

## AKTYWNOŚĆ PROTEAZY I UREAZY W GLEBIE LEKKIEJ UŻYŹNIONEJ OSADYM ŚCIEKOWYM

*E. J. Bielińska, G. Żukowska*

Institut Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego, Akademia Rolnicza  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin  
e-mail: [tantal@consus.ar.lublin.pl](mailto:tantal@consus.ar.lublin.pl)

**Streszczenie.** W doświadczeniu polowym do poziomu akumulacyjnego gleby brunatnej kwaśnej (Dystric Cambisols) wytworzonej z piasku słabo gliniastego wprowadzono osad ściekowy w następujących dawkach suchej masy: 30, 75, 150, 300 i 600 Mg·ha<sup>-1</sup>. Obiekt kontrolny stanowiła gleba bez nawożenia organicznego. Celem niniejszej pracy była ocena oddziaływania różnych dawek osadu ściekowego na aktywność proteazy i ureazy w glebie lekkiej po upływie sześciu lat od zastosowanego nawożenia. Istotny wzrost aktywności proteazy i ureazy, w porównaniu z aktywnością tych enzymów w glebie obiektu kontrolnego, stwierdzono w obecności wyższych dawek osadu ściekowego (300 i 600 Mg·ha<sup>-1</sup>). Stymulacji tej towarzyszyła istotnie większa zawartość C organicznego, azotu ogółem i mineralnych form azotu (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> i N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) w glebie.

Przedstawione wyniki wskazują na możliwość wykorzystywania badanego osadu ściekowego w zabiegach poprawy żyzności gleb lekkich.

**Słowa kluczowe:** gleba lekka, osad ściekowy, aktywność enzymatyczna.

### WSTĘP

Brak we współczesnym rolnictwie dostatecznej ilości nawozów organicznych, które mogłyby wyrównać deficyt związków próchnicznych i zapobiegać degradacji gleb zmusza do poszukiwania nowych, efektywnych sposobów poprawy właściwości gleb. Znaczną rolę w rekultywacji i zwiększeniu żyzności gleb lekkich, a przede wszystkim w intensyfikacji procesu humifikacji substancji organicznej odgrywają odpowiedniej jakości osady ściekowe [1,12]. Osady ściekowe charakteryzują się dużą zasobnością w materię organiczną i składniki pokarmowe, głównie azot i fosfor [1]. Jednakże z punktu widzenia ochrony środowiska istotne jest

rozpoznanie ich oddziaływania na właściwości gleby nie tylko bezpośrednio po wprowadzeniu osadów do gleby, ale i po pewnym czasie. Badania oceniające wpływ stosowania osadów na kształtowanie się zawartości metali ciężkich oraz na procesy biochemiczne i mikrobiologiczne w glebach ma szczególne znaczenie dla szerszego wykorzystania tych środków w rolnictwie [2,4].

Celem niniejszych badań była ocena oddziaływania różnych dawek osadu ściekowego na aktywność proteazy i ureazy w glebie lekkiej po upływie sześciu lat od wprowadzenia osadu do gleby.

### MATERIAŁ I METODY

Badania realizowano w warunkach doświadczenia polowego na glebie brunatnej kwaśnej (Dystric Cambisols) wytworzonej z piasku słabo gliniastego o zawartości frakcji: 1 - 0,1mm 85 - 86%; 0,1 - 0,02 mm 7 - 8% i < 0,02 mm 7 - 8%. Na poletkach o powierzchni 15 m<sup>2</sup> zastosowano ziemisty, przefermentowany osad ściekowy z mechaniczno-biologicznej oczyszczalni ścieków z Końskich, powstały z oczyszczania ścieków komunalnych (70%) i przemysłowych (30%), w następujących dawkach suchej masy: 30, 75,7 150, 300 i 600 Mg·ha<sup>-1</sup>. Osad wymieszano z warstwą gleby do głębokości 25 cm, a następnie uprawiano rośliny w następnym: kukurydza, jęczmień jary, rzepak ozimy, ziemniaki, pszenżyto. Pod uprawiane rośliny zastosowano uzupełniające nawożenie mineralne NPK, którego poziom ustalono na podstawie zaleceń agrotechnicznych dla uprawianych roślin.

Obiekt kontrolny stanowiła gleba bez nawożenia organicznego.

Próbki gleby do analiz pobrano po zbiorze pszenżyta, z warstwy 0-25 cm. W próbkach glebowych oznaczono: aktywność proteazy [9], aktywność ureazy [11], zawartość węgla organicznego ogółem (metodą Tiurina w modyfikacji Simakowa), N ogółem (metodą Kjeldahla), N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (kolorymetrycznie metodą Nesslera) i N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (kolorymetrycznie zmodyfikowaną metodą brucynową). Próbki glebowe do analiz pobierano i przechowywano zgodnie z zasadami określonymi w polskiej normie PN-ISO 1998 [3].

### WYNIKI

Gleba użyźniona osadem ściekowym cechowała się większą zawartością węgla organicznego ogółem i azotu ogółem niż gleba bez nawożenia organicznego (Tab. 1). Z wcześniejszych badań własnych [1,2] wynika, że zawartość C<sub>org.</sub> i N ogółem w glebie obniżała się z upływem lat badań. Pomimo to, w szóstym roku doświadczenia, w obecności największych dawek osadu tj. 300 i 600 Mg·ha<sup>-1</sup> zawartość tych składników była jeszcze istotnie wyższa niż w glebie obiektu kontrolnego.

Zawartość N mineralnego ( $\text{N-NH}_4^+$  i  $\text{N-NO}_3^-$ ) zwiększała się wraz ze wzrostem udziału osadu w glebie (Tab. 1). Statystycznie istotne różnice obserwowano w warunkach stosowania wyższych dawek osadu tj. 300 i 600  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ .

**Tabela 1.** Niektóre właściwości chemiczne gleby

**Table 1.** Some chemical properties of soil

Obiekt	$C_{\text{org.}}$	N ogółem ( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	C:N	$\text{N-NH}_4^+$ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	$\text{N-NO}_3^-$ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
Gleba	12,27	1,20	10,2	56,7	27,8
Gleba + 30 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	12,53	1,22	10,2	57,3	29,5
Gleba + 75 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	12,89	1,25	10,3	57,9	31,5
Gleba + 150 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	13,05	1,27	10,2	59,2	34,9
Gleba + 300 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	25,88	2,64	9,8	63,3	38,4
Gleba + 600 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	36,12	3,85	9,4	64,8	41,1
$\text{NIR}_{0,05}$	0,4	0,02	n.i.*	0,8	0,4

\*nieistotne

Istotny wzrost aktywności proteazy i ureazy, w porównaniu z aktywnością tych enzymów w glebie obiektu kontrolnego, stwierdzono w obecności wyższych dawek osadu ściekowego (300 i 600  $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Niższa zawartość osadu nie wywierała większego wpływu na aktywność powyższych enzymów (Tab. 2).

**Tabela 2.** Aktywność enzymatyczna gleby

**Table 2.** Enzymatic activity of soil

Obiekt	Ureaza ( $\text{mg N-NH}_4^+\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )	Proteaza ( $\text{mg tyrozyny}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )
Gleba	20,1	13,9
Gleba + 30 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	21,4	14,2
Gleba + 75 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	22,3	14,5
Gleba + 150 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	22,7	15,0
Gleba + 300 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	38,6	17,3
Gleba + 600 $\text{Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ osadu	43,8	18,2
$\text{NIR}_{0,05}$	1,2	0,8

W warunkach stosowania wysokich dawek osadu ( $300$  i  $600 \text{ Mg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) aktywność proteazy i ureazy była większa, odpowiednio o ok.:  $20$  i  $50\%$  niż w glebie obiektu kontrolnego (Tab. 2).

Z danych zawartych w Tabeli 3 wynika, że aktywność badanych enzymów korelowała z zawartością  $C_{\text{org}}$  i N ogółem w glebie. Ponadto wykazano istotną zależność pomiędzy aktywnością ureazy i zawartością  $\text{N-NH}_4^+$  w glebie.

**Tabela 3.** Współczynniki korelacji pomiędzy aktywnością enzymatyczną i właściwościami chemicznymi gleby

**Table 3.** Correlation coefficients between enzymatic activity and the soil chemical properties

	Ureaza	Proteaza
$C_{\text{org}}$	0,88*	0,84*
N ogółem	0,76*	0,75*
$\text{N-NH}_4^+$	0,72*	
$\text{N-NO}_3^-$		

\*istotne przy  $p = 0,05$

## DYSKUSJA

Przedstawione wyniki uzyskane w szóstym roku ścisłego doświadczenia polowego z wprowadzeniem do gleby osadu ściekowego wskazują na istotne i korzystne zmiany właściwości biochemicznych i chemicznych kształtujących żyzność gleb. W literaturze przedmiotu istnieją liczne dane potwierdzające, że właściwości biologiczne gleby, związane z działalnością drobnoustrojów oraz organizmów wyższych (roślinnych i zwierzęcych) i wydzielanych przez nie enzymów, wpływają istotnie na żyzność gleby [6-8,10]. Zdaniem cytowanych autorów aktywność enzymów może być użyta jako biologiczno-biochemiczny wskaźnik żyzności gleby. W niniejszych badaniach wykazano, że użyźnienie gleby osadem ściekowym miało istotny wpływ na poziom aktywności enzymów. Świadczy to o tym, że zastosowany osad miał znaczący wpływ na wielkość biochemicznej mineralizacji związków organicznych i w konsekwencji dostarczanie składników odżywczych dla roślin.

Aktywność enzymów zależy od bezwzględnej ich ilości, wielkości puli reagujących związków innych niż enzymy oraz od katalitycznej sprawności. W środowisku glebowym dochodzą dodatkowe czynniki (zarówno abiotyczne, jak i biotyczne) oddziałujące na sprawność katalityczną. Należą do nich m. in.: zawartość pierwiastków biogennych, liczebność i stan gatunkowy mikroorganizmów [7]. Czynniki te są w znacznym stopniu kształtowane przez zabiegi agro-

techniczne [5]. W niniejszych badaniach znaleziono ścisłe korelacje pomiędzy aktywnością analizowanych enzymów a zawartością  $C_{org}$  i N ogółem (Tab. 3). Na ścisłą współzależność pomiędzy aktywnością enzymów glebowych a zawartością  $C_{org}$  i N ogółem w glebie wskazują wyniki badań wielu autorów [5,8,10]. Wyniki te potwierdzają ważną rolę materii organicznej w kształtowaniu aktywności enzymatycznej gleby.

Korzystny wpływ użyźnienia gleby osadem na aktywność ureazy, wyraźniejszy niż w przypadku proteazy, mógł być związany ze wzrostem  $N-NH_4^+$  w glebie, co potwierdzają istotne wartości współczynników korelacji pomiędzy tymi cechami gleby, a także dane z literatury [10].

Uważamy, że z ekologicznego punktu widzenia istotne jest, iż w warunkach stosowania wyższych dawek osadu, stymulacja aktywności enzymatycznej badanej gleby lekkiej wystąpiła w okresie sześciu kolejnych lat [2], co świadczyłoby o utrwaleniu się tego stanu gleby.

Rozpatrując uzyskane wyniki badań pod kątem możliwości praktycznego ich wykorzystania, wydaje się że testy enzymatyczne mogą być stosowane przy szacowaniu jakości gleb. Aktywność enzymów w glebach jest też jednym z elementów podlegających kontroli w ramach monitoringu środowiska w Szwecji [Monitor 1990, za: 6]. Należy podkreślić, że oznaczanie aktywności enzymów glebowych nie jest procedurą skomplikowaną i jest łatwe do przeprowadzania seryjnych analiz.

#### WNIOSKI

1. Wprowadzenie do poziomu akumulacyjnego gleby lekkiej osadu ściekowego spowodowało istotne, korzystne zmiany właściwości biochemicznych i chemicznych gleby. Świadczy to o poprawie żyzności badanej gleby.
2. Nawożenie gleb lekkich osadem ściekowym może, niekiedy na krótki okres rekompensować niedostatek materii organicznej i składników pokarmowych roślin.
3. Warunkiem dobrej skuteczności badanego osadu jest wprowadzenie go do gleby w postaci dawek większych, zastosowanych jednorazowo w okresie 6 lat.
4. Z ekologicznego punktu widzenia istotne jest, iż w warunkach stosowania wyższych dawek osadu, stymulacja aktywności enzymatycznej gleby lekkiej wystąpiła w okresie sześciu kolejnych lat, co świadczy o utrwaleniu się tego stanu gleby.
5. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania osadu ścieków komunalno-przemysłowych do odtwarzania i kształtowania podstawowych elementów żyzności gleby lekkiej.

## PIŚMIENNICTWO

1. **Baran S., Bielińska E.J., Wiśniewski J.:** Wpływ stosowania niekonwencjonalnych nawozów wieloskładnikowych na wybrane właściwości gleby lekkiej. Zesz. Nauk. AR w Szczecinie, 190, Agricultura 72, 11-20, 1998.
2. **Baran S., Bielińska E.J., Wiśniewski J.:** Wpływ osadu ściekowego i wernikompostu z tego osadu na aktywność enzymatyczną gleby piaszczystej. Ann. UMCS Lublin, 54, 18, 145-151, 1999.
3. **Drzymala S.:** Zasady pobierania i przygotowania próbek glebowych do badań mikrobiologicznych. Wyd. Kat. Mikrobiologii Rolnej AR w Poznaniu „Ekologiczne aspekty mikrobiologii gleby”, Poznań, 65-71, 1998.
4. **Gostkowska K., Furczak J., Kornilowicz T.:** Wpływ różnych środków użyźniających na aktywność mikrobiologiczną gleby piaszczystej i gliniastej. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 370, 65-84, 1989.
5. **Gostkowska K., Furczak J., Domżał H., Bielińska J.:** Suitability of some biochemical and microbiological tests for the degradation degree of Podzolic Soil on the background of its differentiated usage. Pol. J. Soil Sci., 30/2, 69-78, 1998.
6. **Januszek K.:** Aktywność enzymatyczna wybranych gleb leśnych Polski południowej w świetle badań polowych i laboratoryjnych. Zesz. Naukowe AR, Kraków, ser. Rozprawy, 250, 1999.
7. **Kucharski J.:** Relacje między aktywnością a żyznością gleby. (W: Drobnoustroje w środowisku Występowanie, aktywność i znaczenie. AR Kraków, Red. W. Barabasz), 327-347, 1997.
8. **Martyniuk S., Stachyra A., Wróblewska B., Zięba S.:** Związki pomiędzy mikrobiologicznymi i enzymatycznymi właściwościami gleby a plonami ziemniaków. (W: Drobnoustroje w środowisku Występowanie, aktywność i znaczenie. AR Kraków, Red. W. Barabasz), 439-447, 1997.
9. **Ladd N., Butler J.H.A.:** Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. Soil Biol. Biochem., 4, 19-30, 1972.
10. **Vekemans X., Godden B., Penninck M.J.:** Factor analysis of the relationships between several physico-chemical and microbiological characteristics of some Belgian agricultural soils. Soil Biol. Biochem., 21, 53-58, 1989.
11. **Zantua M.I., Bremner J.M.:** Comparison of methods of assaying urease activity in soils. Soil Biol. Biochem., 7, 291-295, 1975.
12. **Żukowska G., Flis-Bujak M., Baran S.:** Zmiany składu frakcyjnego próchnicy gleby lekkiej nawożonej osadami ściekowymi. Folia Univ. Agric. Stetinensis, 211, 84, 551-556, 2000.

---

PROTEASE AND UREASE ACTIVITY IN THE LIGHT SOIL, FERTILISED  
WITH THE SEWAGE SEDIMENT

*E. J. Bielińska, G. Żukowska*

Institute of Soil Science and Environment Management, University of Agriculture  
ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin  
e-mail: tantal@consus.ar.lublin.pl

**Summary.** In a field experiment, the accumulative level of a brown acid soil (Dystric Cambisols) formed of slightly clayey sand, the sewage sediment was introduced in the following doses of dry mass: 30; 75; 150; 300 and 600 Mg·ha<sup>-1</sup>.

The control object was the soil with no organic fertiliser. The purpose of this paper was to estimate the reaction of various doses of the sewage sediment on protease and urease activity in the light soil, not fertilised during the last six years. An essential increase in the protease and urease activity in comparison to the activity of these enzymes in the soil of the control object was confirmed in presence of the higher doses of sewage sediment (300 and 600 Mg·ha<sup>-1</sup>). This stimulation was in fact accompanied with the higher content of organic carbon, nitrogen (total N) and the mineral forms of nitrogen (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> and N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) in the soil.

The results we obtained have shown there is a possibility to use the sewage sediments in order to better the fertility of light soils.

**Key words:** light soil, sewage sediment, enzymatic activity.