

AKTYWNOŚĆ ENZYMÓW BIORĄCYCH UDZIAŁ  
W MINERALIZACJI AZOTU ORGANICZNEGO W GLEBIE  
POD RÓŻNYMI ROŚLINAMI\*

*Andrzej I. Wyczółkowski, Małgorzata Dąbek-Szreniawska, Andrzej Bieganowski,  
Agnieszka Zimon*

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin  
e-mail: a.bieganowski@ipan.lublin.pl

**Streszczenie.** Celem pracy było porównanie aktywności enzymów biorących udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie pólowej wykorzystywanej pod uprawę pszenicy ozimej i jarej, rzepaku ozimego oraz łubinu białego w różnych okresach sezonu wegetacyjnego. Stwierdzono, że aktywność badanych enzymów i procesów jest różna w różnych okresach wzrostu i rozwoju roślin i zależy od klasy (jednoliścienne czy dwuliścienne) rośliny. Ponadto przeprowadzone badania nie pozwalają na wskazanie enzymu biorącego udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie, którego można by używać jako wskaźnika aktywności w okresie wegetacyjnym roślin.

**Słowa kluczowe:** gleba, aktywność enzymów, mineralizacja azotu, aktywność mikrobiologiczna, mikrobiologia

WSTĘP

Mineralizacja azotu w cyklu obiegu tego pierwiastka w przyrodzie jest niezwykle istotna ze względu na możliwość pobierania go przez korzenie roślin. Proces mineralizacji (amoniifikacji) może przebiegać w bardzo różnych warunkach panujących (określonym między innymi dostępnością tlenu) w środowisku glebowym. Jest to możliwe, dzięki różnorodnym grupom drobnoustrojów zasiedlających gleby [3,14]. Drobnoustroje te wytwarzają enzymy biorące udział w procesie dezaminacji związków azotu organicznego. Natężenie mineralizacji azotu organicznego w glebie jest zależne od aktywności enzymów [4,5,12], ilości i dostępności substratów (polipep-

---

\*Praca częściowo zrealizowana w ramach projektu badawczego Nr 3PO4G 04324 finansowanego przez KBN w latach 2003-2005.

tydów, peptydów, aminokwasów), jak również od warunków fizykochemicznych tych gleb. Warunki fizykochemiczne zależą z kolei w dużym stopniu od zabiegów agrotechnicznych stosowanych w uprawie danej rośliny [6,7,11].

Proces dezaminacji związków azotu organicznego dostającego się do gleby w postaci nawozów, resztek roślinnych i zwierzęcych, wydzielin korzeniowych, wzbogaca pulę azotu mineralnego dostępnego dla roślin uprawianych na danym polu [7,11]. Aktywność wybranych enzymów, biorących udział w cyklu przemian azotu w glebie, stanowi pośrednią informację o ilości azotu organicznego zawartego w glebie, a co za tym idzie wskazuje na wielkość dawek azotu, które powinny być dostarczone do gleby wraz z nawożeniem mineralnym [11].

Celem niniejszej pracy była ocena aktywności wybranych enzymów biorących udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie pod różnymi roślinami na różnych etapach cyklu wegetacyjnego roślin.

#### MATERIAŁ I METODY

Materiałem do badań były dwie gleby typu gleby płowej, kompleks przydatności rolniczej – żytni bardzo dobry. Próbki gleby pobierano z warstwy ornej (0-20 cm) pod uprawami polowymi następujących roślin:

- pszenica ozima (Zakład Doświadczalny Osiny, IUNG Puławy),
- rzepak ozimy (Zakład Doświadczalny Osiny, IUNG Puławy),
- łubin biały (Zakład Doświadczalny Osiny, IUNG Puławy),
- pszenica jara (Zakład Doświadczalny Felin, AR Lublin).

Aktywność L-asparaginazy (EC 3.5.1.1) oznaczano metodą Omura [13] a ureazy (EC 3.5.1.5) metodą Hoffmanna i Teichera [8]. Aktywność dezaminazy, (EC 3.5.4) metodą Killhama i Rashida [9] (metoda ta, w założeniach jej twórców powinna pozwalać na oznaczenie aktywności praktycznie wszystkich dezaminaz aktywnych w glebie), a intensywność procesu amonifikacji argininy metodą Alefa i Kleinera [1]. Procedury badawcze przeprowadzono zgodnie z opisanymi przez Wyczółkowskiego i Dąbek-Szreniawską [17].

Oznaczenia te przeprowadzono (w 4 powtórzeniach dla każdego enzymu) trzy razy w okresie wegetacyjnym 2004 roku w terminach:

- 1 – wiosenne ruszenie wegetacji (kwiecień),
- 2 – intensywny wzrost i rozwój roślin (maj-czerwiec),
- 3 – dojrzałość do zbioru (lipiec-sierpień).

## WYNIKI I DYSKUSJA

Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 1.

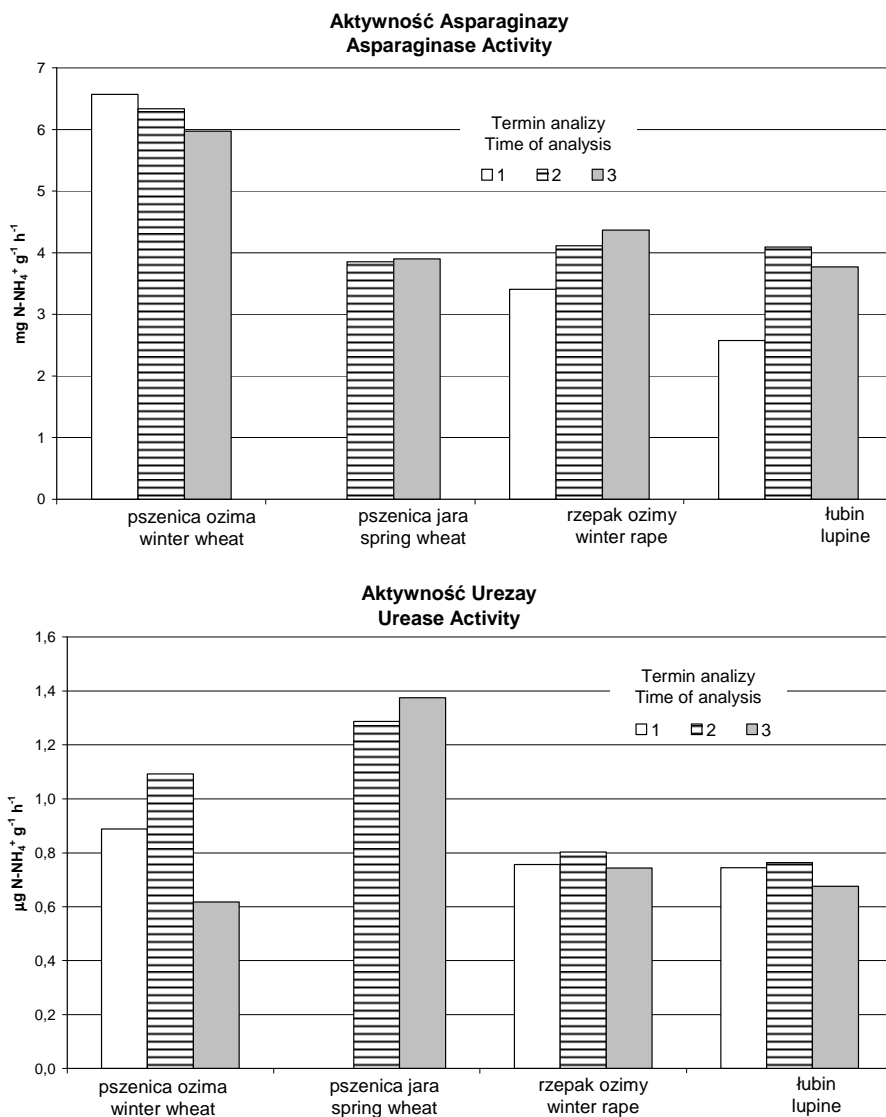
Najwyższą aktywność L-asparaginazy stwierdzono w glebie pod uprawą pszenicy ozimej. Wysoka aktywność tego enzymu utrzymywała się przez cały sezon wegetacyjny choć wyraźnie zaznaczyła się tendencja malejąca. Mogło to być związane ze stopniowym rozkładem resztek roślinnych uprawy przedplonu (koniczyny czerwonej z trawami). Aktywność asparaginazy w glebach wykorzystywanych do uprawy pozostałych roślin była praktycznie taka sama i o około 1/3 niższa niż w przypadku pszenicy ozimej. Wytlumaczeniem może być fakt, że pola te były nawożone nawozami mineralnymi, przy braku nawożenia organicznego (wielkość nawożenia mineralnego pod każdą rośliną w poszczególnych płodozmianach jest stała od roku 1994) [10]. Jednocześnie trudno jest wytłumaczyć widoczny wzrost aktywności asparaginazy w przypadku rzepaku ozimego i łubinu w drugim i trzecim terminie analiz.

Aktywność enzymu ureazy była niska, nie przekraczała w większości przypadków 0,001 mg azotu amonowego w 1 g gleby. Najwyższą aktywność ureazy oznaczono w glebie pod pszenicą jarą. W glebie pod uprawą rzepaku i łubinu aktywność tego enzymu była bardzo zbliżona i wyrównana we wszystkich terminach analiz.

Warto zauważyć, że w glebie pod pszenicą ozimą w czasie całego okresu wegetacyjnego wystąpiły znaczące różnice w aktywności ureazy. Podobnie jak w przypadku aktywności asparaginazy można to wytłumaczyć nawożeniem organicznym przed uprawą tej rośliny. W pozostałych przypadkach, brak nawozów organicznych odzwierciedlony został małą dynamiką zmian.

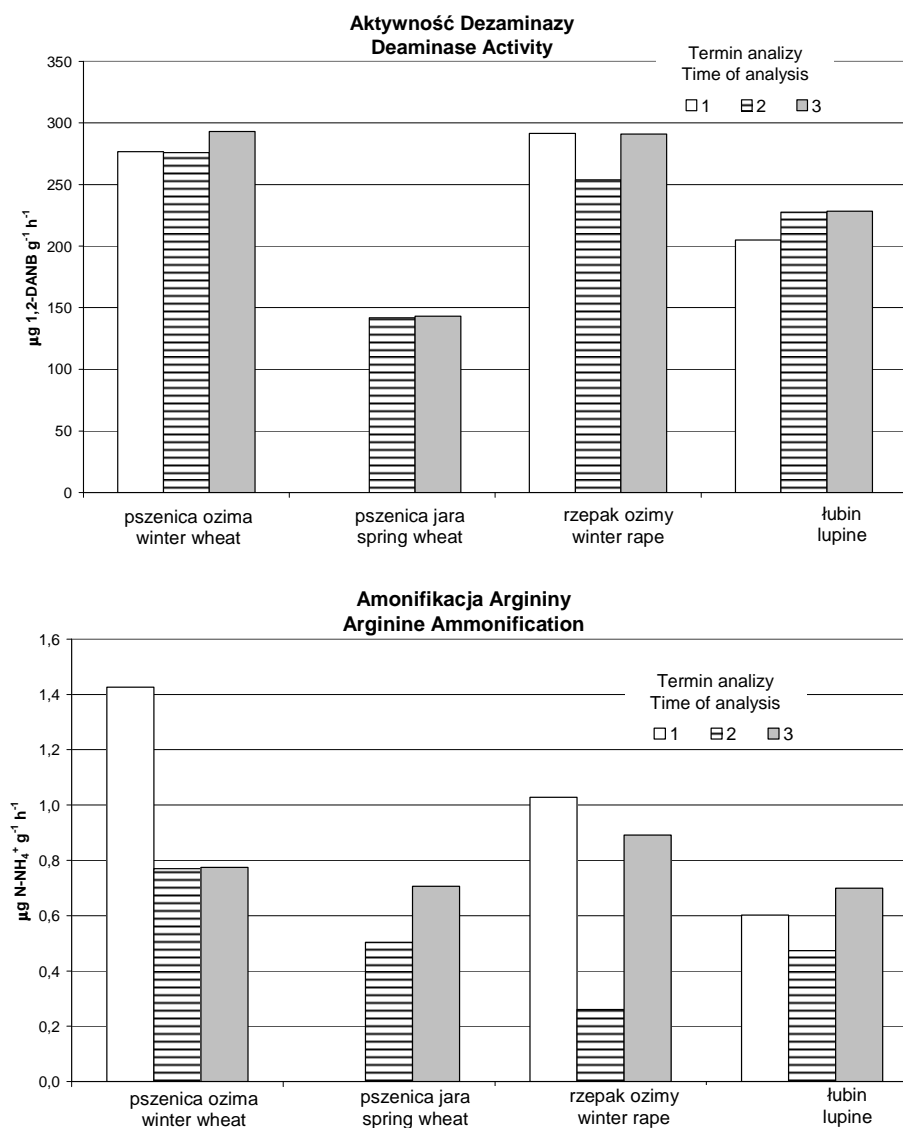
Aktywność dezaminazy w przypadku każdej uprawy była względnie wyrównana w całym sezonie wegetacyjnym (największą różnicę zanotowano dla rzepaku ozimego). Biorąc pod uwagę, że aktywność dezaminazy oznaczana metodą Killhama i Rashida [9] uznawana jest za sumaryczną aktywność wszystkich enzymów z grupy dezaminaz można było oczekiwać wyższych wartości aktywności dezaminazy wyznaczanych tą metodą.

Amonifikacja argininy, którą stosuje się jako jeden z wskaźników biologicznej aktywności gleby [2, 16], była bardzo zróżnicowana w zależności od terminu analizy oraz uprawianej rośliny. Amonifikacja argininy we wszystkich próbkach gleby w II terminie analizy była najmniej intensywna. Może to wskazywać na brak substratu dla procesu amonifikacji z powodu np. braku w wydzielinach korzeniowych organicznych związków azotowych, których wydzielanie przez system korzeniowy w okresie intensywnego wzrostu i rozwoju uprawianej rośliny bywa wyraźnie zahamowany [15].



**Rys. 1.** Aktywność enzymów biorących udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie pod różnymi roślinami na różnych etapach cyklu wegetacyjnego roślin. 1 – wiosenne ruszenie wegetacji (kwiecień); 2 – intensywny wzrost i rozwój roślin (maj-czerwiec); 3 – dojrzałość do zbioru (lipiec-sierpień)

**Fig. 1.** Activity of enzymes involved in the mineralization of organic nitrogen in soil under different plants at different stages of vegetation cycles. 1 – spring start of vegetation (April); 2 – intensive growth of plant (May-June); 3 – ripeness to harvest (July-August)



**Rys. 1. c.d.** Aktywność enzymów biorących udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie pod różnymi roślinami na różnych etapach cyklu wegetacyjnego roślin. 1 – wiosenne ruszenie wegetacji (kwiecień); 2 – intensywny wzrost i rozwój roślin (maj-czerwiec); 3 – dojrzałość do zbioru (lipiec-sierpień)

**Fig. 1. Cont.** Activity of enzymes involved in the mineralization of organic nitrogen in soil under different plants at different stages of vegetation cycles. 1 – spring start of vegetation (April); 2 – intensive growth of plant (May-June); 3 – ripeness to harvest (July-August)

## WNIOSKI

1. Aktywność badanych enzymów i procesów jest różna w różnych okresach wzrostu i rozwoju roślin i zależy od klasy (jednoliścienne czy dwuliścienne) rośliny.

2. Przeprowadzone badania nie pozwalają na wskazanie enzymu biorącego udział w mineralizacji azotu organicznego w glebie, który można by używać jako wskaźnik aktywności w okresie wegetacyjnym roślin.

## PIŚMIENNICTWO

1. **Alef K., Kleiner D.:** Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potentials in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 18, 233-235, 1986.
2. **Alef K., Kleiner D.:** Applicability of arginine ammonification as indicator of microbial activity in different soils. *Biol. Fertil. Soils*, 5, 148-151, 1987.
3. **Barabasz W.:** Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. II. Biotransformacja azotu glebowego. *Post. Mikrobiol.*, 31, 3-33, 1992.
4. **Brzezińska M., Stępniewska Z., Stępniewski W.:** Soil oxygen status and dehydrogenase activity. *Soil. Biol. Biochem.*, 30 (13), 1783-1790, 1998.
5. **Brzezińska M., Włodarczyk T., Gliński J.:** Effect of methane on soil dehydrogenase activity. *Int. Agrophysics*, 18 (3), 213-216, 2004.
6. **Dąbek-Szreniawska M., Wyczółkowski A.I.:** Liczebność drobnoustrojów a fizykochemiczna charakterystyka gleby spod zróżnicowanych upraw pszenicy. *Roczn. Glebozn.*, 54, 23-33, 2003.
7. **Gianfreda L., Bollag J.M.:** Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. [w] G. Stotzky, J.M. Bollag (eds.) *Soil Biochemistry*, 9, 123-193, Marcel Dekker Inc. New York, Basel, 1996.
8. **Hoffman G., Teicher K.:** Ein kolorimetrisches Verfahren zur Bestimmung der Ureaseaktivität in Boden. *Zeit. Pflanzenernaehr. Dung. Bodenkunde*, 95, 55-63, 1961.
9. **Killham K., Rashid M.A.:** Assay of activity of a soil deaminase. *Plant Soil*, 92, 15-21, 1986.
10. **Kuś J.:** Wstępne porównanie trzech systemów produkcji roślinnej (konwencjonalny, integrowany i ekologiczny). *Roczn. AR w Poznaniu, Roln.*, 52, 119-126, 1998.
11. **Mazur T. (red.):** Azot w glebach uprawnych. PWN, Warszawa, 1991.
12. **Nannipieri P., Kandeler E., Ruggiero P.:** Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. [w] R.J. Burns, R.P. Dick (eds.) *Enzymes in the environment. Activity, ecology and applications*. Marcel Dekker Inc., New York, Basel, 1-33, 2002.
13. **Omura H., Sato F., Hayano K.:** A method for estimation of L-glutaminase activity in soils. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 29, 295-303, 1983.
14. **Paul E.A., Clark F.E.:** Mikrobiologia i biochemia gleb. Tłumaczenie, Wyd. Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin, 2000.
15. **Różycki H., Strzelczyk E.:** Połączenia organiczne wydzielane przez drobnoustroje glebowe i korzenie roślin. *Post. Mikrobiol.*, 24, 285-303, 1985.
16. **Suttener T., Alef K.:** Correlation between the arginine ammonification, enzyme activities, microbial biomass, physical and chemical properties of different soils. *Zentralbl. Mikrobiol.*, 143, 569-573, 1988.
17. **Wyczółkowski A.I., Dąbek-Szreniawska M.:** Enzymy biorące udział w mineralizacji azotu organicznego. *Acta Agrophysica, Rozprawy i Monografie*, 3, 37-61, 2005.

ORGANIC NITROGEN MINERALIZATION ENZYME ACTIVITY IN SOILS  
UNDER DIFFERENT PLANTS

*Andrzej I. Wyczółkowski, Małgorzata Dąbek-Szreniawska, Andrzej Bieganowski,  
Agnieszka Zimon*

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin  
e-mail: Biegan@demeter.ipan.lublin.pl

**Abstract.** The aim of this paper was to compare the enzyme activity involved in organic nitrogen mineralization in grey-brown podzolic soil. Winter wheat, spring wheat, winter rape and white lupine were cultivated on the soil. The measurements were carried out at different stages of vegetation period. The activity of investigated enzymes was different at different stages of plant growth and dependent on the class of the plant (monocotyledon or dicotyledonous plant). Moreover, the investigations did not allow to point out an enzyme which was involved in mineralization of organic nitrogen and which could be recognized as an indicator of activity in the vegetation period.

**Keywords:** enzyme activity in soil, mineralization of nitrogen in soil, microbial activity in soil, soil microbiology