

Grażyna OLSZOWSKA
Zakład Gospodarki Leśnej Rejonów Przemysłowych IBL
ul. św. Huberta 35, 40-952 Katowice

WPŁYW PYŁÓW KADMOWO-CYNKOWYCH NA AKTYWNOŚĆ WYBRANYCH ENZYMÓW GLEBOWYCH

EFFECT OF CADMIUM-ZINC DUSTS
ON THE ACTIVITY OF VARIOUS SOIL ENZYMES

Abstract. *The reaction of chosen soil enzymes to increased level of soil contamination with cadmium-zinc dust on research plots in the Niepołomice Forest was investigated. Investigations of soil acidity (pH) and amount of organic carbon were carried out at the same time. Introducing cadmium-zinc dust initiated the process of soil alkalisation. Activity of investigated enzymes differed: invertase was largely unaffected but betaglucosydase was inhibited by high doses of applied dusts (over 1000 t/km²/year). Lower activities of urease, asparaginase and acid phosphotase were observed on research plots with high doses of zinc dust.*

All doses of introduced cadmium-zinc dust caused significant reduction of dehydrogenase activity to 80-95% compared to the control.

Key words: enzymatic activity, forest soils, cadmium-zinc dust

1. WSTĘP

Corocznie wraz z opadem roślinnym oraz szczątkami obumarłych zwierząt, drobnoustrojów i korzeni do gleby dostają się masy materii organicznej, które w lasach tworzą ściółkę różnej grubości. W jej składzie chemicznym przeważają związki organiczne takie jak: węglowodany (cukry, celuloza), kwasy organiczne, aminokwasy, białka, ligniny, tłuszcze, woski, garbniki i inne, które ulegają złożonym przemianom wskutek działalności drobnoustrojów glebowych, poprzez wydzielane przez nie enzymy. W wyniku reakcji biochemicznych, których katalizatorami są enzymy, zostają uwalniane: azot, węgiel, fosfor, siarka oraz inne składniki odżywcze dla roślin i drobnoustrojów glebowych (MARSZEWSKA-ZIEMIĘCKA 1974, RUSSEL 1974). Enzymy glebowe, które są białkami, wydzielane są przez organizmy żyjące w glebie, głównie bakterie i grzyby, mogą też pochodzić z martwych roślin i drobnoustrojów. W środowisku glebowym enzymy są ściśle związane z cząstkami gleby, a ich aktywność jest uzależniona od właściwości fizykochemicznych tej gleby: składu mechanicznego, temperatury, wilgotności, struktury, pH, kompleksu sorpcyjnego, zawartości substancji organicznej i składu mineralnego (TROJANOWSKI 1973, BURNS 1978).

W nielicznych pracach, omawiających wpływ metali ciężkich na enzymy glebowe, autorzy zwracają uwagę na dużą złożoność procesów biochemicznych zachodzących w glebie skażonej pyłami metalonośnymi. Aktywność biologiczna takiej gleby jest nie tylko prostą zależnością od liczby i składu jakościowego mikroorganizmów glebowych oraz ilości i formy wprowadzonego metalu, lecz w dużej mierze zależy od jej właściwości fizycznych, chemicznych i biologicznych (BÄÄTH 1989, BABICH, STOTZKY 1975, BADURA i in. 1980, 1984a,b,c). W wielu publikacjach podkreślane jest, że badanie aktywności enzymatycznej gleb jest obiecującym podejściem do badań efektów biologicznych przy zanieczyszczeniach metalami ciężkimi (TYLER 1974, 1976).

2. CEL I ZAKRES BADAŃ

Celem pracy jest zbadanie reakcji różnych grup enzymów (wyrażonej ich aktywnością) na wzrastający poziom skażenia gleb pyłami kadmowo-cynkowymi.

Badania były prowadzone na stałych powierzchniach w Puszczy Niepołomickiej w latach 1988-1989 oraz 1991-1992 i obejmowały:

- oznaczenia węgla organicznego i pH gleb,
- badania aktywności enzymów glebowych: betafruktofuranazydazy (inwertazy), beta-glukozydazy, ureazy, asparaginazy, fosfatazy kwaśnej i dehydrogenaz.

Oznaczano aktywność kilku enzymów, ponieważ oznaczanie aktywności jednego enzymu nie obrazuje pełnej aktywności biologicznej, tylko określony

kierunek przemian biologicznych. Do oznaczeń biochemicznych wybrano enzymy katalizujące najważniejsze procesy przemiany materii organicznej takie jak: rozkład węglowodanów, przemiany związków azotowych, uwalnianie fosforanów nieorganicznych, dehydrogenacja substancji organicznej.

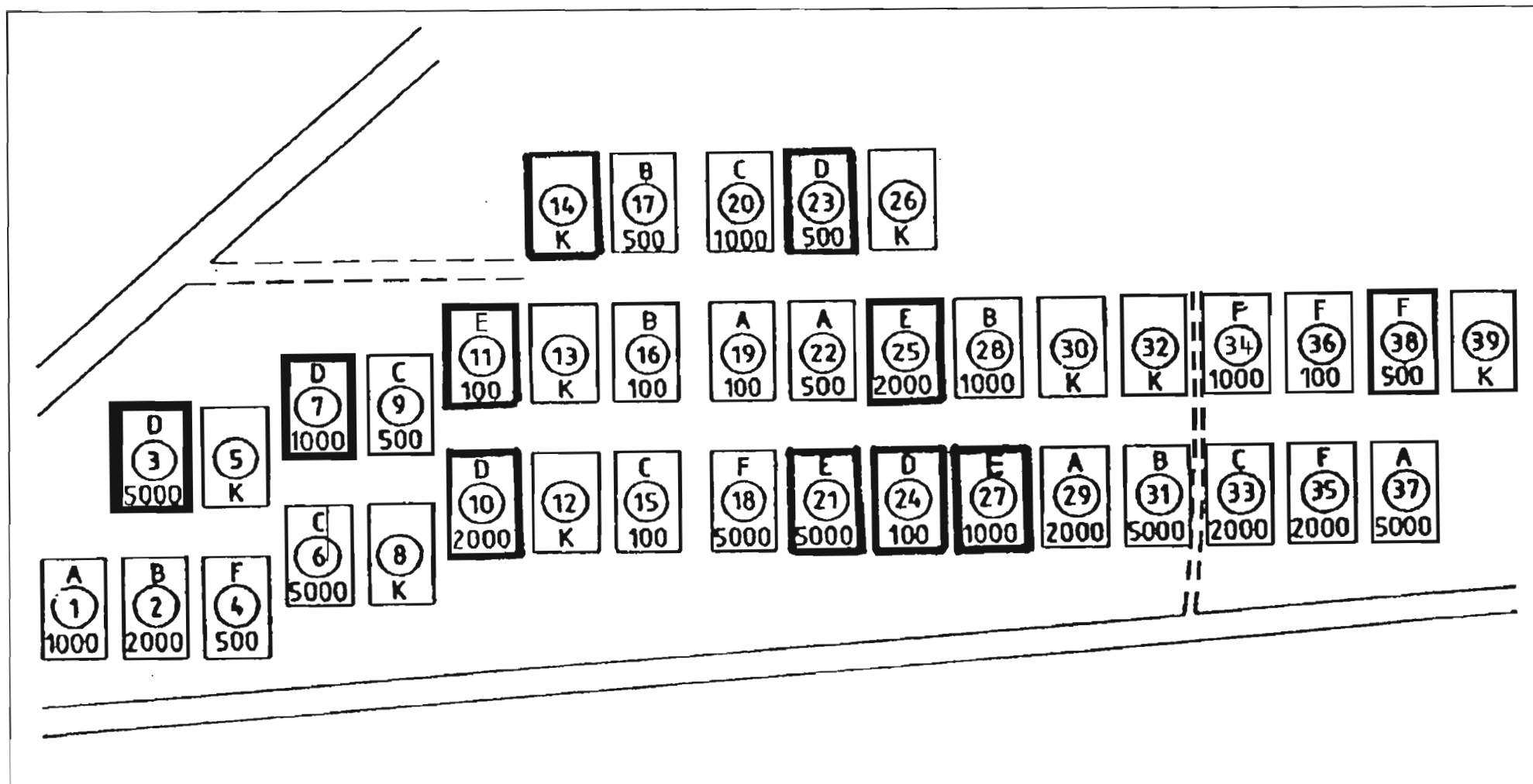
3. TEREN BADAŃ

Powierzchnie doświadczalne w Puszczy Niepołomickiej w leśnictwie Szarów, oddział 289, w drzewostanie sosnowym III klasy wieku, zostały założone przez pracowników PAN z Krakowa. Lasy Puszczy Niepołomickiej położone są w VI Krainie Przyrodniczo-Leśnej Małopolskiej, Dzielnicy Wysoczyzn Sandomierskich, mezoregionie Bocheńsko-Tarnowskim (TRAMPLER i in. 1990). Przeciętna ilość opadów atmosferycznych waha się w granicach 600-700 mm rocznie, a średnia roczna temperatura wynosi 7,6°C. Przeważają wiatry z kierunków zachodnich, rzadziej z południowo-zachodnich i północno-zachodnich. Występuje tam bór mieszany świeży (*Quercus roboris-Pinetum*), w warstwie drzew dominuje sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.). Na niektórych poletkach występują pojedyncze egzemplarze dębu szypułkowego (*Quercus robur* L.) i brzozy brodawkowatej (*Betula pendula* Roth.). Gleby na powierzchniach badawczych należą do gleb bielcowych, wykształconych na podłożu piasków słabo gliniastych, gliniastych lekkich, a także piasków gliniastych mocnych pochodzenia wodno-lodowcowego (Plan Urzęd. Gosp. Leśn. 1988). Na wierzchnią warstwę tych gleb wysiano pod okap drzewostanu różne dawki pyłów z elektrofiltrów wybranych zakładów przemysłowych (ryc. 1).

4. METODYKA BADAŃ

4.1. Doświadczalne skażenie gleb w Puszczy Niepołomickiej

Na terenie Puszczy Niepołomickiej w latach 1980-1981 założono poletka doświadczalne o powierzchni 240 m² każde, oddzielone od sąsiednich pasami buforowymi o szerokości 10 m. Jednocześnie wyznaczono powierzchnie kontrolne nie skażone pyłami (ryc. 1). Na poszczególne poletka wysiano pod okap drzewostanu trzykrotnie w odstępach 3-miesięcznych stosując 1/4 dawki rocznej, pyły z elektrofiltrów wybranych zakładów przemysłowych. Całkowita dawka użytych pyłów wynosiła: 100, 500, 1000, 2000 i 5000 t/km²/rok. Procentowy skład chemiczny użytych pyłów cynkowych był następujący: SiO₂ – 43,7; ZnO – 22,06; Al₂O₃ – 8,13; PbO – 3,087; CaO – 7,9; Fe₂O₃ – 4,6; CdO – 0,63; a pyłów



Ryc. 1. Plan poletek doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej: D – pyły kadmowe, E – pyły cynkowe, K – poletka kontrolne, 100, 500, 1000, 2000 – dawki pyłu ($t/km^2/rok$)

Fig. 1. Scheme of research plots in Niepolomice Forest: D - cadmium dusts, E - zinc dusts, K - control plots; 100, 500, 1000, 2000 - amounts of dust ($t/km^2/year$)

kadmowych: SiO₂ – 45,3; Al₂O₃ – 21,4; CaO – 5,7; PbO – 4,1; CdO – 3,02; ZnO – 1,75 (GRESZTA i in. 1987).

4.2. Analiza chemiczna gleb

Zbiornicze próbki gleb do analiz biochemicznych (z 15-20 miejsc) pobierano dwa razy w ciągu roku w okresach najwyższej aktywności enzymatycznej gleb: wiosną (maj – czerwiec) i jesienią (wrzesień – październik), z poziomu mieszanego organiczno-próchnicznego Oh/A, z poletek doświadczalnych o różnym stopniu skażenia pyłami cynkowymi i kadmowymi oraz z poletka kontrolnego.

Próby dokładnie mieszano i suszono w temperaturze pokojowej, a następnie przesiano przez sito o średnicy oczek 1 mm. W tak przygotowanych próbach glebowych oznaczono w trzykrotnych powtórzeniach procentową zawartość węgla organicznego za pomocą analizatora węgla SC-132 firmy LECO oraz pH w H₂O i w 1n KCl potencjometrycznie (Instrukcja laboratoryjna 1973).

4.3. Badania aktywności wybranych enzymów

Prowadzono badania aktywności następujących enzymów glebowych:

– betafruktofuranazydazy (inwertazy), metodą jodometryczną, wyrażając aktywność w ml Na₂S₂O₃ na 1 g (RUSSEL 1972);

– betaglukozydazy, metodą jodometryczną, wyrażając aktywność w ml Na₂S₂O₃ na 1 g gleby (RUSSEL 1972);

– ureazy, metodą kolorymetryczną, wyrażając aktywność w mg NH₃ na 10 g gleby (GAŁSTJAN 1978);

– asparaginazy, metodą kolorymetryczną, wyrażając aktywność w mg NH₃ na 10 g gleby (GAŁSTJAN 1978);

– fosfatazy kwaśnej, metodą kolorymetryczną, wyrażając aktywność w mg P₂O₅ na 100 g gleby (GAŁSTJAN 1978);

– dehydrogenaz, metodą kolorymetryczną, wyrażając aktywność w mg TF na 10 g gleby (GAŁSTJAN 1978, RUSSEL 1972).

Sprawdzono założenia analizy regresji przy poziomie istotności 0,05 i zastosowano do wyników badań chemicznych i biochemicznych transformatę wykładniczą $y = x^{0.3}$, aby uzyskać rozkłady normalne. Do oceny wpływu skażenia gleb pyłami w Puszczy Niepołomickiej na aktywność badanych enzymów, zastosowano analizę wariancji wieloczynnikowej i test Duncana. Przy testowaniu statystycznym badanych parametrów przyjęto poziom istotności $p = 0,05$ (BRUCHWALD 1989).

5. WYNIKI BADAŃ

5.1. Odczyn gleby

Na poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej w całym okresie badawczym obserwowano wzrost pH gleb w miarę zwiększania dawki pyłu. Z przeprowadzonych badań wynika, że większy wpływ na wzrost pH gleb miały pyły cynkowe niż kadmowe. Wysokie dawki pyłów cynkowych spowodowały wzrost pH w H₂O gleb z 3,98 (kontrola) do 5,5 (dawka 5000 t/km²/rok) oraz pH w KCl odpowiednio z 3,25 do 5,40. Obserwowane różnice pomiędzy poletkiem kontrolnym a poletkami o dawkach 500, 1000, 2000 i 5000 t/km²/rok pyłów cynkowych były wysoce statystycznie istotne (p = 0,001). Pyły kadmowe nie wpłynęły natomiast w istotny sposób na zmianę pH badanych gleb (tab.1).

Tabela 1
Table 1

Zawartość węgla organicznego oraz pH gleb na poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej

Contents of organic carbon and soil pH on research plots in the Niepołomice Forest

Rodzaj i dawka pyłu t/km ² /rok Kind and amount of dust t/km ² /year	Węgiel organiczny Organic carbon %		pH H ₂ O		pH KCl	
	x	±s	x	±s	x	±s
Kontrola Control	11,89	3,86	3,98	0,22	3,25	0,06
Cd 100	13,89	4,35	3,85	0,16	3,22	0,04
Cd 500	6,15	1,55	3,95	0,16	3,47	0,10
Cd 1000	9,66	1,71	3,87	0,16	3,45	0,06
Cd 2000	7,86	3,14	4,06	0,24	3,75	0,17
Cd 5000	7,54	1,31	4,06	0,18	3,70	0,17
	F=17,4*** n=48		F=2,76 n=48		F=14,19*** n=24	
Kontrola Control	11,89	3,86	3,98	0,22	3,25	0,06
Zn 100	9,63	3,82	4,18	0,22	3,32	0,25
Zn 500	7,02	1,78	4,80	0,39	4,27	0,67
Zn 1000	10,37	3,00	5,12	0,43	5,10	0,51
Zn 2000	7,82	2,02	5,35	0,59	5,20	0,78
Zn 5000	9,46	2,80	5,33	0,49	5,40	0,35
	F=4,20* n=48		F=17,8*** n=48		F=19,8*** n=24	

x – średnia, s – odchylenie standardowe, *p = 0,05, **p = 0,01, ***p = 0,001

x – average, s – standard deviation *p=0,05, **p=0,01, ***p=0,001

5.2. Zawartość węgla organicznego

Substancja organiczna ma duży wpływ na aktywność biologiczną mikroorganizmów glebowych oraz wydzielane przez nie enzymy (BURNS 1986, KUCHARSKI, MILEWSKA-LARSKA 1992), stąd też w próbach glebowych oznaczono również zawartość węgla organicznego.

Na poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej zawartość węgla organicznego w poziomie organiczno-próchnicznym badanych gleb była zróżnicowana. Istotnie więcej węgla organicznego było w glebach poletka kontrolnego – średnio 11,9%, niż na poletkach z dawką 500 i 5000t/km²/rok pyłów kadmowych i 500 i 2000t/km²/rok pyłów cynkowych (tab. 1). W glebach skażonych wysokimi dawkami pyłów kadmowych zawartość węgla organicznego wahała się średnio od 6,15% (500 t/km²/rok) do 7,54% (5000 t/km²/rok), a w glebach skażonych pyłami cynkowymi od 7,02% (500 t/km²/rok) do 7,82% (2000 t/km²/rok). Obserwowane różnice w zawartości węgla organicznego pomiędzy poletkami o różnym skażeniu pyłami były nieistotne statystycznie.

5.3. Aktywność enzymów glebowych

W grupie hydrolaz rozkładających węglowodany oznaczono aktywność inwertazy (betafruktofuranozydazy) i betaglukozydazy.

Jak wykazały badania, skażenie gleb pyłami cynkowymi i kadmowymi w Puszczy Niepołomickiej nie wpłynęło w istotny sposób na aktywność inwertazy (enzymu rozkładającego szeroko rozpowszechniony u roślin wyższych dwucukier – sacharozę na alfa-d-glukozę i beta-d-fruktozę) (TROJANOWSKI 1973). Zarówno na poletkach skażonych pyłami kadmowymi jak i cynkowymi aktywność inwertazy była średnio niższa o 10-25% w stosunku do poletka kontrolnego. Obserwowane różnice w aktywności inwertazy pomiędzy poletkami o różnych dawkach pyłów kadmowo-cynkowych oraz poletkiem kontrolnym nie były statystycznie istotne (tab. 2).

Równolegle prowadzono badania aktywności betaglukozydazy – enzymu współuczestniczącego w końcowym rozkładzie celulozy na glukozę, która jest istotnym źródłem węgla i energii dla drobnoustrojów (BURNS 1978). Badania wykazały, że rodzaj użytego pyłu nie miał istotnego wpływu na aktywność tego enzymu. Zarówno na poletkach skażonych pyłami kadmu jak i cynku nastąpiło istotne obniżenie aktywności w stosunku do poletka kontrolnego (tab. 2). Dawki 2000 i 5000t/km²/rok pyłów kadmowo-cynkowych istotnie w stosunku do kontroli hamowały aktywność betaglukozydazy. Podobne istotne obniżenie aktywności badanego enzymu, średnio o 28% w stosunku do kontroli, obserwowano na poletku z dawką 500t/km²/rok pyłów kadmowych. Pozostałe dawki pyłów

Tabela 2
Table 2

Aktywność enzymatyczna gleb na poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej w latach 1988-1992

Enzymatic activity of soil on research plots in the Niepołomice Forest, 1988-1992

Rodzaj i dawka pyłu t/km ² /rok Kind and dose of dust (t/km ² /year)	Inwertaza Invertase ml Na ₂ S ₂ O ₃ /10g		Betaglukozydaza Betaglucosidase ml Na ₂ S ₂ O ₃ /10g		Ureaza Urease mg NH ₃ /10g		Asparaginaza Asparaginease mg NH ₃ /10g		Fosfataza kwaśna Acid phosphatase mg P ₂ O ₅ /100g		Dehydrogenazy Dehydrogenases mg TF/10g	
	x	±s	x	±s	x	±s	x	±s	x	±s	x	±s
Kontrola Control	8,36	3,33	10,21	2,57	35,40	14,68	14,97	4,02	7,71	2,21	4,32	1,47
Cd 100	7,82	2,92	9,05	2,43	27,59	10,47	14,42	3,70	6,49	2,55	2,65	0,61
Cd 500	6,26	2,98	7,01	1,71	25,60	11,39	0,25	2,00	8,44	1,59	0,72	0,22
Cd 1000	6,96	2,65	8,09	1,53	18,95	5,45	14,03	3,53	5,47	1,14	0,98	0,10
Cd 2000	6,12	2,78	7,44	1,16	23,42	9,50	11,16	3,10	7,74	2,43	0,60	0,33
Cd 5000	5,99	2,61	6,71	1,31	23,38	10,17	13,23	4,12	7,00	2,25	0,47	0,12
n=48	F=1,52		F=2,95*		F=2,30		F=6,54***		F=6,6***		F=14,95***	
Kontrola Control	8,36	3,33	10,21	2,57	35,40	14,68	14,97	4,02	7,71	2,21	4,32	1,47
Zn 100	5,59	2,86	7,71	2,70	28,96	12,29	14,82	3,96	7,79	2,29	1,72	0,61
Zn 500	6,15	3,33	7,34	2,84	25,14	10,05	10,59	3,43	7,13	1,18	0,73	0,22
Zn 1000	6,06	3,31	7,56	2,33	23,11	8,58	13,64	4,59	5,46	0,98	0,51	0,10
Zn 2000	6,24	2,76	7,53	1,76	15,61	5,88	10,61	4,12	6,90	1,27	0,58	0,33
Zn 5000	5,98	2,37	7,74	1,49	14,97	4,27	12,63	4,80	5,82	1,23	0,32	0,12
n=48	F=2,05		F=2,94*		F=5,82***		F=2,51*		F=6,64***		F=51,6***	

Oznaczenia jak w tabeli 1

Designations as in the table 1

kadmowo-cynkowych również obniżały tę aktywność (średnio o 16-17%) w stosunku do kontroli; nie były to jednak różnice istotne statystycznie.

O stopniu rozkładu związków azotowych w glebie można sądzić na podstawie działalności ureazy i asparaginazy. Rozkład mocznika pod wpływem ureazy stanowi istotne źródło azotu dla roślin (RUSSEL 1974). Wprowadzenie do gleby wysokich dawek pyłów cynkowych (2000 i 5000t/km²/rok) w Puszczy Niepołomickiej spowodowało istotnie wysoki spadek aktywności ureazy, odpowiednio o 56% i 58% w stosunku do kontroli. Dawki 100, 500 i 2000t/km²/rok obniżyły tę aktywność odpowiednio o 26%, 18% i 35% w stosunku do kontroli, nie były to jednak istotne różnice. Wpływ pyłów kadmowych na aktywność ureazy był słabszy. Istotne różnice w aktywności ureazy notowano jedynie pomiędzy kontrolą, gdzie aktywność była najwyższa i wynosiła ok. 35,4mg NH₃/10g, a poletkiem z dawką 1000 t/km²/rok, gdzie nastąpił spadek do ok. 18,95 mg NH₃/10g. Notowane różnice w aktywności ureazy pomiędzy kontrolą a poletkami o dawkach 100, 500, 2000 i 5000 t/km²/rok pyłów kadmowych nie były istotne statystycznie (tab. 2).

Wysiane na poletka doświadczalne w Puszczy Niepołomickiej pyły kadmowe i cynkowe w różnym stopniu obniżyły aktywność asparaginazy, enzymu hydrolizującego amid asparaginę na kwas asparaginowy i amoniak. Dawki 500 i 2000t/km²/rok pyłów cynkowych obniżyły aktywność tego enzymu średnio o 30%, dawka 5000 ton o 26%, natomiast dawki 500 i 2000 ton pyłów kadmowych średnio o 35% i 20% w stosunku do kontroli. Istotne różnice w aktywności asparaginazy, niezależnie od typu pyłu, notowano jedynie pomiędzy kontrolą, gdzie aktywność była najwyższa i wynosiła ok. 15 mg NH₃/10g, a poletkami z dawkami 500 i 2000t/km²/rok, gdzie w przypadku pyłów kadmowych, nastąpił spadek do odpowiednio: 9,3 i 11,2 mg NH₃/10g, a w przypadku pyłów cynkowych odpowiednio do 10,6 i 10,6 mg NH₃/10g. Notowane różnice w aktywności asparaginazy pomiędzy kontrolą a poletkami o dawkach 100, 1000 i 5000t/km²/rok pyłów cynkowych i kadmowych nie były istotne statystycznie (tab. 2).

Pod wpływem fosfataz uwalniane są z materii organicznej fosforany nieorganiczne, które są istotnym źródłem fosforu dla roślin (TROJANOWSKI 1973). Wprowadzone do gleby w Puszczy Niepołomickiej pyły kadmowo-cynkowe obniżyły aktywność fosfatazy kwaśnej w stosunku do kontroli, przy czym bardziej hamowały tę aktywność wysokie dawki pyłów cynkowych niż kadmowych. Dawki 1000 i 5000t/km²/rok pyłów cynkowych spowodowały istotne obniżenie aktywności fosfatazy kwaśnej, średnio 25-30% w stosunku do kontroli, natomiast niskie dawki tych pyłów nie wpłynęły w istotny sposób na aktywność tego enzymu (tab.2). W przypadku pyłów kadmowych istotną inhibicję fosfatazy kwaśnej notowano jedynie na poletku z dawką 1000t/km²/rok (spadek o 30%). Wystąpił również niewielki wzrost aktywności fosfatazy kwaśnej w stosunku do kontroli, na poletku z dawką 500t/km²/rok pyłów kadmowych (tab. 2).

Aktywność dehydrogenaz katalizujących w glebie reakcje utleniająco-redukujące rozpatrywana bywa jako wskaźnik działalności życiowej mikroorganizmów i ilości substancji humusowej podlegających rozkładowi przez drobnoustroje (TROJANOWSKI 1973). Wyraźny spadek aktywności dehydrogenaz na skutek zastosowanych pyłów kadmowo-cynkowych był obserwowany w całym okresie badawczym na wszystkich skażonych poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej. Dawka 100 t/km²/rok pyłów kadmowych spowodowała inhibicję aktywności dehydrogenaz o około 50% w stosunku do kontroli, natomiast wysokie dawki tych pyłów (1000, 2000 i 5000 t/km²/rok) spowodowały obniżenie o ok. 85%. Wprowadzone pyły cynkowe spowodowały jeszcze wyższy spadek aktywności dehydrogenaz niż pyły kadmowe; dawka 100 t/km²/rok obniżyła tę aktywność średnio o ok. 60% w stosunku do kontroli, a wysokie dawki tych pyłów obniżyły tę aktywność o ponad 90%. Obserwowane różnice pomiędzy kontrolą a poszczególnymi poletkami skażonymi zarówno pyłami cynkowymi jak i kadmowymi, były wysoce istotne statystycznie ($p = 0,001$).

Analiza wariancji wykazała również istotne różnice w aktywności dehydrogenaz pomiędzy poletkami z dawką 100 a 500 ton /km²/rok, a także pomiędzy poletkami z niskimi i wysokimi dawkami pyłów cynkowo-kadmowych (tab. 2). Dawki 5000 t/km²/rok pyłów cynkowych i kadmowych spowodowały najwyższą inhibicję aktywności dehydrogenaz, sięgającą ok. 90%.

6. DYSKUSJA

Aktywność wszystkich badanych enzymów na powierzchniach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej podlegała wahaniom sezonowym, związanym ze zmianami wilgotności, temperatury, natlenienia gleby oraz dopływu materii organicznej, co wykazały badania prowadzone w latach 1988-1992. Do podobnych wniosków doszli w swych badaniach DORMAAR i in. (1984) i JANUSZEK (1993), stwierdzając jednocześnie, że eksperyment laboratoryjny daleki jest od sytuacji polowej, gdzie gleby są pod stałym wpływem wielu czynników ekologicznych.

Kwaśny odczyn badanych gleb, stwierdzony na poletkach doświadczalnych w Puszczy Niepołomickiej mógł również niekorzystnie wpływać na rozwój mikroorganizmów glebowych, tym samym na aktywność enzymów, o czym donoszą TYLER (1974) oraz FRANKENBERGER i JOHANSON (1982). Tyler stwierdza ponadto, że wyższe pH gleb może przeciwdziałać spadkowi aktywności enzymatycznej gleb. Obserwowany wzrost pH badanych gleb na poletkach z wysianymi pyłami cynkowymi w Puszczy Niepołomickiej nie mógł wpłynąć na wzrost aktywności badanych enzymów, gdyż odczyn gleb nadal pozostawał kwaśny.

Z przeprowadzonych badań wynika, że zasobność podłoża w substancję organiczną jest, obok metali ciężkich, istotnym czynnikiem determinującym aktywność enzymów glebowych, na co wskazują istotne statystycznie korelacje pomiędzy zawartością C_{org} a aktywnością wszystkich badanych enzymów (0,508; 0,612). DOELMAN i HAANSTRA (1979) oraz BURNS (1982) w swych pracach zwracają uwagę na ścisły związek aktywności enzymatycznej gleb z zawartością w nich substancji organicznej.

Metale ciężkie wprowadzone do gleby wpływają na jej aktywność enzymatyczną w sposób bezpośredni tj. poprzez zmiany w składzie ilościowym i jakościowym mikroorganizmów aktualnie je produkujących (ZWOLIŃSKI, ZWOLIŃSKA 1984), jak też pośrednio przez zmianę właściwości fizykochemicznych gleby a tym samym poprzez oddziaływanie na enzymy zaadsorbowane przez minerały ilaste i humus. Prowadzone w Puszczy Niepołomickiej wieloletnie badania wskazują, że reakcja enzymów na wzrastający poziom metali ciężkich, wyrażona ich aktywnością, była niejednakowa. Wprowadzenie różnych dawek pyłów kadmowo-cynkowych nie wpłynęło istotnie na aktywność inwertazy, a aktywność betaglukozydazy była wyraźnie inhibowana jedynie przez wysokie dawki użytych pyłów.

Wyniki te znajdują potwierdzenie w badaniach SMITH'a (1981) i TYLER'a (1976), którzy również nie stwierdzili inhibicji inwertazy i betaglukozydazy w gradiencie skażeń kadmem i miedzią, obserwowali natomiast stymulację aktywności tych enzymów przy niższych dawkach toksykantów. W cytowanych badaniach jak również w badaniach STOTT'a i in. (1985), stwierdzono silną inhibicję aktywności fosfatazy kwaśnej przez związki cynku i miedzi. Badania NAPLEKOVEJ i BULAKOVA (1983) wskazują natomiast, że enzym ten był stymulowany przez związki ołowiu. W prowadzonych badaniach na poletkach skażonych w Puszczy Niepołomickiej dawki 1000 i 5000 t/km²/rok pyłów cynkowych istotnie obniżyły aktywność fosfatazy kwaśnej. Toksyczny wpływ wprowadzonych do gleby pyłów cynkowych na aktywność ureazy i asparaginazy obserwowano na poletkach doświadczalnych z dawkami 2000, 5000 oraz 5000 t/km²/rok, gdzie notowano istotny spadek ich aktywności.

Podobne wyniki badań przedstawiają SMITH (1981), TYLER (1976) oraz BÄÄTH (1989) i BADURA i in. (1980, 1984c). W przeprowadzonym eksperymencie w Puszczy Niepołomickiej wszystkie dawki wprowadzonych pyłów kadmowo-cynkowych spowodowały istotne obniżenie aktywności dehydrogenaz, sięgające w przypadku wysokich dawek pyłów (80-95% w stosunku do kontroli).

Potwierdzają to liczne badania (SKUJINS 1972, TYLER 1974, DOELMAN, HAANSTRA 1979, BADURA i in. 1984b, TURSKI i in. 1985, ZWOLIŃSKI i in. 1987, PAVLJUKOVA, DOLGOVA 1993), sugerujące jednocześnie, że aktywność dehydrogenaz może być czułym wskaźnikiem zanieczyszczeń gleb metalami ciężkimi. Ponadto DOELMAN i HAANSTRA (1979) oraz TYLER (1974) stwierdzają, że metale ciężkie reagują ze ścianami komórkowymi mikroorganizmów i oddziałują

przede wszystkim na błonę komórkową i organelle z nią związane. Może to tłumaczyć wysoce istotne zahamowanie aktywności dehydrogenaz związanych z błoną komórkową, jakie obserwowano w Puszczy Niepołomickiej, już przy niskich dawkach użytych pyłów.

Na podstawie otrzymanych wyników można przyjąć, że zmniejszanie się aktywności niektórych badanych enzymów tj. ureazy, asparaginazy, fosfatazy kwaśnej (przy wysokich dawkach użytych pyłów) i dehydrogenaz, mogło być wynikiem zarówno obniżenia aktywności mikroorganizmów, której powodem było zmniejszenie się ogólnej ich liczby, zmianami jakościowymi w ich obrębie, wydatnym obniżeniem ich procesów fizjologicznych, jak też obserwowanymi zmianami parametrów fizykochemicznych gleb, co stwierdzają w swych badaniach GRESZTA i in. (1987) oraz ZWOLIŃSKI i in. (1987, 1988). Dlatego też metale ciężkie zawarte w wysianych pyłach hutniczych wywierały wpływ zarówno na aktywność biochemiczną żyjących w glebie mikroorganizmów, jak i na reakcje przebiegające przy współdziałaniu enzymów zaadsorbowanych na koloidach glebowych.

Zahamowanie aktywności ureazy i asparaginazy oraz fosfatazy kwaśnej, jakie stwierdzono w prowadzonych badaniach, może z czasem doprowadzić do poważnego deficytu przyswajalnych form azotu i fosforu, podstawowych składników odżywczych ekosystemu (TYLER 1974; TRASAR-CEPEDA, GIL-SOTRES 1987). Dodatkowo zaburzenia w procesach utleniająco-redukujących, spowodowane inaktywacją dehydrogenaz, mogą powodować hamowanie podstawowych procesów biochemicznych związanych z rozkładem i przemianą substancji organicznej. Może to z czasem doprowadzić do poważnego zubożenia siedliska, co potwierdzają badania GRESZTY i in. (1987).

Badania prowadzone w warunkach polowych dowodzą, że oddziaływanie metali ciężkich na aktywność badanych enzymów glebowych jest słabsze niż w doświadczeniach modelowych. Może to być spowodowane możliwościami zmian toksyczności napływających pierwiastków, poprzez wiązanie z kwasami huminowymi i w konsekwencji ich inaktywacją (STEVENSON 1976, KROSSHAVN i in. 1993), a także możliwościami adaptacyjnymi mikroorganizmów (BALICKA, VARANKA 1978, ZWOLIŃSKI, ZWOLIŃSKA 1984).

Oddziaływanie toksycznych związków metali ciężkich może być procesem długotrwałym, nawet po wyeliminowaniu źródła emisji. Dowiodły tego badania prowadzone w Puszczy Niepołomickiej, gdzie toksyczny wpływ pyłów z elektrofiltrów huty cynku na aktywność enzymów obserwowano zarówno w rok po wysianiu pyłów (GRESZTA i in. 1987, ZWOLIŃSKI i in. 1988), jak i po dziesięcioletniej przerwie w ich dopływie do gleby. Wskazuje to również na słabe możliwości regeneracyjne gleb skażonych przez emisję huty cynku.

7. WNIOSKI

1. Wszystkie dawki pyłów kadmowo-cynkowych hamowały aktywność dehydrogenaz, które mogą być czułym wskaźnikiem zanieczyszczenia gleb metalami ciężkimi.

2. Wprowadzone do gleby wysokie dawki pyłów cynkowych:

– inaktywowały aktywność betaglukozydazy, ureazy, asparaginazy, fosfatazy kwaśnej,

– nie powodowały istotnych zmian w aktywności betafruktofuranozydazy (inwertazy).

3. Wprowadzone do gleby wysokie dawki pyłów kadmowych:

– wzmożyły aktywność betaglukozydazy, ureazy i fosfatazy kwaśnej,

– nie powodowały istotnych zmian w aktywności asparaginazy i inwertazy.

4. Spadek aktywności większości badanych enzymów notowano jeszcze po wielu latach po wprowadzeniu metali ciężkich do gleby, co wskazuje na długotrwałe oddziaływanie tych polutantów na środowisko.

5. Zaburzenia procesów mikrobiologicznego rozkładu i mineralizacji substancji organicznej, spowodowane wprowadzonymi pyłami kadmowo-cynkowymi, mogą być jednym z czynników doprowadzających do poważnego zubożenia siedliska.

Praca została przyjęta przez Komitet Redakcyjny 29 kwietnia 1997 r.

EFFECT OF CADMIUM-ZINC DUSTS ON THE ACTIVITY OF VARIOUS SOIL ENZYMES

Summary

The aim of the experiment was to determine the effects of toxic concentrations of dust taken from electrofilters of zinc smelter. The following doses of cadmium-zinc dusts were introduced: 100, 500, 1000, 2000, 5000 t/km² under the mixed coniferous stands in the Niepołomice Forest. Research on soil acidity (pH), contents of organic carbon and activity of invertase, betaglucosidase, asparaginease, acid phosphatase and dehydrogenases was carried out during 1988-89 and 1991-92.

The results indicate that introduced zinc dusts results in the increase of soil pH with pH changes, depending on dosage, from 0,2 to 1,5 units. Dosages of 2000 and 5000 t/km²/year did not change much activity of invertase but activity of betaglucosydase was significantly reduced comparing to control plots. Urease activity was inhibited by doses of zinc dust larger than 1000 t/km²/year and activity of asparaginease was significantly lower for doses of cadmium-zinc dusts 5000 and 2000 t/km²/year. A decrease of acid phosphatase activity on plots with dosage of cadmium-zinc dust 1000 and 5000 t/km²/year was noted. All doses of introduced cadmium-zinc dusts decreased the activity of dehydrogenases with the

largest doses being decreased to 95%, compared to the control plot. Observed reaction of activity of dehydrogenases to growing level of soil contamination with cadmium-zinc dusts indicates its usefulness as a sensitive bioindicator of soil contamination with heavy metals.
(transl. T. O., with author's verif.)

PIŚMIENNICTWO

- BÄÄTH E. 1989: Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). *Water, Air, Soil Poll.*, 47: 335-379.
- BABICH H., STOTZKY G. 1975: Air pollution and microbes. 2nd Intern. Symp. on Environ. Biogeochem., Ontario, Canada 8-12 kwietnia.
- BADURA L., PACHA J., ŚLIWA U. 1980: Wpływ cynku i miedzi na aktywność enzymatyczną gleby. *Acta Biol. Siles.*, 9: 128-143.
- BADURA L., BORKOWY C., PACHA J. 1984a: Aktywność wybranych enzymów w glebie poddanej jednoczesnemu działaniu siarczanu cynku i siarczanu kadmu. *Acta Biol. Siles.*, 15: 28-135.
- BADURA L., MICHALCZYK H., PACHA J., 1984b: Wpływ ołowiu na wybrane oksydoreduktazy w glebie z dodatkiem bentonitu. *Acta Biol. Siles.*, 15: 74-83.
- BADURA L., PACHA J., SKÓRSKA E., 1984c: Wpływ ołowiu na wybrane oksydoreduktazy glebowe. *Acta Biol. Siles.*, 15: 63-73.
- BALICKA N., VARANKA M.W. 1978: Wpływ przemysłowych zanieczyszczeń powietrza na mikroflorę gleby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 206: 17-27
- BRUCHWALD A. 1989: Statystyka matematyczna dla leśników SGGW i AR Warszawa.
- BURNS R. G. 1978: *Soil enzymes*. Academic Press, New York.
- BURNS R. G. 1982: Enzyme activity in soil: location and a possible role on microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.*, 34: 423-427.
- BURNS R. G. 1986: Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids. W: *Interactions of soil minerals with natural organics and microbes* (eds: P. A. Huang, M. Schnitzer). *Soil Sci.*, Madison Wis., 429-451.
- DOELMAN P. HAANSTRA L. 1979: Effect of lead on soil respiration and dehydrogenase activity. *Soil Biol. Bioch.*, 11/5: 475-479.
- DORMAAR J. P., JOHNSTON A., SMOLIAK M. D. 1984: Seasonal changes in carbon content and dehydrogenase, phosphatase and urease activities in mixed prairie and cue grassland Ah horizons. *J. Ran. Manag.*, 37: 31-35.
- FRANKENBERGER W. T., JOHANSON J. B. 1982: Effect of pH on enzyme stability in soils. *Soil Biol. Biochem.* 14: 433-437.
- GALSTJAN A. Š. 1978: *Opređenje aktivnosti fermentov počv – metodičeskie ukazanja*. Erevan.
- GRESZTA J., BRANIEWSKA S., CHRZANOWSKA E., NOSEK A., CHIODNY J., OLSZOWSKI J., ZWOLIŃSKI J. 1987: The influence of dusts from chosen industrial plants on particular links of forest ecosystem of the Niepolomice Forest. *Ekol. Pol.* 35/2: 291-326
- Instrukcja laboratoryjna dla pracowni gleboznawczo-nawożeniowych 1973: Praca zbiorowa pod red. Kowalkowskiego A. Warszawa – Sękocin.
- JANUSZEK K. 1993: Seasonal changes of enzyme activity in mor, moder, and mull humus of selected forest soils in the Western Beskid Mountains. *Fol. For. Pol.*, 35: 59-75.
- KROSSHAVN M., STEINNES E., VORSKOG P. 1993: Binding of Cd, Cu, Pb and Zn in soil organic matter with different vegetational background. *Water, Air Soil Poll.*, 71: 185-193.
- KUCHARSKI J., MILEWSKA-LARSKA T. 1992: Wpływ substancji organicznej i niektórych grup drobnoustrojów na liczebność i aktywność mikroorganizmów glebowych. III. Aktywność enzymów. *Zesz. Nauk. Akad. Rol. Tech. w Olsztynie* 54: 34-41.

- MARSZEWSKA-ZIEMIĘCKA J. 1974: Mikrobiologia gleby i nawozów organicznych. PWRiL Warszawa.
- NAPLEKOVA N. N., BULAKOV G. J. 1983: Fermentativnaja aktivnost počv zagraznennyh sojedinenijami svinca. Počvovedenie, 7: 35-40.
- PAVLIUKOVA N. F., DOLGOVA L. G. 1993: Indikacija edafotopov zagraznennyh technogennymi vieščestami po aktivnosti fermentov. Počvovedenie, 1: 45-47.
- Plan Urządzenia Gospodarstwa Leśnego Nadleśnictwa Niepołomice na okres 1.01.1979 - 31.11.1988.
- RUSSEL S. 1972: Metody oznaczania enzymów glebowych. PTG Komisja Biologii Gleby. Warszawa.
- RUSSEL S. 1974: Drobnoustroje a życie gleby. PWN Warszawa.
- SMITH W. H. 1981: Air pollution and forests. Interaction between air contaminans and forest ecosystems. Springer Verlag, New York – Heidelberg – Berlin, 1-379.
- SKUJINS J. 1972: Dehydrogenases: An indicator of biological activities in acid soils., 235-242.
- STEVENSON F. J. 1976: Binding of metal ions by humic acids. Environ. Biochem. 2: 519-540.
- STOTT D. E., DICK W. A., TABATABAI M. A. 1985: Inhibition of pyrophosphatase activity in soils by trace elements. Soil Science 139/2: 112-117.
- TROJANOWSKI J. 1973: Przemiany substancji organicznej w glebie. PWRiL Warszawa.
- TRAMPLER T., MAKOSA K., GIRZDA A., BAKOWSKI J., DMYTERKO E. 1990: Siedliskowe podstawy hodowli lasu. PWRiL Warszawa.
- TRASAR-CEPEDA M. C., GIL-SOTRES F. 1987: Phosphatase activity in acid high organic matter soils in Galicia (NW Spain). Soil Biol. Biochem., 19/3: 281-287.
- TURSKI R., STĘPNIEWSKA Z., WÓJCIKOWSKA-KAPUSTA A., KASIAK A. 1985: Wpływ metali ciężkich na aktywność dehydrogenazową i katalazową w glebach. Roczn. Glebozn., 36/2: 29-42.
- TYLER G. 1974: Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. Plant a. Soil, 41, 303-311.
- TYLER G. 1976: Heavy metal pollution, phosphatase activity, and mineralization of organic phosphorus in forest soils. Soil Biol. Biochem. 8, 327-332.
- ZWOLIŃSKI J., ZWOLIŃSKA B. 1984: Reakcje drobnoustrojów gleb leśnych na emisje przemysłu miedziowego. W: Reakcje biologiczne drzew na zanieczyszczenia przemysłowe. II Krajowe Sympozjum – Kórnik 16-19 maja, 327-331.
- ZWOLIŃSKI J., OLSZOWSKA G., ZWOLIŃSKA B. 1987: Soil biological activity as an indicator of industrial pressure on the forest environment. Acta Agr. Silv., Ser. Silv., 26, 25-44.
- ZWOLIŃSKI J., OLSZOWSKI J., OLSZOWSKA G., ZWOLIŃSKA B. 1988: The effect of industrial dust from different sources on the biological activity of soils. Zesz. Nauk. Akad. Rol.w Krakowie, 226.