfatazy alkalicznej ($r = 0,27$).

Aktywność amylolityczna i proteolityczna gleby jest także często skorelowana z zawartością w niej C_{org} i N_{og} . Wartości współczynników korelacji tych cech uzyskanych w badaniach własnych przedstawiono w tabeli 5.30. Większość z tych zależności była istotna. Dodatkowo wartości współczynników korelacji wynosiły od $r = 0,33^*$ do $r = 0,74^*$. Wiele istotnych i dodatnich korelacji pomiędzy tymi parametrami znajdowano we wcześniejszych badaniach. Na przykład **Januszek** [1999] badając gleby leśne południowej Polski uzyskał istotny współczynnik korelacji dla zawartości C_{org} i aktywności proteaz wynoszący $r = 0,77^*$. Wcześniej **Ross** [1983] uzyskał dla aktywności amylaz i zawartości N_{og} istotne współczynniki korelacji ($r = 0,67^*-0,76^*$), a dla zawartości C_{org} i aktywności amylazy mieściły się one w zakresie $r = 0,64^*-0,74^*$. Podobnie **Ladd i Butler** [1972] uzyskali wysoce istotne współczynniki korelacji pomiędzy tymi cechami, które wynosiły odpowiednio $r = 0,53^*-0,88^*$ oraz $r = 0,48^*-0,88^*$. **Marchiori i in.** [1998] uzyskali wysoki współczynnik korelacji pomiędzy aktywnością proteaz i zawartością N_{og} ($r = 0,93^*$) w warstwie gleby 0-10 cm, niższy w warstwie gleby 10-20 cm ($r = 0,51^*$). Natomiast w warstwie gleby na głębokości 20-30 cm autorzy nie wykazali istotnej zależności ($r = 0,35$). **Silva i in.** [1998] wykazali dodatnią zależność pomiędzy aktywnością proteaz, a zawartością w glebie $N-NO_3$ ($r = 0,77^*$) oraz $N-NH_4$ ($r = 0,74^*$). Badając glebę pochodzącą z sadu **Bielińska** [1999] obliczyła współczynniki korelacji pomiędzy aktywnością proteaz, a zawartością N_{og} ($r = 0,52^*$) i zawartością C_{org} ($r = 0,52^*$).

Aktywność większości enzymów glebowych jest istotnie skorelowana z pH gleby. Potwierdzają to uzyskane w badaniach własnych wysokie współczynniki korelacji, zwłaszcza dla aktywności proteazy i pH ($r = 0,65^*-0,67^*$) i fosfatazy alkalicznej ($r = 0,58^*-0,73^*$) (tab. 5.30 i 5.31). Podobnie wysokie wartości współczynników korelacji dla zależności pH i aktywności fosfatazy alkalicznej uzyskali **Stefanic i in.** [1984] ($r = 0,86^*-0,94^*$) oraz **Acosta-Martinez i Tabatabai** [2000] ($r = 0,95^*$), a dla zależności pH i aktywności proteaz ($r = 0,57^*$) **Gostkowska i in.** [1998]. Niektórzy autorzy uzyskują istotne, ale ujemne współczynniki korelacji dla aktywności fosfatazy, zwłaszcza kwaśnej i pH gleby, tak jak **Acosta-Martinez i Tabatabai** [2000], w badaniach którego współczynnik korelacji dla tych cech wynosił $r = -0,69^*$. Podobnie **Kuperman i Cerreiro** [1997] uzyskali następujące wartości współczynników korelacji dla zależności: pH x fosfataza kwaśna ($r = -0,69^*$) oraz pH x fosfataza alkaliczna ($r = -0,33$). W większości badań jednak autorzy uzyskiwali istotne i dodatnie korelacje pomiędzy wartościami pH, a aktywnością fosfata-

zową [Juma i Tabatabai 1977, Speir i Ross 1978, Dick i in. 1983, Chhonkar i Tarafdar 1984, Trasar-Cepeda i Gil-Sotres 1988, Kang i Freeman 1999, Canet i in. 2000]. Natomiast Stefanic i in. [1984] wyliczyli istotne współczynniki korelacji między wartościami pH różnych typów badanych gleb, a aktywnością dehydrogenazową ($r = 0,92^*-0,96^*$) oraz katalazową ($r = 0,86^*-0,95^*$). Zależności pomiędzy tymi cechami w badaniach własnych były dla większości próbek glebowych również istotne, ale niskie (tab. 5.29).

Często określając aktywność enzymatyczną w celu wykorzystania jej do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby, bada się korelację pomiędzy tą aktywnością, a uzyskanymi plonami roślin uprawnych. W badaniach własnych uzyskano dość wysokie współczynniki korelacyjne między plonami nasion rzepaku jarego, a aktywnością fosfatazy alkalicznej ($r = 0,60^*$), amylaz ($r = 0,76^*$) oraz proteaz ($r = 0,54^*$); podobnie pomiędzy plonami ziarna pszenicy, a aktywnością katalazy ($r = 0,51^*$); fosfatazy alkalicznej ($r = 0,54^*$), proteaz ($r = 0,69^*$) oraz plonami koniczyny, a aktywnością proteaz ($r = 0,53^*$ i $r = 0,59^*$). Natomiast Ścigalska i Klimka [1997] uzyskali istotne korelacje pomiędzy plonami owsa, pszenżyta ozimego, mieszanek koniczyn z trawami, a aktywnością celulolityczną badanej gleby. Podobnie Martyniuk i in. [1998] otrzymali istotne współczynniki korelacji między plonem jęczmienia jarego, a aktywnością fosfatazy kwaśnej ($r = 0,76^*-0,83^*$) oraz aktywnością dehydrogenaz ($r = 0,62^*$). Autorzy nie uzyskali natomiast istotnych zależności między plonem jęczmienia jarego, a aktywnością fosfatazy alkalicznej. Wcześniej uzyskali oni wysoką korelację pomiędzy plonami ziemniaków a aktywnością tego enzymu ($r = 0,82^*$), jak też aktywnością dehydrogenazową ($r = 0,62^*$) [Martyniuk i in. 1997]. Badania nad wpływem różnych zabiegów agrotechnicznych na aktywność biochemiczną gleby oraz nad jej związkami z plonowaniem roślin przeprowadzili między innymi Verstraete i Voets [1977]. Spośród wielu wskaźników aktywności biologicznej, tylko aktywność fosfatazowa wykazywała istotną i dodatnią korelację z plonami pszenicy ($r = 0,73^*$).

W tabeli 5.32 przedstawiono współczynniki korelacji pomiędzy zawartością przyswajalnych form K, Mg, Zn, Mn, Fe oraz wapnia wymiennego w badanej glebie płowej z Mochelka (1997 rok), a aktywnością enzymatyczną i innymi jej cechami. Zawartość Ca^{+2} i Mg przyswajalnego była istotnie i dodatnio skorelowana z aktywnością prawie wszystkich badanych enzymów. Najwyższe współczynniki Pearsona uzyskano dla cech : Ca^{+2} x aktywność proteaz ($r = 0,61^*$), Ca^{+2} x aktywność fosfatazy alkalicznej ($r = 0,67^*$), Mg x aktywność proteaz ($r = 0,64^*$), Mg x aktywność amylaz ($r = 0,79^*$) i Mg x aktywność fosfatazy alkalicznej ($r = 0,80^*$). Związek pomiędzy aktywnością fosfatazy alkalicznej i zawartością Mg opisuje istotnie dodatnia zależność prostoliniowa (rys. 16a). Jej przebieg wskazuje na wprost proporcjonalny wzrost aktywności enzymu wraz ze wzrostem zawar-

tości magnezu. Ponadto zawartość Ca^{+2} i przyswajalnej formy Mg korelowała istotnie i dodatnio z zawartością C_{org} , N_{og} , $\text{P}_{\text{E-R}}$ i pH badanej gleby. Podobnie **Kuperman i Carreiro** [1997] uzyskali w swoich badaniach wysokie współczynniki korelacji pomiędzy zawartością Ca^{+2} , a aktywnością fosfatazy kwaśnej ($r = 0,82^*$) oraz fosfatazy zasadowej ($r = 0,67^*$). Natomiast **Januszek** [1999] w badaniach gleb leśnych nie uzyskał istotności dla zależności między aktywnością fosfatazy alkalicznej, a zawartością przyswajalnej formy Mg ($r = 0,21$) i wymiennego Ca ($r = 0,19$). Autor ten uzyskał z kolei wysokie współczynniki Pearsona dla aktywności dehydrogenaz i zawartości Mg ($r = 0,71^*$) oraz Ca^{+2} ($r = 0,71^*$). Dla zawartości przyswajalnego K i pozostałych cech w badaniach własnych uzyskano wprawdzie dodatnie i w większości przypadków istotne współczynniki, choć nie były one wysokie (tab. 5.32). Zawartość Zn w badanej glebie korelowała dodatnio m.in. z aktywnością dehydrogenaz ($r = 0,52^*$) oraz fosfatazy alkalicznej ($r = 0,51^*$), a także z zawartością N_{og} ($r = 0,50^*$) i pH gleby ($r = 0,70^*$) oraz z aktywnością proteaz, choć z nieco niższą wartością współczynnika korelacji ($r = 0,42^*$). Wyższy współczynnik Pearsona ($r = 0,88^*$) dla zawartości Zn przyswajalnego oraz aktywności proteaz uzyskał **Januszek** [1999].

Tabela 5.32. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby, a zawartością wybranych metali i innymi badanymi cechami (1997)

	Ca^{+2}	K	Mg	Zn	Mn	Fe
<i>DHA</i>	0,43*	0,21	0,44*	0,52*	0,35*	0,28
<i>Kat.</i>	0,31*	0,04	0,26	0,25	0,43*	0,57*
<i>F_{al}</i>	0,67*	0,34*	0,80*	0,51*	0,65*	0,40*
<i>F_{kw}</i>	0,25	0,38*	0,39*	0,16	0,16	0,25
<i>Prot.</i>	0,61*	0,37*	0,64*	0,42*	0,62*	0,71*
<i>Amyl.</i>	0,49*	0,66*	0,79*	0,31*	0,48*	0,51*
<i>C_{org}</i>	0,65*	0,53*	0,90*	0,47*	0,62*	0,83*
<i>N_{og}</i>	0,57*	0,42*	0,80*	0,50*	0,61*	0,82*
<i>P_{E-R}</i>	0,63*	0,25	0,66*	0,28	0,58*	0,80*
<i>pH w KCl</i>	0,96*	0,34*	0,90*	0,70	0,87*	0,45*

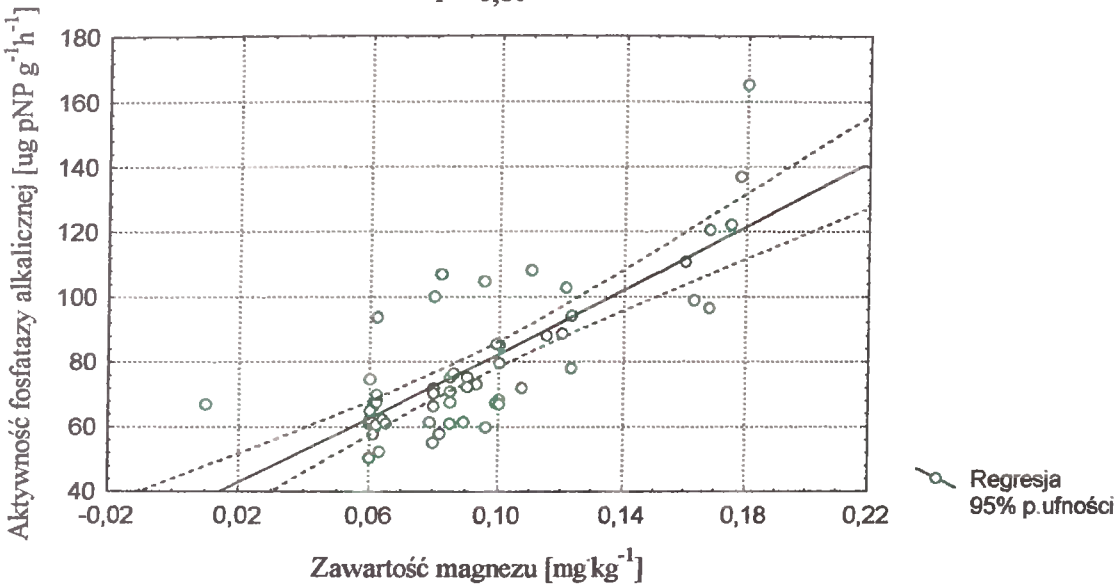
Nieistotną zależność ($r = 0,21$) pomiędzy aktywnością dehydrogenazową, a zawartością Zn uzyskali **Moore i Russel** [1972].

Wysokie współczynniki korelacji w badaniach własnych wykazano pomiędzy zawartością Fe, a aktywnością katalazy ($r = 0,57^*$) oraz aktywnością proteaz ($r = 0,71^*$), a także dla zależności: zawartość Mn x aktywność fosfatazy alkalicznej ($r = 0,65^*$) i aktywność proteaz ($r = 0,62^*$). Prostoliniową zależność pomiędzy aktywnością katalazy a zawartością Fe przedstawiono na rysunku 16b.

a) Mg vs. Fosfataza alkaliczna (1997)

Fosfataza alkaliczna = 33,227 + 491,67 * Mg

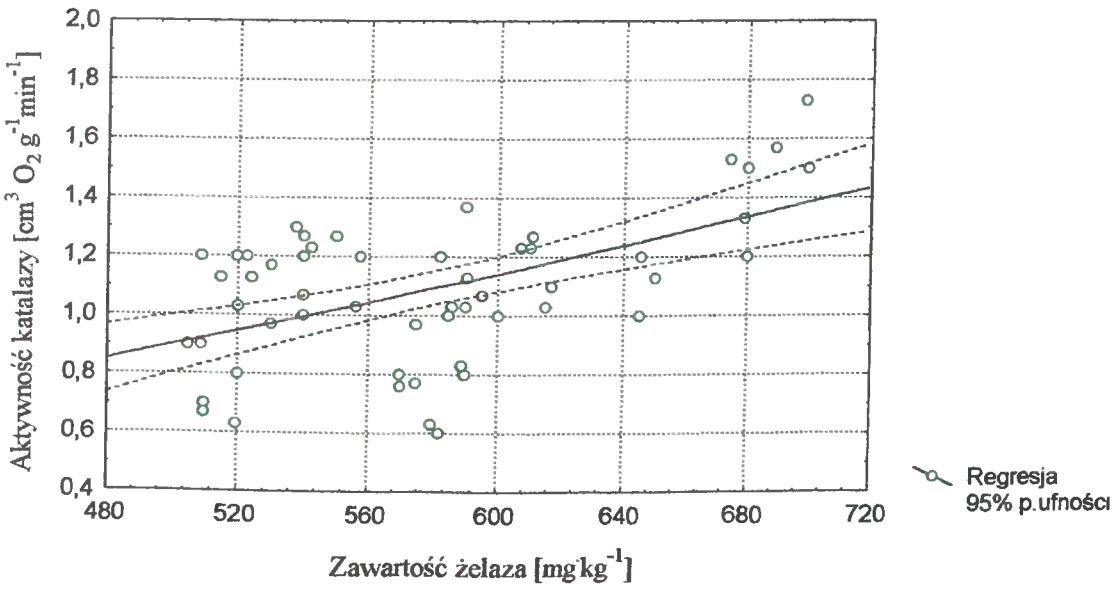
r = 0,80*



b) Fe vs. Katalaza (1997)

Katalaza = -,3160 + ,00243 * Fe

r = 0,57*



Rys. 16. Zależność pomiędzy aktywnością fosfatazy alkalicznej a zawartością Mg (a) oraz pomiędzy aktywnością katalazy a zawartością Fe (b) w badanej glebie

Przeprowadzona analiza korelacji uzyskanych wyników wykazała także zależności pomiędzy aktywnością poszczególnych enzymów (tab. 5.29-5.31), wskazując na ścisłe zależności pomiędzy zachodzącymi w glebie przemianami biochemicznymi. Większość z otrzymanych współczynników korelacji była istotna, choć ich wartości były zwykle niewysokie. Najwyższe współczynniki Pearsona wyliczono dla aktywności fosfatazy alkalicznej i proteaz ($r = 0,45^*-0,80^*$), fosfatazy alkalicznej i amylaz ($r = 0,30^*-0,67^*$), a także pomiędzy aktywnością proteaz i dehydrogenaz ($0,31^*-0,47^*$) oraz proteaz i katalazy ($0,36^*-0,64^*$). Dane literaturowe wskazują również na istnienie zależności pomiędzy aktywnością różnych enzymów. **Januszek** [1999] wykazał istnienie współczynników korelacji dla aktywności dehydrogenaz i fosfatazy alkalicznej ($r = 0,43^*$), dehydrogenaz i proteaz ($r = 0,66^*$) oraz proteaz i fosfatazy alkalicznej ($r = 0,60^*$). W badaniach różnych typów gleb prowadzonych przez **Stefanica i in.** [1984] wykazano istotne współczynniki Pearsona dla aktywności dehydrogenazowej i katalazowej ($r = 0,78^*-0,85^*$), a także dehydrogenaz i fosfatazy alkalicznej ($r = 0,69^*-0,85^*$). Nieco niższe współczynniki korelacji między aktywnością dehydrogenaz i fosfatazy alkalicznej, wynoszące $0,60^*-0,67^*$, uzyskali **Martyniuk i in** [1997]. W badaniach własnych nie wykazano istotnych korelacji pomiędzy aktywnością fosfatazy kwaśnej, a aktywnością innych badanych enzymów (tab. 5.31), co wskazuje, że aktywność tego enzymu nie powinna być wykorzystana do sformułowania wskaźnika żyzności gleby. Stąd też wyniknęła potrzeba sformułowania własnego biochemicznego wskaźnika żyzności uwzględniającego aktywność fosfatazy alkalicznej.

O przydatności wskaźników do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby decydują m.in. ich związki korelacyjne z innymi cechami gleby, takimi jak zawartość C_{org} , N_{og} , czy innych ich form [**Leirós i in.** 1999], zawartość przyswajalnych form Mg, K, Ca i P, pH gleby, czy w końcu z plonami uprawianych roślin. Wartości współczynników pomiędzy wyliczonymi wskaźnikami żyzności, a wybranymi cechami badanej gleby przedstawiono w tabeli 5.33. Większość uzyskanych współczynników Pearsona była istotna i dodatnia. Zdecydowanie najwyższe spośród uzyskanych wartości współczynników korelacji otrzymano dla Biochemicznego Wskaźnika Żyzności Gleby B i większości badanych cech, takich jak: zawartość N_{og} ($r = 0,53^*-0,89^*$) i P_{E-R} ($r = 0,44^*-0,64^*$), pH KCl ($r = 0,74^*-0,89^*$) oraz zawartości, K i Fe ($r = 0,62^*-0,81^*$), a także plonów roślin ($0,46^*-0,81^*$). Szczególnie wysokie współczynniki uzyskano jednak dla wartości wskaźnika, B i zawartości C_{org} , gdzie $r = 0,94^*-0,97^*$, a także Mg ($r = 0,93^*$). Związki pomiędzy wartościami wskaźnika B a niektórymi cechami badanej gleby przedstawiono na rysunkach 17 a i b oraz 18 a i b. Ich przebieg wskazuje na wprost proporcjonalny wzrost wartości tego

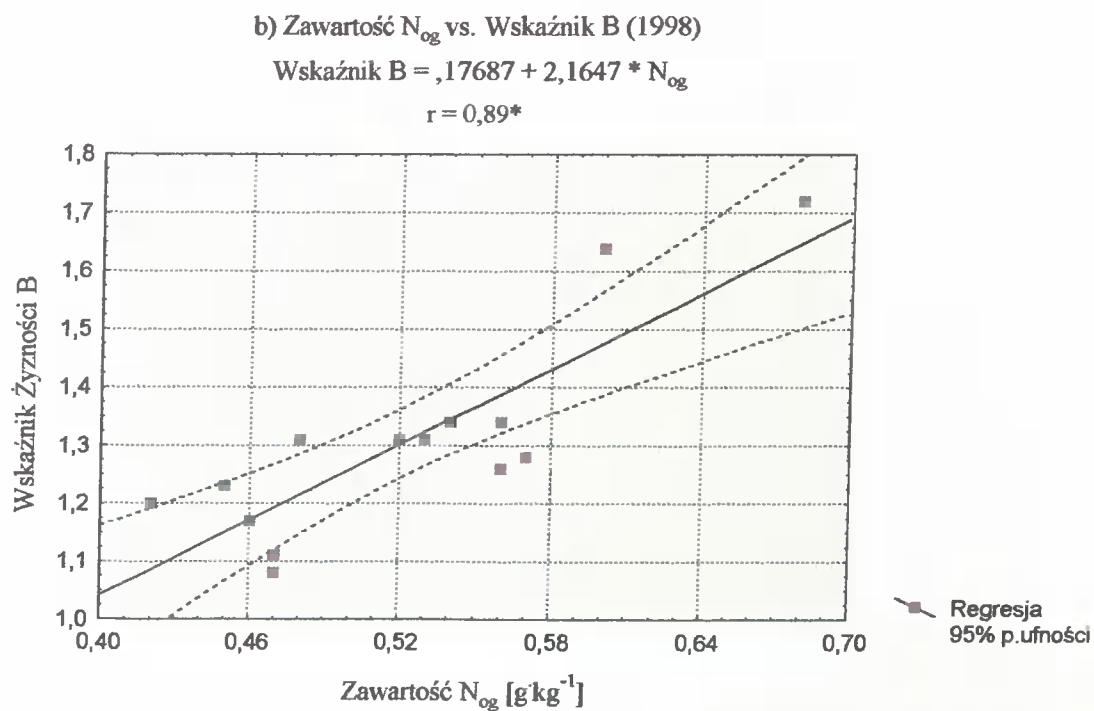
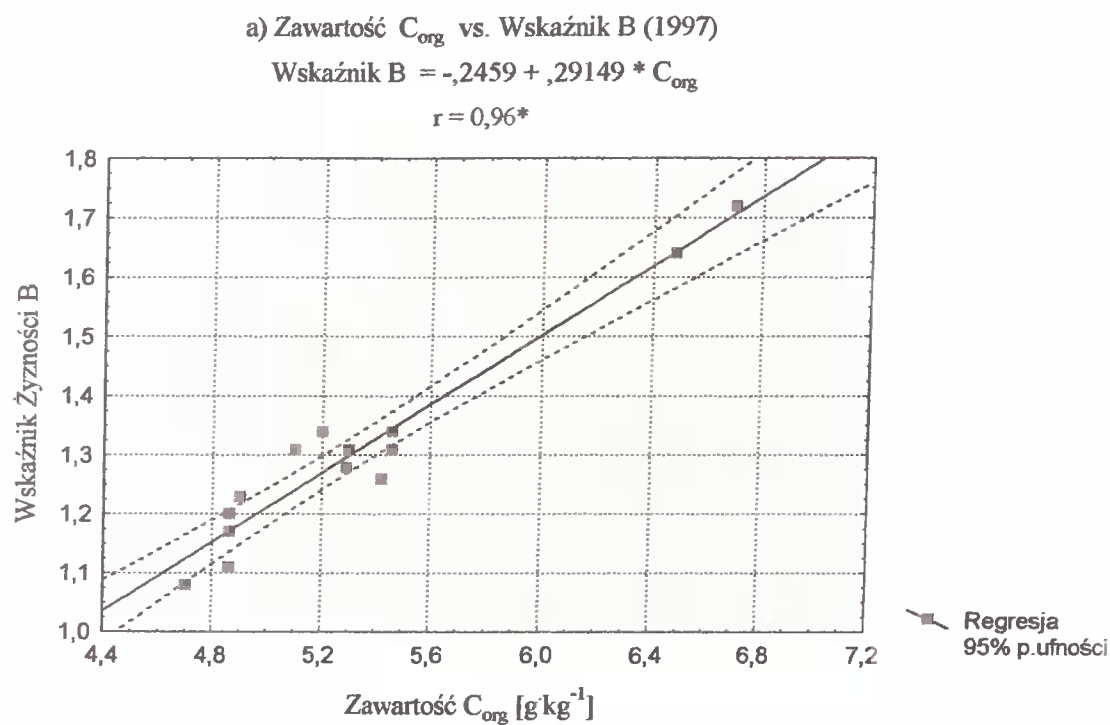
Tabela 5.33. Wartości współczynników korelacji prostej pomiędzy wyliczonymi wskaźnikami żyzności gleby, a wybranymi cechami badanej gleby

ROK	C _{org}	N _{og}	P _{E-R}	pH KCl	Plon I	Plon II	Ca ⁺²	K	Mg	Zn	Mn	Fe
1996	0,76*	0,62*	0,39*	0,66*	0,46*	0,56*	-	-	-	-	-	-
1997	0,53*	0,44*	0,27	0,61*	0,47*	-	0,56*	0,30*	0,53*	0,69*	0,44*	0,34*
1998	0,78*	0,74*	0,29*	0,68*	0,62*	0,30*	-	-	-	-	-	-
1996	0,88*	0,55*	0,47*	0,88*	0,60*	0,72*	-	-	-	-	-	-
1997	0,87*	0,80*	0,54*	0,83*	0,76*	-	0,73*	0,57*	0,87*	0,62*	0,74*	0,74*
1998	0,76*	0,65*	0,31*	0,66*	0,68*	0,20	-	-	-	-	-	-
1996	0,94*	0,53*	0,44*	0,89*	0,66*	0,72*	-	-	-	-	-	-
1997	0,97*	0,85*	0,64*	0,81*	0,81*	-	0,68*	0,62*	0,93*	0,50*	0,65*	0,81*
1998	0,97*	0,89*	0,46*	0,74*	0,65*	0,46*	-	-	-	-	-	-
1996	0,89*	0,55*	0,39*	0,83*	0,66*	0,69*	-	-	-	-	-	-
1997	0,72*	0,60*	0,43*	0,74*	0,59*	-	0,66*	0,38*	0,71*	0,71*	0,53*	0,52*
1998	0,73*	0,63*	0,04	0,55*	0,37*	0,10	-	-	-	-	-	-

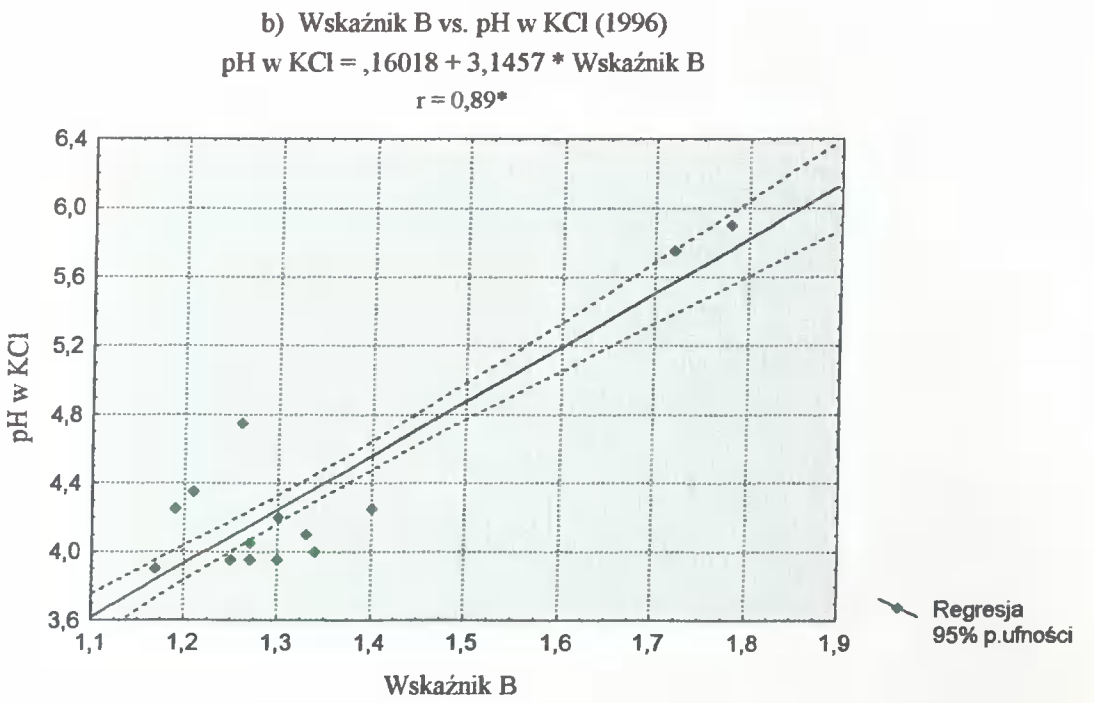
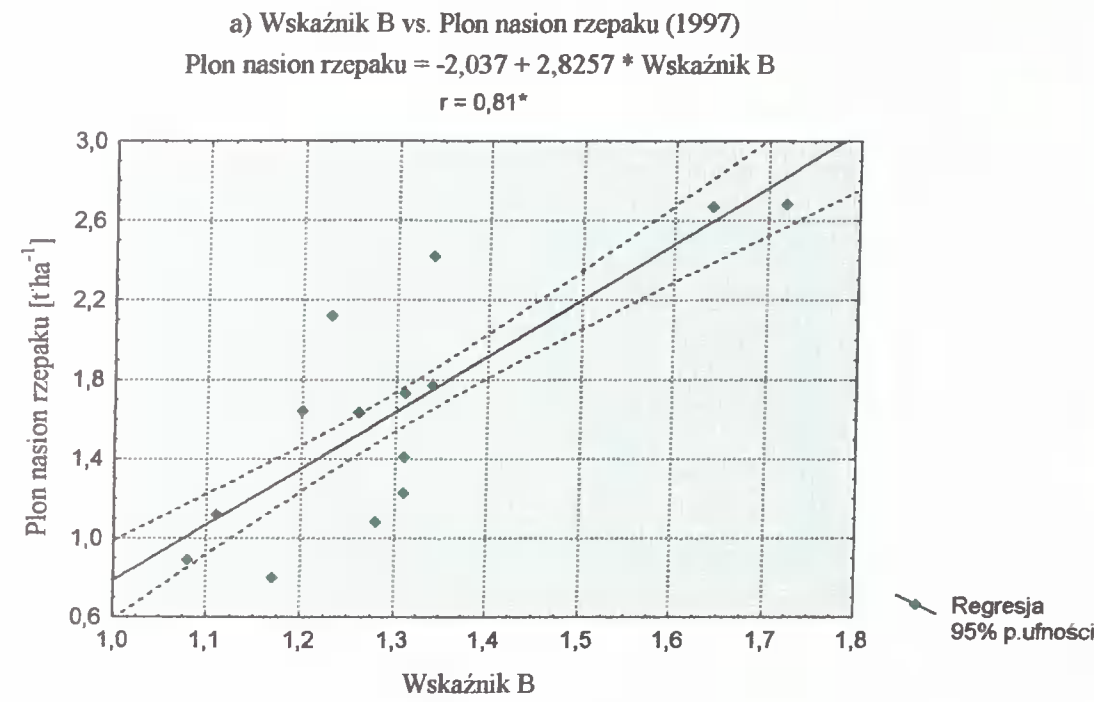
*-wyniki istotne statystycznie z p< 0,05

- BIF Biologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby
- EAN Enzymatyczny Wskaźnik Żyzności Gleby
- B Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (zaproponowany na podstawie badań własnych)
- M Mikrobiologiczny Wskaźnik Żyzności Gleby

Objaśnienia pozostałych użytych symboli pod tabelą 5.29



Rys. 17. Zależność pomiędzy wartościami Biochemicznego Wskaźnika Żyzności B a zawartością C_{org} (a) oraz zawartością N_{og} (b) w badanej glebie



Rys. 18. Zależność pomiędzy wartościami Wskaźnika Żyzności B a wysokością plonu nasion rzepaku jarego (a) oraz wartością pH w KCl (b) w badanej glebie

wskaźnika wraz ze wzrostem zawartości C_{org} , N_{og} , pH w KCl oraz uzyskanego plonu nasion rzepaku. Pomiedzy pozostałymi wskaźnikami (BIF, EAN i M), a innymi parametrami gleby otrzymano nieco niższe współczynniki korelacji. Świadczy to o słuszności wprowadzenia własnego wskaźnika określającego żyzność gleby płowej z Mochelka.

Analizując zależność pomiędzy EAN, a innymi cechami gleby stwierdzić należy, że korelował on istotnie i dodatnio m.in. z zawartością C_{org} ($r = 0,76^*-0,88^*$), N_{og} ($r = 0,55^*-0,80^*$), pH w KCl ($r = 0,66^*-0,88^*$), zawartością Mg ($r = 0,87^*$), Fe ($r = 0,74^*$) i Mn ($r = 0,74^*$). Dla pozostałych cech i wskaźnika EAN wartości współczynników korelacji były istotne i dodatnie, ale zdecydowanie niższe od wyżej wymienionych. Korelując wartości wskaźnika BIF z pozostałymi parametrami uzyskano nieco niższe wartości współczynników korelacji w porównaniu do tych, jakie stwierdzono dla wcześniej omówionych wskaźników. BIF był skorelowany istotnie i dodatnio jedynie z zawartością C_{org} ($r = 0,53^*-0,78^*$), N_{og} ($r = 0,44^*-0,74^*$), pH w KCl ($r = 0,61^*-0,68^*$) oraz zawartością Zn ($r = 0,69^*$). Zależności pomiędzy tym wskaźnikiem a wartościami pozostałych cech były także istotne i dodatnie, ale o znacznie niższych wartościach. **Stefanic i in.** [1984] uzyskali dodatnią zależność pomiędzy wartością omawianego wskaźnika (BIF), a zawartością C_{org} . Jednakże jego wartość była niższa, niż uzyskana w badaniach własnych i wynosiła $r = 0,51^*$. Autorzy uzyskali także znaczną zależność pomiędzy wartością wskaźnika BIF, a zawartością N_{og} w glebach nawożonych NPK ($r = 0,66^*$) i bez nawożenia ($r = 0,48^*$). Również pomiędzy jego wartością a zawartością P_{og} stwierdzili oni istotną zależność wynoszącą dla gleb nawożonych $r = 0,75^*$ oraz dla gleb kontrolnych $r = 0,48^*$.

Myśków [1981] proponując zastosowanie Mikrobiologicznego Wskaźnika do oceny potencjalnej żyzności gleby sugerował się tym, że aktywność dehydrogenaz i zawartość C_{org} w badanych przez niego glebach korelowała istotnie i dodatnio z plonem roślin. W badaniach własnych wartości wskaźnika M korelowały z wysokością plonów koniczyny czerwonej ($r = 0,83^*-0,66^*$), a także z plonem nasion rzepaku jarego ($r = 0,59^*$). Natomiast współczynnik korelacji dla wskaźnika M i plonu ziarna pszenicy ozimej był niski, choć istotny ($r = 0,37^*$). Większość współczynników korelacji pomiędzy wartościami wskaźnika M, a pozostałymi cechami gleby była istotna i dodatnia, choć kształtowały się one na poziomie niższym, niż te uzyskane dla wskaźnika B (tab. 5.33).

Istotne i dodatnie korelacje, jakie otrzymano pomiędzy wskaźnikami żyzności, a badanymi cechami gleby oraz uzyskanymi plonami roślin potwierdziły słuszność sformułowanych nowych wskaźników. Szczególnie przydatnym dla gleby objętej badaniami własnymi okazał się Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (B), jako że jego wartości wysoce istotnie korelowały z jej właściwościami fizyko-chemicznymi.

5.5. Przydatność wskaźników enzymatycznych do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby

Na podstawie uzyskanych wartości wskaźników żyzności gleby (tab. 5.27, 5.28, rys. 14, 15) oraz ich korelacji z pozostałymi parametrami badanej gleby (tab. 5.33) stwierdzić można, wszystkie spośród wyliczonych wskaźników mogą być użyte do oceny stanu żyzności i urodzajności gleby. Jednakże spośród czterech rozpatrywanych wskaźników najwłaściwszym do oceny stanu żyzności i urodzajności badanej gleby płowej w warunkach doświadczenia polowego w Mochelku okazał się być Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (B). Wskaźnik ten bowiem w najwyższym stopniu był skorelowany z takimi cechami gleby, jak zawartość C_{org} , N_{og} , P_{E-R} , zawartość przyswajalnych form Mg, K i Fe, pH w KCl oraz wysokość uzyskiwanych plonów roślin. W związku z tym ten właśnie wskaźnik wykorzystano do końcowej próby oceny żyzności badanej gleby z wykorzystaniem klas żyzności utworzonych w oparciu o wartości tego wskaźnika (tab. 5.34)

Według wartości uzyskanego wskaźnika B niską żyznością cechowały się próbki glebowe pobrane w 1996 roku z obiektów: nr 2 (słoma + NPK), nr 3 (NPK + Ca), nr 4 (NPK) i nr 6 (Ob. + PK). Gleby z większości obiektów zostały zakwalifikowane jednak do gleb o średniej żyzności. Zaliczono tu próbki gleb z obiektów: kontrolnego (1), nawożonego obornikiem (5) oraz w wariantów nawozowych o numerach: od 7 do 12. Wysoką żyznością cechowała się tylko jedna gleba, a mianowicie ta pobrana z obiektu 13 (Ob. + NPK + Ca), zaś bardzo wysoką żyznością charakteryzowała się także jedna gleba, nawożona: (Ob. + NPK + Ca + Mg) z obiektu nr 14. Spośród gleb z obiektów, na których uprawiano rzepak jary niską żyznością i urodzajnością, podobnie jak w 1996 roku, charakteryzowała się gleba pobrana z wariantów 2-4 i 6 oraz 1. Gleba pobrana z obiektu 5 oraz 7-12 została zakwalifikowana do gleb o średniej żyzności, a więc tak samo jak została ona zakwalifikowana pod uprawą koniczyny czerwonej. Tylko próbki gleby pochodzące z obiektu 13 i 14 mieściły się w klasie żyzności bardzo wysokiej. Gleba spod pszenicy ozimej z zależności od zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego okazała się mniej żyzna od gleby pochodzącej spod pozostałych dwu roślin. Bardzo niską żyznością charakteryzowała się gleba będąca pod uprawą pszenicy z obiektów 1-4 i 6, czyli ta która pod uprawą rzepaku cechowała się żyznością niską. Natomiast próbki gleby, która pod rzepakiem należała do klasy żyzności średniej (gleba z obiektów 5 oraz 7-12), pod pszenicą ozimą zakwalifikowała się do klasy o żyzności niskiej. Średnią żyznością pod uprawą

Tabela 5.34. Biochemiczny Wskaźnik Żyzności Gleby (B), a żyzność badanej gleby w zależności od zróżnicowanego nawożenia organiczno-mineralnego

Rok badań	Numery obiektów nawozowych	Wartość wskaźnika 'B'	Żyzność gleby
1996	-	<1,00	bardzo niska
	2, 3, 4, 6	1-1,25	niska
	1, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12	1,26-1,5	średnia
	13	1,51-1,75	wysoka
	14	>1,75	bardzo wysoka
1997	-	<1,00	bardzo niska
	1, 2, 3, 4, 6	1-1,25	niska
	5, 7, 8, 9, 10, 11, 12	1,26-1,5	średnia
	13, 14	1,51-1,75	wysoka
	-	>1,75	bardzo wysoka
1998	1, 2, 3, 4, 6	<1,00	bardzo niska
	5, 7, 8, 9, 10, 11, 12	1-1,25	niska
	13, 14	1,26-1,5	średnia
	-	1,51-1,75	wysoka
	-	>1,75	bardzo wysoka
1. 'O'	8. Ob. + NK + Mg		
2. Słoma + NPK	9. Ob. + NP		
3. NPK + Ca	10. Ob. + NP + Mg		
4. NPK	11. Ob. + NPK		
5. Ob.	12. Ob. + NPK + Mg		
6. Ob. + PK	13. Ob. + NPK + Ca		
7. Ob. + NK	14. Ob. + NPK + Ca + Mg		

pszenicy cechowała się gleba z obiektów 13 i 14 (Ob.+ NPK + Ca) oraz (Ob. + NPK + Ca + Mg).

Podsumowując kształtowanie się rozpatrywanego wskaźnika stwierdzić można, że najwyższą żyznością odznaczała się gleba z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym i wapnowaniem. Natomiast najmniej żyzną okazała się gleba, która przez wiele lat była nienawożona lub nawożona słomą oraz samymi nawozami mineralnymi.

Należy zaznaczyć, że prezentowane w niniejszej pracy wyniki odnoszą się do gleb lekkich, stanowiących większość gleb uprawnych Polski. Dalsze badania nad wskaźnikami żyzności powinny być kontynuowane i objąć także inne typy gleb, o odmiennych właściwościach i o różnej użyteczności rolniczej. Wskaźniki żyzności gleby mogą się zmieniać nie tylko pod wpływem zastosowanego zróżnicowanego nawożenia i różnych gatunków roślin (czynników rozpatrywanych w tej pracy). Wartości tych wskaźników mogą się również odmiennie kształtować w różnych warunkach klimatycznych, czy w uproszczonych zmianowaniach roślin. W dalszych poszukiwaniach biologicznych wskaźników żyzności gleby należy także zwrócić uwagę na ryzosferę roślin uprawnych, aby wyjaśnić w jakim

stopniu nasilenie aktywności rizosfery enzymów łączy się z rozwojem i plonowaniem roślin uprawnych. Przydatność rozpatrywanych w niniejszej pracy wskaźników powinna być sprawdzona na szerszym materiale i w różnych warunkach agroekologicznych; czyli nie tylko na podstawie analizy gleb z wieloletnich doświadczeń, ale także w warunkach doświadczeń modelowych, prowadzonych w ściśle kontrolowanych warunkach [Myśków 1981]. Omówione wskaźniki, jak też wiele innych, mogą być przydatne przy ocenie stopnia zanieczyszczenia gleby metalami ciężkimi, siarką, pestycydami itp. W ostatnich latach coraz częściej wykorzystuje się aktywność enzymatyczną jako wskaźnik zmian zachodzących w glebie zdegradowanej, czy też wzbogaconej substancjami organicznymi [Baran i in. 1996, Kucharski i in. 2000]. Podobnie Drab i Piontek [1999] stwierdzili, że oznaczenie aktywności enzymatycznej może być dobrym testem do oceny stopnia przemian zachodzących w gruntach rekultywowanych. Natomiast Czerska i in. [1998] uważają, że poprzez pomiary aktywności specyficznych enzymów można określić zdolność biocenozy do biologicznego usuwania fosforu metodą osadu czynnego.

Oddziaływanie wymienionych, jak i innych jeszcze czynników na właściwości biologiczne gleby, powinno być przedmiotem dalszych poszukiwań w celu określenia, który ze wskaźników aktywności biologicznej byłby w danych warunkach agroekologicznych najodpowiedniejszy.

W celu opracowania w miarę jednolitego poglądu odnośnie stopnia powiązania pomiędzy żyznością gleby i jej aktywnością enzymatyczną należałoby w dalszych pracach naukowych między innymi:

- ♦ z dużej liczby enzymów glebowych wybrać te najwłaściwsze, które powinny być uwzględnione przy tego typu wnioskowaniach, a więc takie, które biorą udział w najważniejszych procesach biochemicznych, mających znaczenie w udostępnianiu składników odżywczych dla roślin;
- ♦ wybrać odpowiednie oraz ujednolicić metody badań enzymów;
- ♦ ujednolicić jednostki, w których podaje się aktywność enzymatyczną gleb;
- ♦ można także dokonać próby opracowania liczb granicznych określających aktywność enzymów różnych jednostek taksonomicznych gleb.

6. Wnioski

Na podstawie uzyskanych wyników analiz zgodnie z przyjętymi celami cząstkowymi oraz głównym celem badań własnych dotyczących wykorzystania wskaźników charakteryzujących żyzność gleby można sformułować następujące wnioski:

1. Wykazano, że zawartości C_{org} i N_{og} były zróżnicowane zależnie od wieloletniego nawożenia organiczno-mineralnego gleb. Zawartość obu badanych biopierwiastków była najwyższa w próbkach gleby pobranej z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym. Natomiast istotne obniżenie zawartości tych składników materii organicznej stwierdzono w próbkach gleb nawożonych wyłącznie nawozami mineralnymi oraz z dodatkiem słomy. Nie stwierdzono istotnego zróżnicowania zawartości obu składników w próbkach gleby z poszczególnych lat prowadzenia badań.
2. Analiza zasobności gleby w przyswajalne makro- i mikroskładniki wykazała bardzo niską zawartość przyswajalnej formy magnezu i wapnia wymiennego w próbkach gleby z większości obiektów nawozowych. Najwyższą zawartością przyswajalnych form Mg i K oraz wymiennego Ca cechowała się gleba z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym, a także nawożona samym obornikiem. Natomiast zawartość przyswajalnej formy cynku i manganu mieściła się w klasie średniej zasobności w ten składnik, podczas gdy zawartość żelaza była bardzo niska. Ponadto stwierdzono istotny wpływ obornika na zwiększanie się zawartości cynku i manganu w badanej glebie.
3. Wykazano istotny wpływ zmianowania upraw i nawożenia na kształtowanie się zawartości fosforu przyswajalnego w glebie. Najwyższą jego zawartość stwierdzono w próbkach gleby pobranej spod koniczyny czerwonej. Istotnie niższą zawartość tego składnika stwierdzono w glebie spod pozostałych dwu roślin. Nawożenie mineralne uwzględniające fosfor wpłynęło istotnie na wzrost zawartości fosforu przyswajalnego, w porównaniu do ilości, jaką stwierdzono w glebie kontrolnej jak i nienawożonej fosforem.
4. Aktywność enzymatyczna zmieniała się istotnie w próbkach gleby w poszczególnych latach prowadzenia badań. Najwyższą aktywność obu badanych oksydoreduktaz glebowych, stwierdzono w glebie spod koniczyny czerwonej pobranej w I roku badań. W dwóch pozostałych latach badań stwierdzono istotne obniżenie się aktywności de-

hydrogenaz i katalazy, a uzyskane wyniki tych aktywności były na zbliżonym poziomie. Taka tendencja zmienności aktywności enzymatycznej mogła być indukowana zarówno czynnikami uwzględnionymi w doświadczeniu (nawożenie, zmianowanie), jak i zmiennością warunków pogodowych.

5. Wykazano że wilgotność gleby, we współdziałaniu z innymi czynnikami, miała istotny wpływ na kształtowanie się aktywności enzymatycznej badanej gleby, w trakcie sezonowego pobierania próbek do analiz. Najwyższe wartości aktywności dehydrogenaz, amylaz oraz fosfatazy alkalicznej stwierdzono w próbkach gleby pobranych w III terminie pobrania (czerwiec, lipiec), kiedy to zanotowano równocześnie najwyższą sumę opadów w całym okresie prowadzenia badań. W kolejnych latach pobierania próbek gleby stwierdzono obniżenie się aktywności badanych enzymów, przy jednoczesnym obniżaniu się miesięcznej sumy opadów.
6. Aktywność enzymatyczna badanej gleby charakteryzowała się dużą zmiennością w okresie wegetacyjnym roślin. Najwyższą aktywność dehydrogenaz, amylaz oraz alkalicznej fosfatazy stwierdzono w próbkach gleby pobranej w III terminie (czerwiec-lipiec). Natomiast aktywność katalazy i enzymów proteolitycznych była najwyższa w próbkach gleby pobranych w IV terminie (sierpień-październik). Stwierdzono wysoka aktywność katalazy glebowej w próbkach pobranych spod rzepaku ozimego w fazie rozety oraz po wschodach pszenicy ozimej. Świadczy to o znaczącej roli tego enzymu w trakcie kiełkowania nasion, jak i we wczesnym rozwoju młodych roślin.
7. Zróżnicowane nawożenie organiczno-mineralne stosowane przez 48-50 lat trwania doświadczenia na glebie płowej RZD Mochełek istotnie wpłynęło na ukształtowanie się poziomu aktywności badanych enzymów glebowych. Najwyższą aktywność badanych enzymów stwierdzono w próbkach gleby z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym z jednoczesnym uwzględnieniem wapnowania i dodatkiem magnezu. Natomiast nawożenie gleby wyłącznie w postaci nawozów mineralnych (NPK oraz NPK + Ca) zwykle powodowało spadek jej aktywności enzymatycznej.
8. Wieloletnie nawożenie organiczno-mineralne badanej gleby wywarło również istotny wpływ na ukształtowanie się wartości wskaźników charakteryzujących jej żyzność: BIF, EAN, M i B. Najwyższą wartość tych wskaźników stwierdzono w próbkach gleby pochodzącej z obiektów z pełnym nawożeniem organiczno-mineralnym. Nawożenie samym obornikiem również istotnie wpłynęło na zwiększenie się wartości tych

wskaźników, zwłaszcza Biologicznego Wskaźnika Żyzności oraz Mikrobiologicznego Wskaźnika Żyzności Gleby.

9. Wykazano istotny wpływ koniczyny czerwonej oraz jej resztek poźniwnych na stan żyzności badanej gleby. Wartości wszystkich wskaźników charakteryzujących żyzność gleby były zawsze najwyższe w próbkach pobranych spod koniczyny czerwonej. Zwłaszcza wartości wskaźników BIF i M były w próbkach tej gleby dużo wyższe, od tych jakie obliczono dla gleby spod pozostałych dwu roślin. Wartości biochemicznego wskaźnika (B) były zbliżone dla próbek gleby spod koniczyny czerwonej i rzepaku jarego, a zdecydowanie niższe dla gleby spod pszenicy ozimej.
10. Statystyczna analiza korelacji wykazała wysoce istotną i w większości dodatnią korelację pomiędzy aktywnością enzymatyczną, a innymi cechami badanej gleby, takimi jak zawartość C_{org} , N_{og} , przyswajalnych form Mg, P, K, Fe, Zn, Mn oraz wapnia wymiennego. Istotną korelację stwierdzono również pomiędzy aktywnością enzymatyczną a pH gleby i wysokością plonów dla poszczególnych roślin. Szczególnie wysoką korelację otrzymano dla aktywności proteaz i fosfatazy alkalicznej z badanymi chemicznymi właściwościami gleby.
11. Najwyższe wartości uzyskanych współczynników korelacji otrzymano dla wartości biochemicznego wskaźnika (B) i takich parametrów, jak N_{og} , P_{E-R} , oraz zawartość przyswajalnych form K i Fe. Wartości tego wskaźnika wysoce istotnie korelowały z zawartością C_{org} ($r = 0,94^*-0,97^*$) i Mg przyswajalnego ($r = 0,93^*$). Świadczy to o szczególnej przydatności tego wskaźnika do oceny stanu żyzności gleby, na którą to znamienne wpłynęły wszystkie czynniki jakie były uwzględniane w prowadzonym doświadczeniu.
12. Utworzone w oparciu o wartości biochemicznego wskaźnika B klasy żyzności gleb umożliwiły zaliczenie większości próbek gleb spod koniczyny czerwonej (obiekty 1, 5, 7-12) oraz spod rzepaku jarego (obiekty 5, 7-12) do gleb o średniej żyzności. Natomiast próbki gleby z większości obiektów, z wyjątkiem 13 i 14, pobrane spod pszenicy ozimej zaliczono do gleb o niskiej lub bardzo niskiej żyzności. Tylko gleba nawożona obornikiem i NPK z uwzględnieniem wapnowania i magnezu, pobrana spod koniczyny czerwonej została zaliczona do klasy o bardzo wysokiej żyzności.

7. Spis literatury

1. **Abrayman S.A.**, 1993. Variation of enzyme activity of soil under the influence of natural and anthropogenic factors. *Euras. Soil Sci.*, 25, 57-74.
2. **Acosta-Martinez V., Tabatabai M.A.**, 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils*, 31, 85-91.
3. **Adamus M., Kozłowska H., Mendrysiak J.**, 1976. Wpływ 16-letniego nawożenia obornikiem i nawozami uniwersalnymi na plonowanie roślin i zmiany właściwości gleby lekkiej. *Mat. Symp. 'Skutki wieloletniego stosowania nawozów'*, Puławy, 16-17. XI, 43-48.
4. **Albiach R., Canet R., Pomares F., Ingelmo F.**, 2001. Organic matter components, aggregate stability and biological activity in a horticultural soil fertilized with different rates of two sewage sludges during ten years. *Biores. Technol.*, 77, 109-114.
5. **Anderson T.H., Domach K.H.**, 1990. Application of ecophysiological quotients (qCO_2 and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.*, 22, 251-255.
6. **Badalucco L., Kuikman P.J., Nannipieri P.**, 1996. Protease and deaminase activities in wheat rhizosphere and their relation to bacterial and protozoan population. *Biol. Fertil. Soils*, 23, 99-104.
7. **Balicka N.**, 1983. Niektóre aspekty wzajemnego oddziaływania roślin i drobnoustrojów. *Post. Mikrobiol.*, 22, 1, 87-94.
8. **Baligar V.C., Wright R.J., Smedley M.D.**, 1991. Enzyme activities in appalachian soils: 4. Dehydrogenase. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 22, 17/18, 1797-1804.
9. **Baran S., Furczak J., Gostkowska K.**, 1996. Aktywność enzymatyczna gleby lekkiej użyźnionej odpadami organicznymi. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 437, 69-77.
10. **Barczak B., Cwojdzinski W., Nowak K.**, 1999. Wpływ nawożenia mineralnego i organicznego na niektóre właściwości gleby w statycznym doświadczeniu polowym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 467, cz. II, 177-183.
11. **Barriuso E., Pérez-Mateos M., González-Carcedo S.**, 1988. Actividad ureasa específica del suelo. *Agrochimica*, 32, 284-294.
12. **Beck T.**, 1984. Method and application domain of soil microbiological analysis at the Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau (LBP) in Munich for the determination of some aspects of soil fertility. *Proc. 5th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Bucharest, February, 13-20.
13. **Bielińska E.J.**, 1999. Enzymatic activity and organic carbon content in orchard soil. *Humic Subst. Environ.*, 1, 3/4, 9-14.

14. **Blagoveshchenskaya Z.K., Danchenko N.A.**, 1974. Activity of soil enzymes during long-term application of fertilization under continuous maize and crop of a farm crop rotation. *Pochvovedenie*, 10, 124-130.
15. **Blecharczyk A., Skrzypczak G., Małecka I.**, 1993. Effect of long-term organic and mineral fertilization on chemical properties and enzymatic activity of soil. *Proc. Symp. 'Long-term static fertilization experiments.'* Warszawa, Kraków, 15-18. VI, 167-176.
16. **Boratyński K.**, 1988. *Metody badań chemiczno-rolniczych*. W: *Chemia rolnicza*. Boratyński K. (red.), PWRiL, Warszawa.
17. **Bremner J. M., Zantua M. J.**, 1975. Enzyme activity in soils at subzero temperatures. *Soil Biol. Biochem.*, 7, 383-387.
18. **Burns R.G.**, 1978. Enzyme activity in soil: some theoretical and practical considerations. W: *Soil enzymes*. Burns R.G. (red.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 295-340.
19. **Burns R.G.**, 1983. Extracellular enzyme-substrate interaction in soil. W: *Microbes in their natural environments*. Slater H. (red.), Cambridge University Press, New York, 249-298.
20. **Canet R., Albiach R., Pomares F.**, 2000. Indexes of biological activity as tools for diagnosing soil fertility in organic farming. W: *Research and perspectives of soil enzymology in Spain*. Garcia C., Hernández T. (red.), Cebas – CSIC, Murcia, Spain, 27-39.
21. **Cervelli S., Nannipieri P., Sequi P.**, 1978. Interactions between agrochemicals and soil enzymes. W: *Soil enzymes*. Burns R.G. (red.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 251-293.
22. **Chander K., Dyckmans J., Joergensen R.G., Meyer B., Raubuch M.**, 2001. Different sources of heavy metals and their long-term effects on soil microbial properties. *Biol. Fertil. Soils*, 43, 241-247.
23. **Chhonkar P.K., Tarafdar J.C.**, 1984. Accumulation of phosphatases in soils. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 32, 266-272.
24. **Cieśla W., Pech K., Pawluczuk Z., Rzeźniowiecka-Sulimierska G.**, 1977. Wstępne badania nad aktywnością fosfatazy i ureazy w czarnoziemach kujawskich. *Zesz. Nauk ATR*, 44, Rolnictwo 3, 23-35.
25. **Cieśla W., Koper J.**, 1990. Wpływ wieloletniego nawożenia mineralno-organicznego na kształtowanie się poziomu fosforu organicznego i przyswajalnego oraz aktywność enzymatyczną gleby. *Rocz. Glebozn.*, 41, 3/4, 73-83.
26. **Colvan S.R., Syers J.K., O'Donnell A.G.**, 2001. Effect of long-term fertiliser use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland. *Biol. Fertil. Soils*, 34, 258-263.

27. **Czerska B., Miksch K., Matsche N., Franz A., 1998.** Zastosowanie pomiarów aktywności enzymatycznej w procesie biologicznej defosfatacji ścieków. *Arch. Ochr. Środ.*, 24, 2, 61-72.
28. **Dancău H., Boieriu I., Cremenescu G., Ceausu C., Papacostea P., 1984.** The influence of liming and fertilizing of some podzolic soils on their biological characteristics. *Proc. 5th Symposium on Soil Biology. Romanian National Society of Soil Science, Bucharest, February*, 81-86.
29. **Davies G., Sinnott M. L., Withers S.G., 1997.** Glycosyl transfer. W: *Comprehensive biological catalysis. A mechanistic reference. Reactions of electrophilic carbon, phosphorus and sulfur.* Sinnott M.L. (red.), Academic Press, London, 1, 119-209.
30. **Dąbkowska-Naskręt H., Urbanowski S., Malczyk P., 1999.** Zawartość całkowita i formy DTPA-ekstrahowane mikroskładników w glebie statycznego doświadczenia nawozowego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 471-484.
31. **Deng S.P., Tabatabai M.A., 1997.** Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biol. Fertil. Soils.*, 24, 141-146.
32. **Dick W.A., Juma N. G., Tabatabai M.A., 1983.** Effects of soils on acid phosphatase and inorganic pyrophosphatase of corn roots. *Soil Sci.*, 136, 1, 19-25.
33. **Dick W.A., Tabatabai M.A., 1984.** Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic waste materials. *Soil Sci.*, 137, 7-15.
34. **Dick W. A., Tabatabai M.A., 1993.** Significance and potential uses of soil enzymes. W: *Soil microbial ecology. Applications in agricultural and environmental management*, F. Blaine Metting, Jr. (red.), Marcel Dekker, New York, 95-127.
35. **Dick W.A., Tabatabai M.A., 1999.** Use of immobilized enzymes for bioremediation. *Bioremediation of contaminated soils.* Dick W.A. (red.), *Soil Sci. Soc. Am.*, 37, 315-337.
36. **Długosz J., Jaworska H., Malczyk P., 1999.** Charakterystyka pokrywy glebowej obszaru Stacji Badawczej w Mochelku. *Zesz. Nauk. ATR*, 217, *Rolnictwo* 43, 108-133.
37. **Doelman P., Haanstra L., 1989.** Short and long-term effects of heavy metals on phosphatase activity on soils. An ecological dose-response model approach. *Biol. Fertil. Soils*, 8, 235-241.
38. **Dormaar J.F., Johnston A., Smoliak S., 1984.** Seasonal changes in carbon content, and dehydrogenase, phosphatase, and urease activities in mixed prairie and fescue grassland Ah horizons. *J. Range Manage.*, 37, 1, 31-35.
39. **Drab M., Piontek M., 1999.** Aktywność enzymatyczna gruntów poeksploatacyjnych kruszywa budowlanego w Dobroszowie Wielkim w województwie zielonogórskim. *Arch. Ochr. Środ.*, 25, 4, 81-88.

40. **Dunford H.B.**, 1997. Heme enzymes. W: Comprehensive biological catalysis. A mechanistic reference. Radical reactions and oxidation/reduction. Sinnott M.L. (red.), Academic Press, London, 3, 195-238.
41. **Dziadowiec H.**, 1983. Ekologiczna rola próchnicy glebowej. *Rocz. Glebozn.*, 411, 269-282.
42. **Einland F.**, 1980. The effect of manure and NPK fertilizers on the soil microorganisms in a Danish long term field experiment. *Tidskrift for Planteavl.*, 5, 447-454.
43. **Eivazi F., Tabatabai M.A.**, 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 167-172.
44. **El-Shinnawi M. M., El-Shimi S. A.**, 1981. Enzyme activities in soil in relation to moisture content and salinity. *Zbl. Bakt. II. Abt.* 136, 471-477.
45. **Fauci M.F., Dick R.P.**, 1994. Microbial biomass as an indicator of soil quality: Effects of long-term management and recent soil amendments. W: Defining soil quality for a sustainable environment. Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicsek D.F., Steward B.A. (red.), SSSA, Special Publication 35, Madison, Wisconsin, 229-234.
46. **Ferens M., Morawińska B.**, 1984. Kwaśne fosfatazy roślin wyższych. *Post. Biochem.*, 30, 3/4, 461-475.
47. **Foster R.C., Dormaar J.F.**, 1991. Bacteria-grazing amoebae in situ in the rhizosphere. *Biol. Fertil. Soils*, 11, 83-87.
48. **Frankenberger W.T., Johanson J.B.**, 1982. Effect of pH on enzyme stability in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 14, 433-437.
49. **Frankenberger W.T., Dick W.A.**, 1983. Relationship between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 47, 5, 945-951.
50. **Gajda A.M., Martyniuk S., Stachyra A.M., Wróblewska B., Zięba S.**, 2000. Relations between microbiological and biochemical properties of soil under different agrotechnical conditions and its productivity. *Polish J. Soil Sci.*, 33, 2, 55-60.
51. **Galas E., Kalinowska H., Turkiewicz M.**, 1996. α -amylazy: struktura i mechanizm działania. *Biotechnologia*, 2, 33, 165-177.
52. **Galstian A. S.**, 1974. Enzymes activity of soils. *Geoderma*, 12, 43-48.
53. **Galstian A. S.**, 1982. Soil enzyme stability. *Pochvovedenie*, 2, 108-110.
54. **Garcia C., Hernández T.**, 1996. Influence of salinity on the biological and biochemical activity of a calciorthid soil. *Plant Soil*, 178, 255-263.
55. **Garrett R.H., Grisham C.M.**, 1995. Biochemistry. Field C. (red.), Saunders College Publishing, Harcourt Brace College Publishing, New York, 351-461.

56. **Gianfreda L., Bollag J.M.**, 1996. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. W: *Soil Biochemistry*. Stotzky G., Bollag J.M. (red.) Marcel Dekker, New York, 9, 123-193.
57. **Gliński J., Stępniewska Z., Kasiak A.**, 1983. Zmiany aktywności enzymatycznej gleb w warunkach zróżnicowanej zawartości tlenu i wilgotności. *Rocz. Glebozn.*, 43, 1/2, 53-59.
58. **Gładysiak S., Czekala J., Jakubus M.**, 1999. Wpływ wieloletniego zróżnicowanego odczynu gleby w uprawie monokulturowej ziemniaka na zawartość przyswajalnego fosforu, potasu i magnezu w glebie. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 383-390.
59. **Goian M., Goian M.**, 1977. The fertilizers and the activity of alkaline phosphatase in soil. *Proc. 4th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Cluj-Napoca, November, 217-220.
60. **Gołębiowska D., Grzyb-Mikłowska J.**, 1991. Kompleksy humus-enzym. I. Aktywność enzymatyczna gleb w świetle właściwości kompleksów humus-enzym. *Post. Nauk Rol.*, 4/5/6, 105-116.
61. **Gołębiowska J., Pędziwilk Z.**, 1984. CO₂ release as an index of biological activity of cultivated soils. *Acta Mikrobiol. Polon.*, 33, 3/4, 249-256.
62. **Gostkowska K., Furczak J., Domżał H., Bielińska E.J.**, 1998. Suitability of some biochemical and microbiological tests for the evaluation of the degradation degree of podzolic soil on the background of its differentiated usage. *Polish J. Soil Sci.*, 31, 2, 69-78.
63. **Informator ATR**, 1997. Stacja badawcza Wydziału Rolniczego Akademii Techniczno-Rolniczej W Mochelku, praca zbiorowa, WR, ATR Bydgoszcz (red.).
64. **Januszek K.**, 1993. Seasonal change of enzyme activity in mor, moder and mull humus of selected forest soils in the Western Beskid Mountains. *Fol. For. Pol.*, 35, 59-75.
65. **Januszek K.**, 1999. Aktywność enzymatyczna wybranych gleb leśnych Polski południowej w świetle badań polowych i laboratoryjnych. *Zesz. Naukowe AR Kraków, Rozprawy* 250.
66. **Jarecki M., Krzywy E.**, 1991. Kształtowanie się zawartości węgla i azotu oraz innych składników chemicznych w glebie pod wpływem wieloletniego nawożenia obornikiem i gnojowicą. *Rocz. Glebozn.*, 42, 3/4, 37-44.
67. **Joner E.J., Jakobsen I.**, 1995. Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 27, 9, 1153-1159.
68. **Juma N.G., Tabatabai M.A.**, 1977. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 343-346.
69. **Kabata-Pendias A., Pendias H.**, 1993. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. PWN, Warszawa.

70. **Kalembasa St., Kalembasa D.**, 1990. Działanie azotu zawartego w gnojowicy trzody chlewnej i bydła na plon i skład chemiczny wybranych roślin. *Rocz. Nauk Rol.*, 109, 145-167.
71. **Kandeler E., Eder G.**, 1993. Effect of cattle slurry in grassland on microbial biomass and on activities of various enzymes. *Biol. Fertil. Soils*, 16, 249-254.
72. **Kandeler E., Tscherko D., Spiegel H.**, 1999. Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a chernozem under different tillage management. *Biol. Fertil. Soils*, 28, 343-351.
73. **Kang H., Freeman C.**, 1999. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: annual variation and controlling factors. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 449-454.
74. **Kaniuczak J., Gąsior J., Woźniak L.**, 1999. Wpływ wieloletniego nawożenia mineralnego i wapnowania na zawartość przyswajalnego fosforu w glebie lessowej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 251-260.
75. **Kieliszewska-Rokicka B.**, 2001. Enzymy glebowe i ich znaczenie w badaniach aktywności mikrobiologicznej gleby. W: *Drobnoustroje środowiska glebowego, aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne*. Dahm H., Pokojńska-Burdziej A. (red.), Wyd. Adam Marszałek, Toruń, 37-55.
76. **Kiss S., Drăgan-Bularda M.**, 1977. Influence of enzyme substrates on microbial production of polysaccharides in soil.: *Proc. 4th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Cluj-Napoca, November, 29-51.
77. **Kiss S., Drăgan-Bularda M., Rădulescu D.**, 1978. Soil polysaccharidases: activity and agricultural importance. W: *Soil enzymes*. Burns R.G. (red.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 117-146.
78. **Kobus J.**, 1995. Biologiczne procesy a kształtowanie żyzności gleby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 421a, 209-219.
79. **Koper J., Piotrowska A.**, 1996. Aktywność enzymatyczna gleby płowej w zależności od uprawy roślin w zmianowaniu i monokulturze. *Rocz. Glebozn.*, 47, 3/4, 89-100.
80. **Koper J., Piotrowska A., Urbanowski S.**, 1999. Changes of soil enzymatic activity caused by a long-term organic-mineral fertilization during plant vegetation. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 495-504.
81. **Kowaliński S.**, 1995. Żyzność gleby. W: *Gleboznawstwo rolnicze*. Dobrzański B., Zawadzki S. (red.), PWRiL, Warszawa.
82. **Kretowicz W.L.**, 1971. Wstęp do enzymologii. PWRiL, Warszawa.
83. **Kucharski J., Niklewska T.**, 1991. The effect of manuring with straw and of introducing groups of microorganisms on the microbiological properties of light soil. *Polish J. Soil Sci.*, 24, 2, 171-177.

84. **Kucharski J., Niklewska-Larska T.**, 1992. Wpływ substancji organicznej i niektórych grup drobnoustrojów na liczebność i aktywność mikroorganizmów. III. Aktywność enzymów. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst., Agricultura* 54, 33-41.
85. **Kucharski J., Nowicki J., Wanic M.**, 1996. Wpływ różnego udziału roślin zbożowych na aktywność enzymatyczną gleby. *Acta Acad. Agricult. Tech. Olst., Agricultura* 63, 77-84.
86. **Kucharski J.**, 1997. Relacje między aktywnością enzymów a żyznością gleby. W: *Drobnoustroje w środowisku – występowanie, aktywność i znaczenie*. Barabasz W. (red.), AR Kraków, 327-347.
87. **Kucharski J., Wyszowska J., Nowak G., Harms H.**, 2000. Activity of enzymes in soil treated with sewage sludge. *Polish J. Soil Sci.*, 33, 1, 29-36.
88. **Kuperman R.G., Carreiro M.M.**, 1997. Soil heavy metal concentrations, microbial biomass and enzyme activities in a contaminated grassland ecosystem. *Soil Biol. Biochem.*, 29, 2, 179-190.
89. **Kuprewicz V.F., Shcherbakova T. A.**, 1971. Comparative enzymatic activity in diverse types of soil. W: *Soil biochemistry*. McLaren D., Skujins J. (red.), Marcel Dekker, New York, 2, 167-201.
90. **Kuszeleski L., Łabętowicz J.**, 1986. Współdziałanie nawożenia mineralnego i organicznego w kształtowaniu żyzności gleby. *Rocz. Glebozn.*, 37, 411-419.
91. **Ladd J.N., Butler J.A.H.**, 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 4, 1, 19-30.
92. **Ladd J.N., Butler J.A.H.**, 1975. Humus-enzyme systems and synthetic, organic polymer-enzyme analogs. *Soil Biochem.*, 4, 143-194.
93. **Ladd J.N.**, 1978. Origin and range of enzymes in soil. W: *Soil enzymes*. Burns R.G. (red.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 51-96.
94. **Ladd J.N., Foster R.C., Nannipieri P., Oades J.M.**, 1996. Soil structure and biological activity. W: *Soil Biochemistry*, Marcel Dekker, New York, 9, 23-78.
95. **Lähdesmäki P., Piispanen R.**, 1992. Soil enzymology: role of protective colloid system in the preservation of exoenzyme activities in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 24, 11, 1173-1177.
96. **Leirós M. C., Trasar-Cepeda C., Garcia-Fernández F., Gil-Sotres F.**, 1999. Defining the validity of a biochemical index of soil quality. *Biol. Fertil. Soils*, 30, 140-146.
97. **Leszczyński W.**, 2001. Zróżnicowanie właściwości skrobi. *Przem. Spoż.*, 3, 38-39.
98. **Lityński T., Jurkowska H.**, 1982. Żyzność gleby i odżywianie się roślin. PWN, Warszawa.

99. **Loll M.L., Bollag J. M.**, 1980. Protein transformation in soil. *Adv. Agron.*, 36, 351-382.
100. **Łabętowicz J., Szulc W.**, 1999. Nawożenie jako czynnik determinujący glebowe zasoby magnezu przyswajalnego w glebie lekkiej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 403-409.
101. **Łoginow W.**, 1989. Gospodarka substancją organiczną w warunkach intensywnej produkcji rolnej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 380, 253-242.
102. **Marchiori M., DeMelo W.J., Chelli R.A., Leite S.A.S.**, 1998. Total soil nitrogen, nitrogen in the microbial biomass and enzyme activity in a soil under different types of use. *Proc. 16th World Congress of Soil Science, Montpellier, France, 20-26 August, CD. ROM.*
103. **Margesin R., Schinner F.**, 1994. Phosphomonoesterase, phosphodiesterase, phosphotriesterase, and inorganic pyrophosphatase activities in forest soils in an alpine area: effect of pH on enzyme activity and extractability. *Biol. Fertil. Soils*, 18, 320-326.
104. **Martens D.A., Johanson J. B., Frankenberger W.T.**, 1992. Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Sci.*, 153, 1, 53-61.
105. **Martyniuk S., Stachyra A., Wróblewska B., Zięba S.**, 1997. Związki pomiędzy mikrobiologicznymi i enzymatycznymi właściwościami gleby a plonami ziemniaków. W: *Drobnoustroje w środowisku – występowanie, aktywność i znaczenie*. Barabasz W. (red.), AR Kraków, 439-448.
106. **Martyniuk S., Zięba S., Maćkowiak Cz.**, 1998. Zależność pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a plonami jęczmienia jarego w wieloletnim doświadczeniu polowym. *Zesz. Nauk. AR Wrocław*, 332, 31-37.
107. **Masciandaro G., Ceccanti B., Gallardo-Lancho J.F.**, 1998. Organic matter properties in cultivated versus set-aside arable soils. *Agric. Ecosyst. Environ.*, 67, 267-274.
108. **Mazur T., Sądej W.**, 1999. Działanie wieloletniego nawożenia obornikiem, gnojowicą i nawozami mineralnymi na plon roślin i białka. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 181-194.
109. **Moore A., Russel J.S.**, 1972. Factors affecting dehydrogenase activity as an index of soil fertility. *Plant Soil*, 37, 675-682.
110. **Murray R. K., Granner D. K., Mayes P. A., Rodwell V. W.**, 1994. *Biochemia Harpera*. PZWL, Warszawa.
111. **Myśków W., Tobolska H.**, 1965. Aktywność biologiczna gleby w czasie rozkładu w niej resztek roślin. *Pam. Puł.*, 18, 351-365.
112. **Myśków W.**, 1981. Próby wykorzystania wskaźników aktywności mikrobiologicznej do oceny żyzności gleby. *Post. Mikrobiol.*, 20, 3/4, 173-192.

113. **Myśków W., Stachyra A., Zięba S., Wasiak D.**, 1996. Aktywność biologiczna gleby jako wskaźnik jej żyzności i urodzajności. *Rocz. Glebozn.*, 47, 1/2, 89-99.
114. **Nagaraja M.S., Parama V.R.R., Srinivasamurthy C.A., Siddaramappa R., Suseela-Devi L., Lalitha B.S.**, 1998. Soil biological processes: Seasonal changes in natural and man made ecosystems. *Proc. 16th World Congress of Soil Science*, Montpellier, France, 20-26 August, CD. ROM.
115. **Nakas J.P., Gould W.D., Klein D.A.**, 1987. Origin and expression of phosphatase activity in a semi-arid grassland soil. *Soil Biol. Biochem.*, 19, 1, 13-18.
116. **Nannipieri P.**, 1994a. Enzyme activity. W: *The encyclopaedia of soil science of technology*. Finke C.W (red.), Van Nostrand Reinhold, New York, 106-128.
117. **Nannipieri P.**, 1994b. The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. W: *Soil biota. Management in sustainable farming systems*. Pankhurst C. E., Doube B. M., Gupta V. V. S. R., Grace P. R. (red.), CSIRO Australia, 238-244.
118. **Nannipieri P., Sequi P., Fusi P.**, 1996. Humus and enzyme activity. W: *Humic substances in terrestrial ecosystems*. Piccolo A. (red.), Elsevier Sci. B.V. Amsterdam, New York, Tokyo, 293-328.
119. **Neal J. L.**, 1990. Phosphatase enzyme activity at subzero temperatures in arctic tundra soils. *Soil Biol. Biochem.*, 22, 6, 883-884.
120. **Nigam P., Singh D.**, 1995. Enzyme and microbial systems involved in starch processing. *Enzyme Microb. Technol.*, 17, 770-778.
121. **Pacha J.**, 1984. Relacje między mikroorganizmami, enzymami, materią organiczną i koloidami glebowymi oraz ekologiczne znaczenie tych procesów. *Post. Mikrobiol.* 23, 2, 91-107.
122. **Panak H., Wojnowska T., Sienkiewicz S.**, 1990. Działanie obornika i nawozów mineralnych na żyzność i produktywność gleby. *Zesz. Nauk. AR Wrocław, Rolnictwo* 53, 196, 149-159.
123. **Pancholy S.K., Rice E.L.**, 1973. Soil enzyme in relation to old field succession: amylase, cellulase, invertase, dehydrogenase and urease. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 37, 47-50.
124. **Patzel N., Sticher H., Karlen D.L.**, 2000. Soil fertility – phenomenon and concept. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 163, 129-142.
125. **Paul E.A., Clark F.E.**, 2000. Mikrobiologia i biochemia gleb. M. Jędrych (red.), Wydawnictwo Uniwersytetu M. Curie-Skłodowskiej, Lublin.
126. **Penner-Hahn J.E.**, 1997. Manganese metalloenzymes. W: *Comprehensive biological catalysis. A mechanistic reference. Radical reactions and oxidation/reduction*. Sinnott M.L. (red.), Academic Press, London, 3, 439-459.

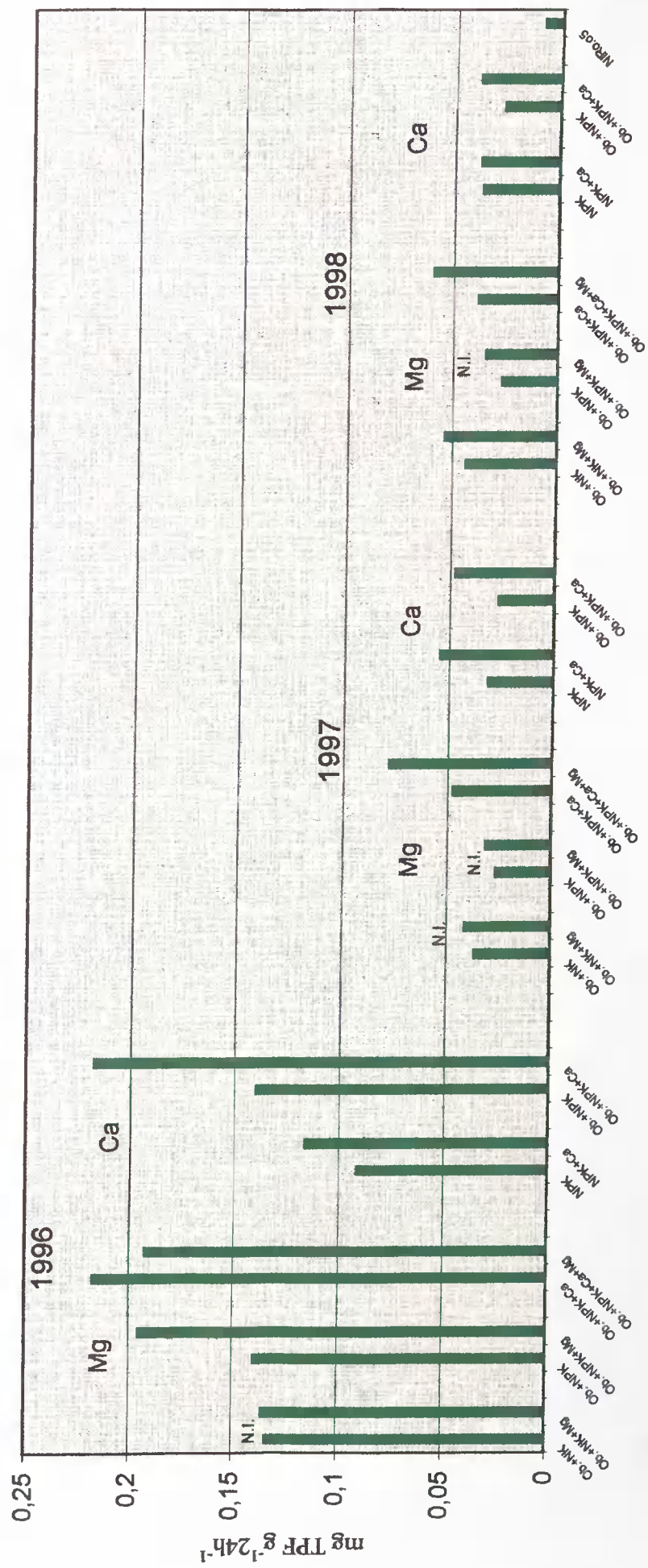
127. **Perez-Mateos M., Gonzalez-Carcedo S.**, 1987. Effect of silver, cadmium and lead on soil enzyme activity. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 24, 1, 11-18.
128. **Perruci P., Scarponi L., Businelli M.**, 1984. Enzyme activities in a clay-loam soil amended with various crop residues. *Plant Soil*, 81, 345-351.
129. **Rabikowska B.**, 1999. Nagromadzenie miedzi, manganu i cynku przez kukurydzę w warunkach wieloletniego zróżnicowanego nawożenia obornikiem i azotem mineralnym. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 205-217.
130. **Ram H., Singh B. N., Prasad J.**, 1985. Seasonal variations in enzymatic activity in cultivated, pond and virgin soils. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 33, 805-810.
131. **Rastin N., Rosenplänter K., Hüttermann A.**, 1988. Seasonal variation of enzyme activity and their dependence on certain soil factors in a beech forest soil. *Soil Biol. Biochem.*, 20, 637-642.
132. **Remeiko I.N., Dubovenko E.K., Ulasevich E.I.**, 1968. Biochemical activity of microorganisms in sod-podzolic soil as influenced by different techniques of land cultivation. *Sb. Dokl. Simp. Ferment. Pochvy, Mińsk*, 309-320.
133. **Ritz K., Giffiths B.S., Wheatley R.E.**, 1992. Soil microbial biomass and activity under a potato crop fertilized with N, with and without C. *Biol. Fertil. Soils*, 12, 265-271.
134. **Rogers J.E., Li S.W.**, 1985. Effect of metals and other inorganic ions on soil microbial activity: soil dehydrogenase assay as a simple toxicity test. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 43, 858-865.
135. **Ross D.J.**, 1965. A seasonal study of oxygen uptake of some pasture soils and activities of enzymes hydrolysing sucrose and starch. *J. Soil Sci.*, 16, 73-85.
136. **Ross D.J.**, 1977. Protease activity, and its relationship to nitrogen mineralisation, in some soils under pasture and tussock grassland. *New Zeal. J. Sci.*, 20, 179-185.
137. **Ross D.J.**, 1983. Assays of invertase and amylase activities in soil. 2. Influence of pH with soils and plant materials from tussock grasslands. *New Zeal. J. Sci.*, 26, 347-355.
138. **Rossel D., Tarradellas J., Bitton G., Morel J.L.**, 1997. Use of enzymes in soil ecotoxicology: a case for dehydrogenase and hydrolytic enzymes. W: *Soil ecotoxicology*. Tarradellas J., Bitton G., Rossel D. (red.) Lewis Publishers CRC Press, 179-206.
139. **Runowska-Hrynczuk B.**, 1992. Przydatność wskaźników aktywności biologicznej gleby do oceny stanu jej żyzności. *Pam. Puł.*, 100, 187-200.
140. **Rusan M., Stefanic G., Vitalariu C.**, 1977. Fertilization effect of soil dehydrogenase activity in a pasture from the Plateau of Suceava. *Proc. 4th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Cluj-Napoca, November, 209-216.
141. **Russel S.**, 1974. *Drobnoustroje a życie gleby*. PWN, Warszawa.
142. **Sandaa R.A., Enger T.**, 2001. Influence of long-term heavy-metals contamination on microbial communities in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 33, 287-295.

143. **Sapek B.**, 2001. Zagadnienie potasu w świetle oddziaływania rolnictwa na środowisko. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 476, 281-292.
144. **Saviozzi A., Levi-Minzi R., Cardelli R., Riffaldi R.**, 2001. A comparison of soil quality in adjacent cultivated, forest and native grassland soils. *Plant Soil*, 233, 251-259.
145. **Schinner F.A., Niederbacher R., Neuwinger I.**, 1980. Influence of compound fertilizer and cupric sulfate on soil enzymes and CO₂-evolution. *Plant Soil*, 57, 85-93.
146. **Semenov V.A., Levina V.I., Veselkina R.V., Chunderova A.I., Chubarov A.P., Berezovski V.A.**, 1974. Changes in properties of sod-podzolic soils under the influence of various systems of fertilization in crop rotation. *Nauch. Tr., Sev. Zap. Nauch. Issled., Inst. Sel. Khoz.*, 29, 38-59.
147. **Silva E.T., Melo W.J., Teixeira S.T., Cheli R.A., Leite S.A.S.**, 1998. Soil protease activity and nitrogen availability to sorghum. *Proc. 16th World Congress of Soil Science*, Montpellier, France, 20-26 August, CD. ROM.
148. **Skujins J.J.**, 1967. Enzymes in soil. W: *Soil Biochemistry*, McLaren A.D., Peterson G.H (red.), Marcel Dekker, INC, New York, 1, 371-414.
149. **Šlimek M., Hopkins D.W., Kalčík J., Piecek T., Šantručková H., Staňa J., Trávník K.**, 1999. Biological and chemical properties of arable soils affected by long-term organic and inorganic fertilizer applications. *Biol. Fertil. Soils*, 29, 300-308.
150. **Smyk B.**, 1984. Mikroorganizmy a produktywność biologiczna gleb. *Studia Ośr. Dokum. Fizjol.*, 12, 49-95.
151. **Speir T.W., Cowling J.C.**, 1991. Phosphatase activities of pasture plants and soils: Relationship with plant productivity and soil P fertility indices. *Biol Fertil. Soils*, 12, 189-194.
152. **Speir T.W., Ross D.J.**, 1978. Soil phosphatase and sulphatase. W: *Soil enzymes*. Burns R.G. (red.), Academic Press, London, New York, San Francisco, 198-250.
153. **Stanisławska-Głubiak E., Wróbel S.**, 1999. Kształtowanie się właściwości chemicznych gleby lekko w warunkach wieloletniego nawożenia mineralnego lub organicznego. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 467, 225-231.
154. **Stefanic G.**, 1977. Influence of irrigation on soil enzymatic activities. *Proc. 4th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Cluj-Napoca, November, 203-215.
155. **Stefanic G., Eliade G., Chirogeanu I.**, 1984. Researches concerning a biological index of soil fertility. *Proc. 5th Symposium on Soil Biology*. Romanian National Society of Soil Science, Bucharest, February, 35-45.
156. **Strączyński S.**, 1999. Stan zakwaszenia i potrzeby wapnowania gleb w Polsce. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 467, 527-532.

157. **Stryer L.**, 1997. *Biochemia*. PWN, Warszawa.
158. **Sytnik K.M., Kniga N.M., Musatienko L.I.**, 1977. *Fizjologia korzenia*. PWRiL, Warszawa.
159. **Szkolnik M.**, 1980. *Mikroelementy w życiu roślin*. PWRiL, Warszawa.
160. **Szulc W.**, 1999. Wpływ współdziałania nawożenia obornikiem i nawozami mineralnymi (Ca, N, P, K) na zawartość magnezu w roślinach i w glebie w trwałym doświadczeniu na glebie lekkiej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 159-167.
161. **Szulc W., Łabętowicz J., Kuszelewski L.**, 1999. Zmiany ilościowe próchnicy i jej frakcji pod wpływem wieloletniego nawożenia mineralnego i organicznego w glebie lekkiej. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 465, 303-309.
162. **Ścigalska B., Klima K.**, 1997. Zależność między aktywnością celulolityczną gleby górskiej i plonowaniem uprawianych roślin. *Rocz. Glebozn.*, 47, 1/2, 39-48.
163. **Tabatabai A.M., Bremner J.M.**, 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301-307.
164. **Tabatabai M. A.**, 1994. Soil enzymes. *Methods of soil analysis*, 2. Microbiological and biochemical properties. Dick W.A. (red.), *Soil Sci. Soc. Am.*, 5, 775-833.
165. **Tadano T., Sakai H.**, 1991. Secretion of acid phosphatase by roots of several crop species under phosphorus-deficient conditions. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 37, 129-140.
166. **Tarafdar J.C., Claassen N.**, 1988. Organic phosphorus compounds as a phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant roots and microorganisms. *Biol. Fertil. Soils*, 5, 308-312.
167. **Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., Burns R.G.**, 2002. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem.*, 43, 378-401.
168. **Thalmann A.**, 1968. Zur Methodik derestimmung der Dehydrogenaseaktivität in Boden mittels Triphenytetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.*, 21, 249-258.
169. **Trasar-Cepeda C., Gil-Sotres F.**, 1988. Kinetics of acid phosphatase activity in various soils of Galicia (NW Spain). *Soil Biol. Biochem.*, 20, 275-280.
170. **Trasar-Cepeda C., Carballas T.**, 1991. Liming and the phosphatase activity and mineralization of phosphorus in an Andic soil. *Soil Biol. Biochem.*, 23, 3, 209-215.
171. **Trasar-Cepeda C., Leiros M. C., Garcia-Hernandez F., Gil-Sotres F.**, 2000. Biochemical properties of the soil of Galicia (N.W. Spain): their use as indicators of soil quality. W: *Research and perspectives of soil enzymology in Spain*. Garcia C., Hernandez (red.). Cebas – CSIC, Murcia, Spain, 175-206.
172. **Trasar-Cepeda C., Leiros M. C., Gil-Sotres F., Seoane S.**, 1998. Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. *Biol. Fertil. Soils*, 26, 100-106.

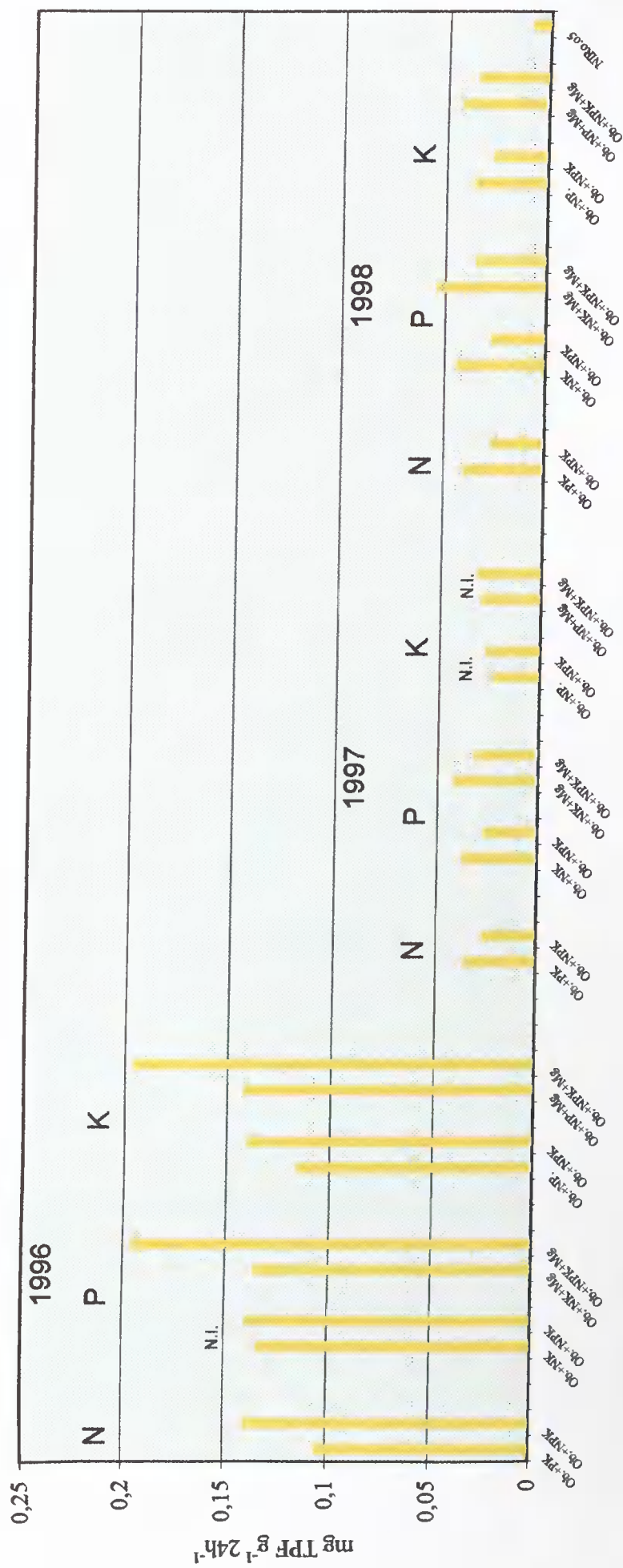
173. **Trevors J.T.**, 1984. Effect of substrate concentration, inorganic nitrogen, O₂ concentration, temperature and pH on dehydrogenase activity in soil. *Plant Soil*, 77, 285-293.
174. **Trojanowski J.**, 1973. *Przemiany substancji organicznych w glebie*. PWRiL, Warszawa.
175. **Turski R., Słowińska-Jurkiewicz A.**, 1992. *Systematyka gleb Polski. Przewodnik metodyczny dla studentów akademii rolniczych*. Wydawnictwo AR, Lublin.
176. **Tyler G.**, 1981. Heavy metals in soil biology and biochemistry. W: *Soil Biochemistry*. Paul E.A., Ladd J.N. (red.), Marcel Dekker, New York, 5, 371-414.
177. **Verstraete W., Voets J.P.**, 1977. Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 253-258.
178. **Vlasyuk P.A., Lisoval A.**, 1978. Effect of plants and fertilizers on the activity of some enzymes in soil. *Pochvovedenie*, 21, 10-23.
179. **Vourinen A.H., Saharinen M.H.**, 1996. Effects of soil organic matter extracted from soil on acid phosphomonoesterase. *Soil Biol. Biochem.*, 28, 10/11, 1477-1481.
180. **Watanabe K., Asakawa S., Hayano K.**, 1994. Evaluation of extracellular protease activities of soil bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, 26, 4, 479-482.
181. **Watanabe K., Hayano K.**, 1994. Estimate of the source of soil protease in upland fields. *Biol. Fert. Soils*, 18, 341-346.
182. **Watanabe K., Hayano K.**, 1995. Seasonal variations of soil protease activities and their relation to proteolytic bacteria and *Bacillus spp.* in paddy field soil. *Soil Biol. Biochem.* 27, 2, 197-203.
183. **Wharton C.W.**, 1997. The Serine Proteinases. W: *Comprehensive biological catalysis. A mechanistic reference. Reactions of electrophilic carbon, phosphorus and sulfur*. Sinnott M.L. (red.), Academic Press, London, 1, 345-380.
184. **Wiśniewski J., Bielińska E. J.**, 1998. Wpływ stosowania nawozu wieloskładnikowego na aktywność enzymatyczną i zawartość mineralnych form azotu w glebie pod uprawą tytoniu. *Fol. Univ. Agric. Stetin.*, 190, *Agricultura* 72, 343-348.
185. **Włodarczyk T.**, 1998. Effect of sampling season and storage period on dehydrogenase and catalase activity of an orthic luvisol. *Polish J. Soil Sci.*, 31, 2, 59-76.
186. **Zvyagintsev D.G.**, 1980. Methods for soil biological activity determination. W: *Methods in soil microbiology and biochemistry*. Zvyagintsev D.G. (red.), Moscow University Press, 130-168.

A n e k s



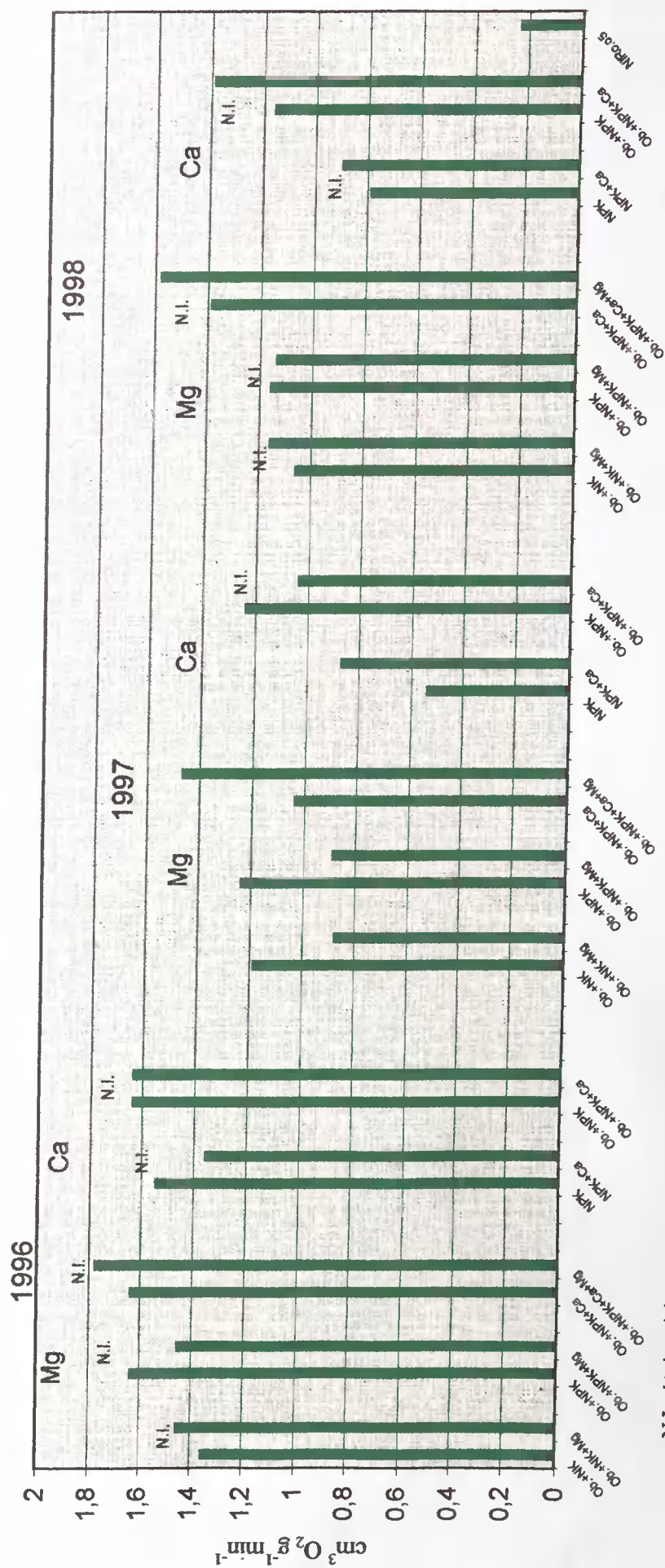
N.I. różnica nieistotna

Rys. 2. Wpływ zastosowania magnezu w nawożeniu i wapnowania gleby na aktywność dehydrogenaz



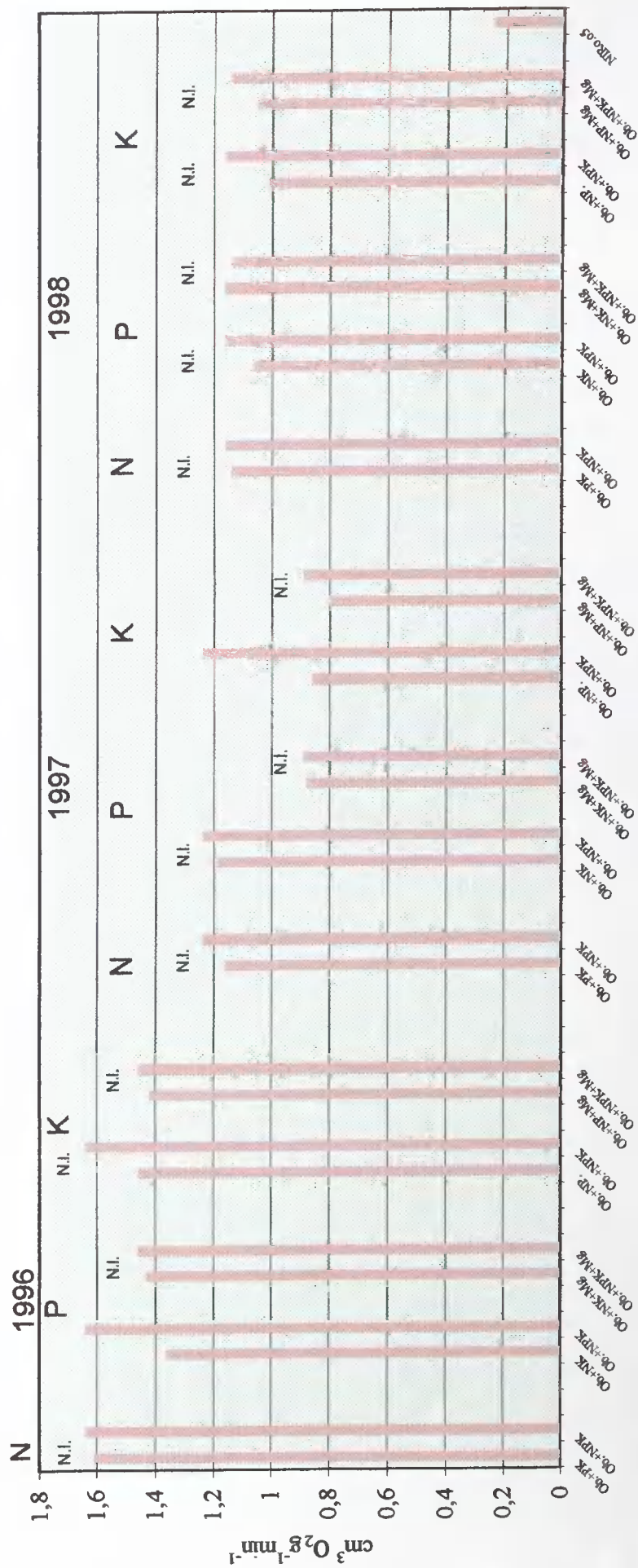
N.I. różnica nieistotna

Rys. 3. Wpływ nawożenia mineralnego (NPK) gleby na aktywność dehydrogenaz



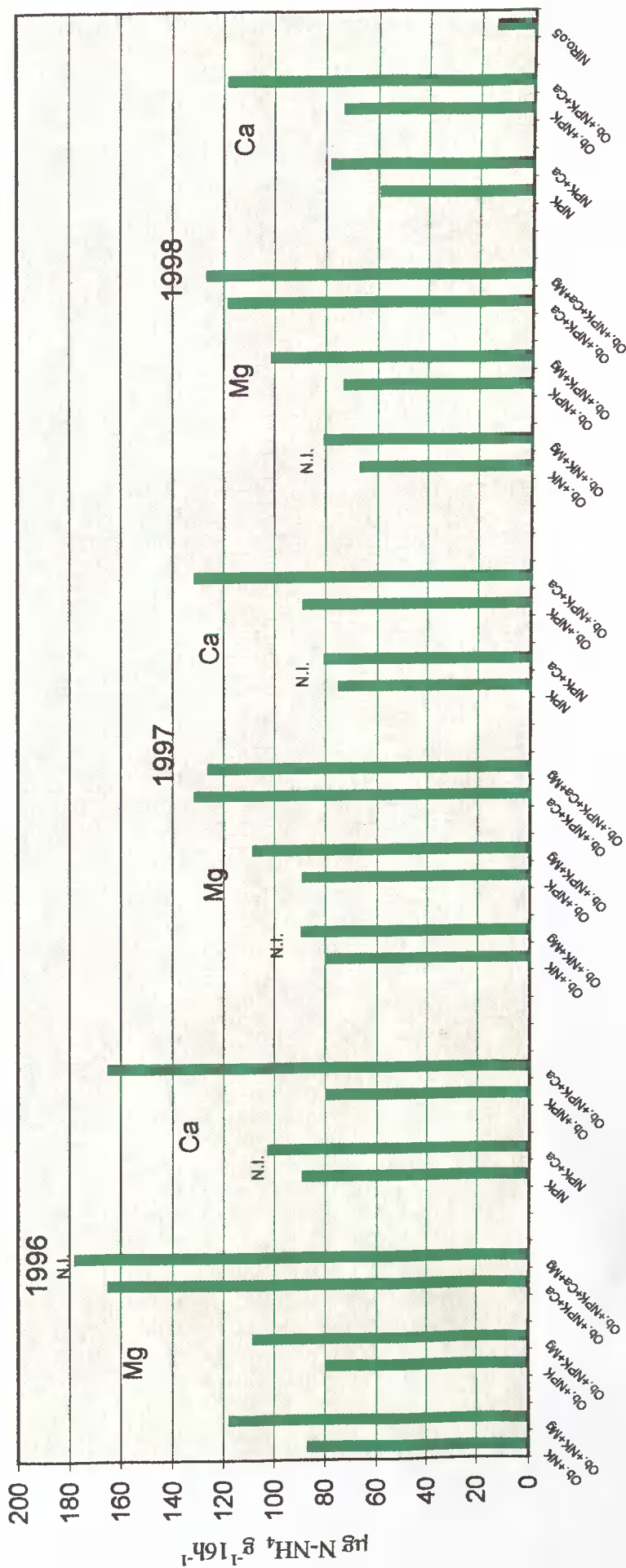
N.I. różnica nieistotna

Rys. 4. Wpływ zastosowania magnezu w nawożeniu i wapnowania gleby na aktywność katalazy

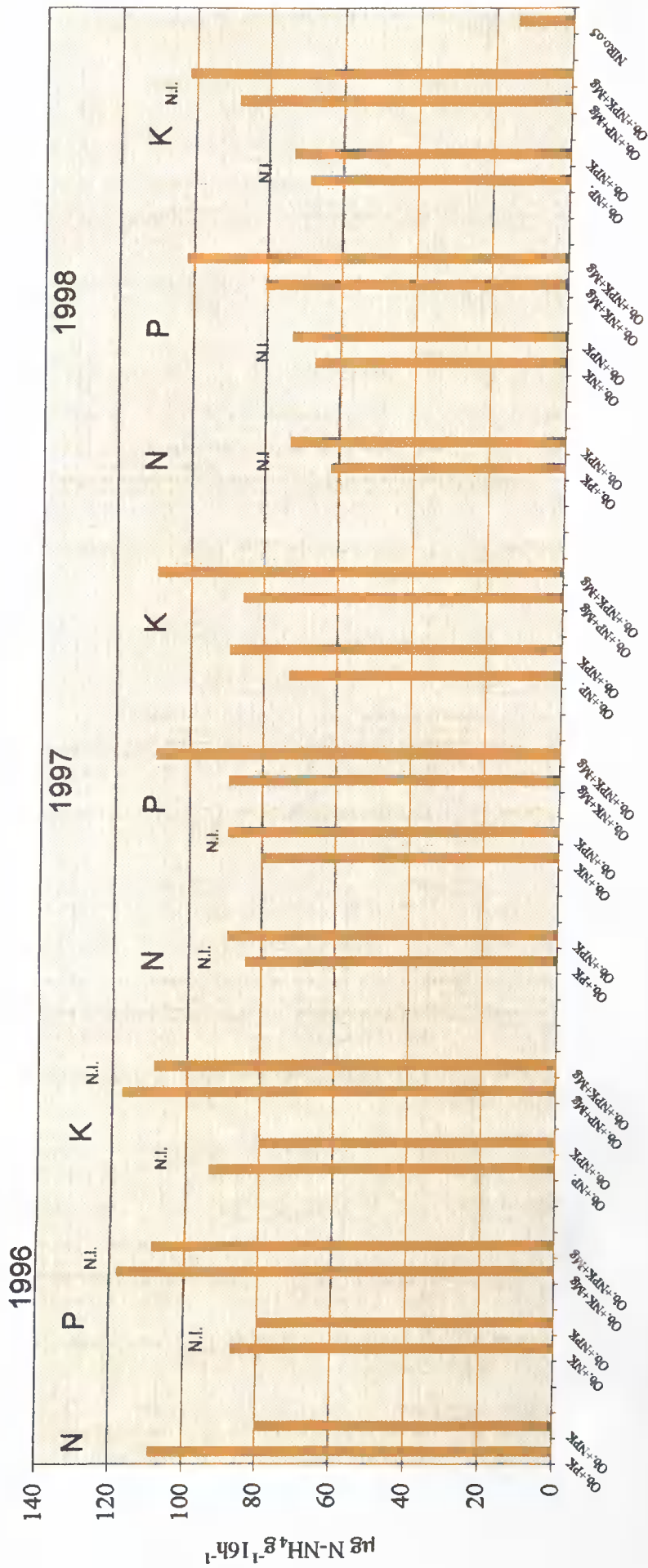


N.I. różnica nieistotna

Rys. 5. Wpływ nawożenia mineralnego (NPK) gleby na aktywność katalazy

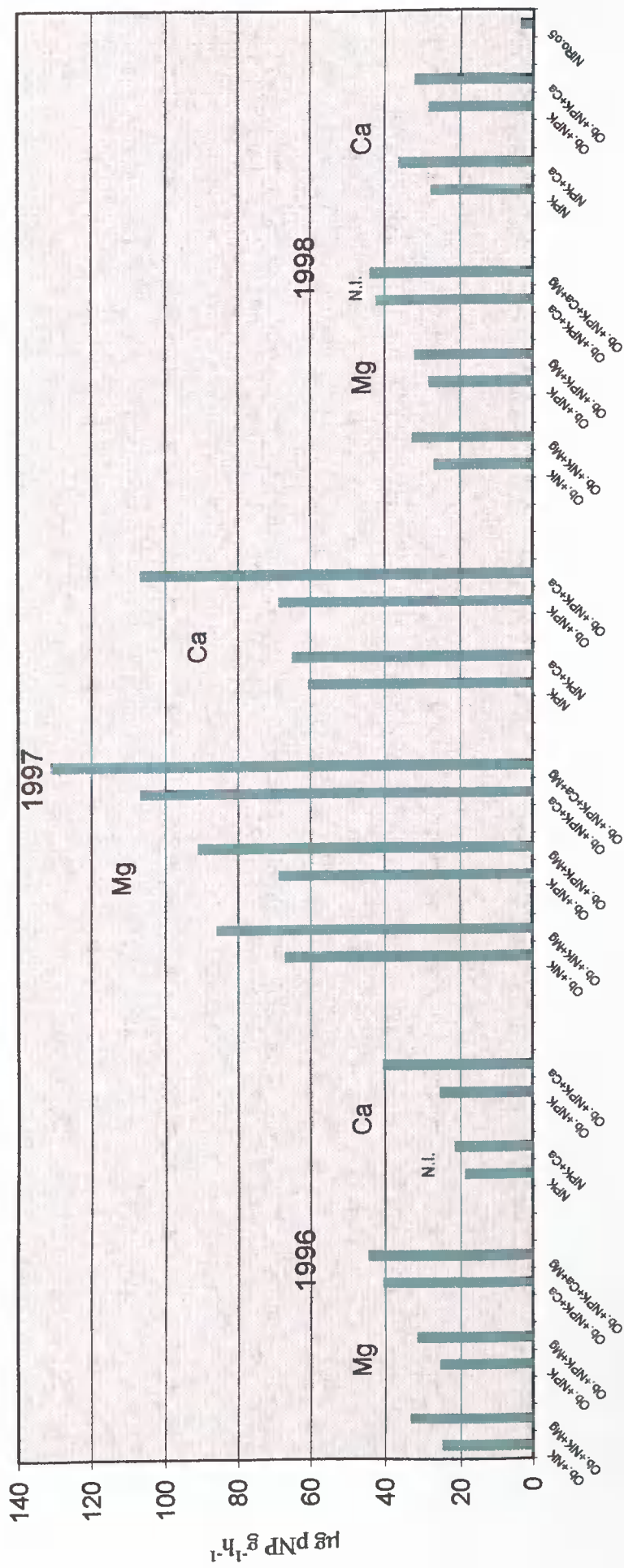


Rys. 8. Wpływ zastosowania magnezu w nawożeniu i wapnowania gleby na jej aktywność proteolityczną



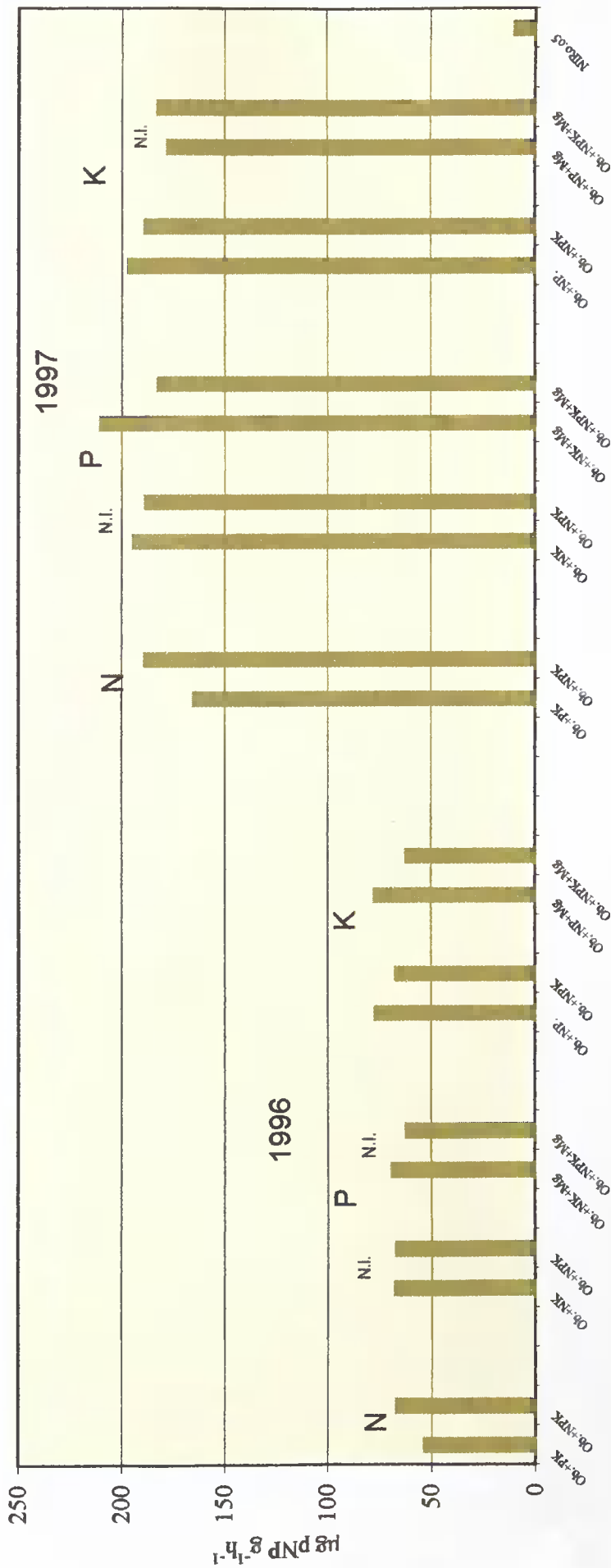
N.I. różnica nieistotna

Rys. 9. Wpływ nawożenia mineralnego (NPK) gleby na jej aktywność proteolityczną



N.I. różnica nieistotna

Rys. 10. Wpływ zastosowania magnezu w nawożeniu gleby oraz wapnowania na aktywność fosfatazy alkalicznej



N.I. różnica nieistotna

Rys. 13. Wpływ nawożenia mineralnego (NPK) gleby na aktywność fosfatazy kwasnej

Tabela 6. Plony roślin ($t\ ha^{-1}$) uprawianych w zmianowaniu w latach 1996-1998

Obiekty nawozowe	Rośliny - lata			
	Koniczyna czerwona - 1996		Rzepak jary - 1997	
	I pokos	II pokos	nasiona	ziarno słoma
1. 'O'	13,44	26,76	0,89	1,65 1,22
2. Słoma + NPK	8,78	13,78	1,12	1,04 3,20
3. NPK + Ca	13,48	27,95	2,12	4,07 3,31
4. NPK	7,00	12,35	0,80	0,75 3,10
5. Ob.	11,66	24,08	1,41	1,69 1,85
6. Ob. + PK	12,80	28,37	1,64	2,82 2,18
7. Ob. + NK	13,43	17,74	1,08	0,58 2,24
8. Ob. + NK + Mg	10,47	16,85	1,23	0,80 2,88
9. Ob. + NP	10,12	18,98	1,63	2,16 3,64
10. Ob. + NP + Mg	10,24	20,27	1,77	2,26 3,18
11. Ob. + NPK	10,40	21,30	1,73	1,96 3,34
12. Ob. + NPK + Mg	10,64	24,15	2,42	3,33 3,50
13. Ob. + NPK + Ca	14,92	34,84	2,67	5,25 4,02
14. Ob. + NPK + Ca + Mg	17,09	38,08	2,68	4,93 3,42

Biblioteka Główna ATR
w Bydgoszczy

CZYT	D 224
------	-------