

**Instytut Agrofizyki  
im. Bohdana Dobrzańskiego PAN  
w Lublinie**

**ACTA AGROPHYSICA**

**28**

**Teresa Włodarczyk**

**EMISJA I ABSORPCJA N<sub>2</sub>O  
NA TLE EMISJI CO<sub>2</sub> W GLEBACH  
BRUNATNYCH W ZRÓŻNICOWANYCH  
WARUNKACH OKSYDOREDUKCYJNYCH**

Monografia

Lublin 2000

### **Komitet redakcyjny**

Redaktor Naczelny - prof. dr hab. Jan Gliński, czł. koresp. PAN

Z-cy Redaktora Naczelnego:

prof. dr hab. Ryszard T. Walczak, czł. koresp. PAN - fizyka środowiska

prof. dr hab. Bogusław Szot - fizyka materiałów roślinnych

prof. dr hab. Ryszard Dębicki - gleboznawstwo

Redaktor tomu - dr Teresa Włodarczyk

### **Opiniował do druku**

prof. dr hab. Władysław Myśków

prof. dr hab. Witold Stępniewski

### **Adres redakcji**

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN

ul. Doświadczalna 4, P.O. Box 201, 20-290 Lublin 27

tel. (0-81) 744-50-61, e-mail: [fundacja@demeter.ipan.lublin.pl](mailto:fundacja@demeter.ipan.lublin.pl)

Publikacja indeksowana przez

Polish Scientific Journals Contents - Agric. & Biol. Sci.

w sieci Internet pod adresem <http://saturn.ci.uw.edu.pl/psjc/>

lub <http://ciuw.warman.net.pl/alf/psjc>

Pracę częściowo wykonano w ramach projektu badawczego Nr PB 615/P06/96/11  
finansowanego przez Komitet Badań Naukowych

© Copyright by Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN, Lublin 2000

ISBN 83-87385-42-5

ISSN 1234-4125

Wydanie I. Nakład 150 egz. Ark. wyd. 9,9

Skład komputerowy: dr Teresa Włodarczyk i Marek Pazur

Druk: Zakład Usług Poligraficznych TEKST s.c., ul. Wspólna 19, 20-344 Lublin

## SPIS TREŚCI

1. WSTĘP I CEL PRACY .....	5
2. MATERIAŁ GLEBOWY I METODY BADAŃ.....	8
2.1. Charakterystyka badanych gleb .....	8
2.1.1. Gleby brunatne wytworzone z piasków i żwirów.....	8
2.1.2. Gleby brunatne wytworzone z glin.....	11
2.1.3. Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów.....	11
2.2. Schemat doświadczenia .....	11
2.3. Metody badań.....	12
2.3.1. Oznaczenia podstawowych właściwości gleb .....	12
2.3.2. Oznaczenie składu powietrza nad próbką gleby w warunkach doświadczenia.....	13
3. WYNIKI BADAŃ I Dyskusja.....	15
3.1. Dynamika procesów zachodzących w czasie inkubacji gleb .....	15
3.1.1. Dynamika emisji i przemian podtlenku azotu w glebach.....	15
3.1.2. Dynamika mineralizacji węgla w glebach.....	21
3.1.3. Dynamika rozkładu azotanów w glebach.....	23
3.1.4. Dynamika zmian potencjału oksydoredukcyjnego w glebach.....	28
3.1.4.1. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od pH gleby.....	30
3.1.4.2. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od zawartości azotanów w glebach.....	32
3.1.4.3. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od składu mechanicznego gleb i wyjściowej zawartości substancji organicznych .....	37
3.1.5. Dynamika zmian pH w glebach .....	38
3.2. Denitryfikacja gleb w zależności od czynników środowiskowych .....	39
3.2.1. Emisja N <sub>2</sub> O z gleb i jego redukcja .....	39
3.2.2. Denitryfikacja w zależności od potencjału oksydoredukcyjnego gleb (Eh).....	43
3.2.3. Denitryfikacja w zależności od zawartości azotanów w glebach .....	51
3.2.4. Denitryfikacja w zależności od wartości pH gleb .....	79
3.2.5. Denitryfikacja w zależności od przemian węgla organicznego gleb.....	84
3.2.6. Denitryfikacja w zależności od składu mechanicznego gleb.....	89
3.3. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w warunkach ich pełnego zalania w zależności od czynników na nią wpływających.....	92
3.3.1. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w zależności od wyjściowej zawartości węgla organicznego.....	97
3.3.2. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w zależności od ich potencjału oksydoredukcyjnego .....	98
3.3.3. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w zależności od ich pH .....	100
3.3.4. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w zależności od skały macierzystej .....	102
3.3.5. Emisja CO <sub>2</sub> z gleb w zależności od zawartości azotanów.....	103
3.3.5.1. Stosunek C zmineralizowanego do N – NO <sub>3</sub> zredukowanego.....	106
4. WNIOSKI .....	112
5. LITERATURA .....	117
6. SUMMARY .....	131



## 1. WSTĘP I CEL PRACY

Procesy denitryfikacji w glebie – redukcji azotanów do  $N_2O$  i do  $N_2$ , można rozpatrywać jako homeostatyczny system biochemicznych reakcji, o intensywności zróżnicowanej pod wpływem czynników środowiskowych, m.in. takich jak: wilgotność, temperatura, pH, zawartość mineralnych i organicznych związków węgla i azotu [15, 14, 66, 117, 69, 57].

Denitryfikacja spełnia ważną funkcję w przemianach azotu w glebie, przeciwdziałając gromadzeniu się w niej azotanów w następstwie nieracjonalnego stosowania nawozów i zabiegów agrotechnicznych [14, 33, 34] oraz zamykające cykl krążenia azotu w przyrodzie.

Produktem pośrednim w procesach denitryfikacji jest m.in. podtlenek azotu - gazowy związek intensyfikujący tzw. „efekt cieplarniany” – którego głównym źródłem są ekosystemy lądowe [32, 101, 139].

Według Schönwiese [137] intensyfikacja „efektu cieplarnianego” – w konsekwencji działalności człowieka stanowi poważne zagrożenie dla zdrowotności niższych i wyższych organizmów.

Przy rozpatrywaniu procesów wywołujących „efekt cieplarniany” należy zwrócić uwagę na powstawanie tak zwanych „gazów szklarniowych” obejmujących nie tylko podtlenek azotu, ale także  $CO_2$  i  $CH_4$ . Należy podkreślić, że zdolność pochłaniania promieni podczerwonych przez  $N_2O$  przewyższa niemal 300 razy pochłanianie tych promieni przez dwutlenek węgla. Fakt ten oraz obserwowana w atmosferze tendencja wzrostu jego stężenia powodują, iż rola podtlenku azotu w przyszłości może znacznie wzrosnąć. Tłumaczy to duże zainteresowanie badaczy  $N_2O$  jako gazem szklarniowym.

Rozmiary „efektu cieplarnianego” są trudne do oszacowania. Zebrano bowiem materiały liczbowe wskazujące na jego stopniowe nasilanie się, jak również takie, które nie wykazały lub przeczyły wymienionej tendencji. Według Schönwiese [137] o nasilaniu się „efektu cieplarnianego” świadczyłoby postępujące ocieplenie klimatu: notowany przyrost temperatury Ziemi (0,5 deg od początku wieku), przyrost poziomu wód w oceanach (2 mm/rok), przyrost  $CO_2$ ,  $N_2O$  i innych gazów. Natomiast argumenty przeciwne lub nasuwające wątpliwości co do nasilania się „efektu cieplarnianego” opierają się na takich stwierdzeniach jak: cykliczność zmian kli-

matu Ziemi, uproszczenia zastosowane w modelach uwzględniających ocieplenie, zniekształcenie wartości empirycznych dotyczących oddziaływania miast, nierównomierność rozmieszczenia stacji pomiarowych, niezgodność zmian temperatury z zastosowanymi modelami, regionalność występujących zmian, których nie stwierdzono w skali globalnej, niezgodność między pojawieniem się ocieplenia w XX w. i przyrostem m.in. CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>, możliwość adaptacji biosfery i oceanów do wchłonięcia większych ilości CO<sub>2</sub>.

Ilość N<sub>2</sub>O w ciągu ostatnich lat nieustannie wzrasta – o około 0,3 % rocznie [88] – głównie w agroekosystemach a także w przemysłowych i miejskich aglomeracjach, o dużym zagęszczeniu ludności.

Źródłami antropogennymi N<sub>2</sub>O są m.in. spalanie paliw kopalnych, stosownie katalizatorów samochodowych oraz wytwarzanie nawozów i syntetycznych tkanin. Ilości N<sub>2</sub>O powstałe w naturalnych ekosystemach szacuje się na około 6 Tg N<sub>2</sub>O-N rok<sup>-1</sup>, zaś wytworzone w glebach uprawnych - 3,5 Tg N<sub>2</sub>O-N rok<sup>-1</sup> [76].

Procesy mikrobiologiczne zachodzące w glebie uważane są za główny czynnik powstawania podtlenku azotu [13]. Szacuje się, że ponad 50 % emisji podtlenku azotu do atmosfery pochodzi z gleby [33].

Podtlenek azotu powstaje w glebie głównie podczas procesów mikrobiologicznych nityfikacji i denityfikacji [34, 62, 66, 147]. Jednocześnie gleba może być również sorbentem N<sub>2</sub>O [61]. Badania Freneya i wsp. [61] dostarczają dowodów, że skutki wywoływane przez denityfikację w glebie mogą być zarówno niekorzystne jak i korzystne. Jednym z ważnych zagadnień w zakresie ujemnych skutków denityfikacji byłoby opracowanie sposobów zminimalizowania strat azotu powstających w następstwie redukcji azotanów.

Według Freneya i wsp. [62] nasilenie powstawania N<sub>2</sub>O w glebie uzależnione jest od jej temperatury, pH, pojemności wodnej, zabiegów irygacyjnych, nawożenia, zabiegów uprawowych, typu gleby, stanu aeracji, dostępności węgla, pokrywy roślinnej i stosowania środków chemicznych.

Przytoczone wyżej czynniki, do których należy dodać historię analizowanej gleby oraz skład gatunkowy wyselekcjonowanych w niej drobnoustrojów, wskazują na wielorakość wzajemnych powiązań w układzie: gleba - roślina - drobnoustroje. Złożoność tych powiązań zwiększa fakt, że podtlenek azotu nie jest jedynym gazem powstającym w glebie. Przy ograniczonym dostępie tlenu cząsteczkowego lub jego braku tworzą się w glebie oprócz N<sub>2</sub>O między innymi CO<sub>2</sub> i CH<sub>4</sub>. Przy tym zwiększenie w glebie do-

stępnym źródłem C i N pociąga za sobą zmianę ilości i wzajemnych proporcji tych gazów.

W glebach pod uprawą roślin ustalają się - po sezonowych wahaniami - charakterystyczne dla tych agrocenoz zawartości składników organicznych i mineralnych, co znajduje swoje odzwierciedlenie w wartości stosunku C:N [60].

Przechowywanie gleb w stanie powietrznie suchym przypomina okres przedłużonej suszy i zapewnia „wyrównanie” rozpatrywanych stosunków. Natomiast zalanie powietrznie suchych gleb ujawnia ich potencjalne możliwości denitryfikacyjne. Opisany sposób może być przyjęty jako przydatny do szacowania strat azotu w glebach w następstwie redukcji dysymilacyjnej azotanów. Na tej podstawie proponuje się w niniejszej pracy nazwać procesy biochemiczne zachodzące w glebach uprawnych, przy zawartości azotanów nie mniejszej niż  $100 \text{ mg NO}_3^- \text{ N kg}^{-1}$ , przy ustabilizowanej wartości stosunku C:N oraz w warunkach pełnego zalania gleby - **pojemnością denitryfikacyjną**. Uzyskane w ten sposób wyniki pozwalają określić potencjalne możliwości gleb do redukcji azotanów i szacować straty spowodowane tym procesem. Daje to realne możliwości porównywania gleb pomiędzy sobą i określenia, które z nich wymagają uregulowania stosunków wodnych. Oszacowanie potencjalnych zdolności gleb brunatnych do emisji trzech podstawowych gazów szklarniowych:  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$  i  $\text{CH}_4$ , daje również cenne informacje przydatne w prognozowaniu zagrożenia środowiska naturalnego człowieka.

Biologiczna denitryfikacja – główny cel przeprowadzonych badań - jest ostatnim etapem w cyklu azotowym, gdzie azot  $\text{N}_2$  jest zwracany do atmosfery. Biologiczna denitryfikacja jest procesem oddechowym, w którym tlenki azotu (akceptory elektronów) są enzymatycznie redukowane w warunkach beztlenowych do  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2$ , magazynując wyzwoloną energię w związkach wysokoenergetycznych (ADP, ATP).

Z definicji denitryfikacji biologicznej wynika, że czynnikami, które będą miały decydujący wpływ na jej przebieg są: stan natlenienia gleby, zawartość azotanów, substancje organiczne oraz pH gleby i jej rodzaj.

Przeprowadzone badania miały na celu: 1). Bliższe poznanie procesów denitryfikacji w glebach brunatnych i warunkujących je czynników – w oparciu o wydzielanie  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{CO}_2$  oraz, 2). Ocenę strat azotu - spowodowanych denitryfikacją – z punktu widzenia praktyki rolniczej na tle mineralizacji węgla.

## 2. MATERIAŁ GLEBOWY I METODY BADAŃ

### 2.1. Charakterystyka badanych gleb

Badania przeprowadzono na 16 glebach brunatnych pochodzących z banku gleb, utworzonego w latach 1988/89 w Instytucie Agrofizyki PAN.

Wybrane do badań gleby pochodzą z warstwy Ap (o miąższości od 0-30 cm; Tabela 1) i są zróżnicowane pod względem rodzajowym, reprezentując piaski, gliny, ily i pyły.

Próbki wzięte do badań przechowywane były w stanie powietrznie suchym w temperaturze pokojowej (w zakresie temperatur od 10 do 20° C) od 1989 do 1996 i 1997 roku.

Podstawową charakterystykę badanych gleb przedstawiono w Tabeli 1 i 2.

Objęty badaniami materiał glebowy charakteryzuje się zróżnicowaną zawartością materii organicznej od 0,32, do 2,85%, szerokim zakresem wartości pH w granicach od 4,13 do 7,53 i szerokim spektrum zawartości azotanów od 4,5 do 67 mg N-NO<sub>3</sub> kg<sup>-1</sup>. Badane gleby charakteryzuje zróżnicowany skład granulometryczny, z zawartością frakcji piasku od 1 do 89% i frakcji koloidalnej od 0 do 35%. Tak więc wytypowane do badań gleby spełniają wymóg reprezentatywności gleb brunatnych dla obszaru całej Polski.

#### 2.1.1. Gleby brunatne wytworzone z piasków i żwirów

Gleby brunatne wytworzone z piasków i żwirów charakteryzują się niską zawartością materii organicznej w zakresie od 0,32 do 0,88%. Poziomy uprawne tych gleb wykazują odczyn od bardzo silnie kwaśnego do obojętnego w przedziale od 4,45 do 7,07. Gleby te charakteryzuje



Tabela 1. Podstawowa charakterystyka gleb  
Table 1. Basic properties of the soils

Rodzaj gleby	Głębokość warstwy Ap [cm]	Nr i typ gleby	Skład granulometryczny [mm]							C <sub>org</sub> [%]	NO <sub>3</sub> -N [mg kg <sup>-1</sup> ]
			1,0-0,1	0,1-0,05	0,05-0,02	0,02-0,005	0,005-0,002	<0,002			
Gleby brunatne wytworzone z piasków	5-10	39 Bps.pl	89	6	0	5	0	0	0,67	4,53	
	15-25	224 Bzp	81	4	4	6	2	3	0,32	6,47	
	10-20	342 Bpgm.gl	70	4	7	10	4	5	0,44	29,94	
	0-30	434 Bppl:gl	71	10	8	2	3	6	0,74	18,49	
	10-25	543 Bpgm.ps	57	12	11	14	3	3	0,88	9,78	
	0-15	772 Bppl.pl	76	8	3	3	9	1	0,49	13,66	
Gleby brunatne wytworzone z glin	10-15	110 Bgs.gl	40	14	11	13	9	13	0,67	10,25	
	0-24	328 Bgt:ps	48	15	7	11	5	14	0,77	9,46	
	10-25	351 Bgl	71	0	8	8	5	8	0,57	17,88	
	5-20	922 Bglp:sk	16	39	18	15	8	4	1,89	5,37	
	5-15	951 Bgcp.sk	8	24	20	23	17	8	2,85	65,76	
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	15-20	113 Bppl	66	12	14	2	6	0	0,92	58,2	
	15-20	147 Bi	2	14	7	20	22	35	1,95	9,97	
	10-20	672 Bli	1	27	33	27	5	7	0,94	67,42	
	5-20	947 Bip	4	48	16	16	11	5	2,31	32,93	
	10-20	984 Bpli	16	11	37	25	5	6	1,24	7,87	

Tabela 2. Charakterystyka fizykochemiczna gleb  
Table 2. Physico-chemical properties of the soils

Rodzaj gleby	Głębokość warstwy Ap [cm]	Nr i typ gleby	pH <sub>0</sub> *	pH <sub>0+NO3</sub> *	pH <sub>1,0i.c.</sub>	Eh <sub>0</sub> * [mV]	Eh <sub>0+NO3</sub> * [mV]	Eh <sub>1,0i.c.</sub>
Gleby brunatne wytworzone z piasków	5-10	39 Bps.pl	4,64	4,69	4,9	295	292	218
	15-25	224 Bzp	6,32	7,35	6,43	256	238	203
	10-20	342 Bpgm.gl	7,07	7,38	7,5	290	268	204
	0-30	434 Bpgl:gl	4,45	4,25	5,23	321	331	219
	10-25	543 Bpgm.ps	5,99	5,56	5,48	295	298	204
0-15	772 Bpgl.pl	4,5	3,98	4,58	314	322	215	
Gleby brunatne wytworzone z glin	10-15	110 Bgs.gl	4,38	4,72	4,91	284	296	206
	0-24	328 Bgl:ps	6,03	6,85	6,99	229	220	193
	10-25	351 Bgl	7,53	7,61	6,47	286	286	189
	5-20	922 Bglp:sk	4,45	3,83	5,92	295	248	193
	5-15	951 Bgcp.sk	4,14	3,94	5,64	316	315	204
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	15-20	113 Bpłp	4,5	4,95	5,07	313	332	207
	15-20	147 Bi	6,66	6,7	7,38	290	291	105
	10-20	672 Bli	4,85	4,68	5,53	303	303	213
	5-20	947 Bip	5,29	5,37	6,8	302	302	178
	10-20	984 Bpli	4,87	4,71	6,49	312	311	172

\* zero w indeksie oznacza wynik analizy z zerowego dnia inkubacji

zróżnicowana zawartość azotanów w granicach od 4,5 do 30,0 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$   $\text{kg}^{-1}$  gleby. Wyjściowy potencjał oksydoredukcyjny tych gleb wynosił od +256 do +321 mV.

### *2.1.2. Gleby brunatne wytworzone z glin*

Gleby brunatne wytworzone z glin charakteryzują się zróżnicowaną zawartością materii organicznej w zakresie od 0,57 do 2,85%. Poziomy próchniczne tych gleb wykazują odczyn od bardzo silnie kwaśnego do zasadowego w przedziale od 4,14 do 7,53. Gleby te charakteryzuje bardzo zróżnicowana zawartość azotanów, która obejmuje zakres od 5,4 do 66 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$   $\text{kg}^{-1}$  gleby. Wyjściowy potencjał oksydoredukcyjny tych gleb zawierał się w granicach od +229 do +316 mV.

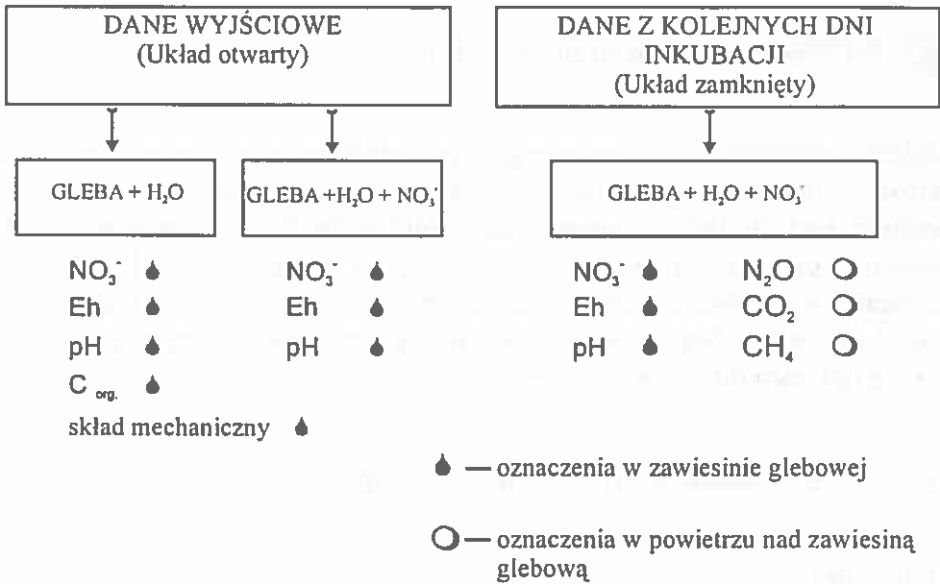
### *2.1.3. Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów*

Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów charakteryzują się stosunkowo wysoką zawartością materii organicznej w zakresie od 0,92 do 2,31%. Poziomy próchniczne tych gleb wykazują odczyn od silnie kwaśnego do obojętnego w przedziale od 4,50 do 6,66. Gleby te charakteryzuje stosunkowo wysoka zawartość azotanów, która waha się w granicach od 7,87 do 67,4 mg  $\text{NO}_3\text{-N}$   $\text{kg}^{-1}$  gleby. Wyjściowy potencjał oksydoredukcyjny tych gleb zawierał się w granicach od +290 do +313 mV.

## **2.2. Schemat doświadczenia**

Do badań wykorzystano gleby przechowywane w stanie powietrznie suchym, w których wszystkie procesy biochemiczne zostały spowolnione przez brak wody. Sytuację taką możemy obserwować w czasie długotrwałej suszy w warunkach naturalnych. Opady deszczu zmieniają radykalnie środowisko bytowania drobnoustrojów i wywoływane przez nie reakcje biochemiczne. Przeprowadzone badania obejmowały analizę materiału glebo-

wego na początku inkubacji (układ otwarty) i po upływie zróżnicowanego okresu jej trwania, (układ zamknięty).



## 2.3. Metody badań

### 2.3.1. Oznaczenia podstawowych właściwości gleb

Oznaczenia składu granulometrycznego (metodą Cassagrande'a w modyfikacji Prószyńskiego), pH (metodą elektrometryczną), Eh (metodą potencjometryczną), zawartość azotanów (metodą spektrofotometryczną) wykonano w Instytucie Agrofizyki PAN w Lublinie. Oznaczenia zawartości węgla (metodą Tiurina) wykonano w Instytucie Gleboznawstwa i Kształtowania Środowiska Przyrodniczego AR w Lublinie.

W celu oznaczenia wyjściowej wartości pH<sub>0</sub> i Eh<sub>0</sub>, 5 g próbki powietrznie suchej gleby zalewano wodą destylowaną w ilości 5 ml i równoległe próbki

- 5 ml wody destylowanej z dodatkiem  $\text{KNO}_3$  w ilości  $100 \text{ mg KNO}_3\text{-N kg}^{-1}$  gleby. Wyjściową wartość odczynu  $\text{pH}_o$  zawiesiny glebowej mierzono metodą elektrometryczną przy użyciu szklanej elektrody zespolonej (Radiometer, Copenhagen). Potencjał redoks mierzono elektrodą platynową z drutu o wymiarach  $0,5 \times 4 \text{ mm}$  (standaryzowaną w buforze Michaelisa) wobec elektrody kalomelowej.

Wyjściową zawartość azotanów oznaczano w 5 g powietrznie suchej gleby zawieszanej w 105 ml  $0,025\text{n CaCl}_2$  i 105 ml  $0,025\text{n CaCl}_2$  z dodatkiem  $\text{KNO}_3$  w ilości  $100 \text{ mg KNO}_3\text{-N kg}^{-1}$  gleby. Zawiesinę wytrząsano 2 godziny. W przesączonym roztworze oznaczano zawartość jonu azotanowego przy użyciu spektrofotometru przepływowego FIA-Star 5010 firmy Tecator.

### *2.3.2. Oznaczenie składu powietrza nad próbką gleby w warunkach doświadczenia*

Do oszacowania potencjalnej emisji podtlenku azotu ( $\text{N}_2\text{O}$ ) i mineralizacji węgla ( $\text{CO}_2$ ) z wybranych gleb w warunkach zalania, wykorzystano metodę chromatografii gazowej. Analizę chromatograficzną gazu z nad powierzchni zalanej próbki glebowej wykonano na chromatografie gazowym GC-14 firmy Shimadzu wyposażonym w dwa detektory: przewodnictwa cieplnego (TCD) do oznaczenia  $\text{CO}_2$  na kolumnie wypełnionej Porapakem Q (temperatura TCD  $60^\circ\text{C}$ , kolumny  $80^\circ\text{C}$ , dozownika  $40^\circ\text{C}$ , prędkość przepływu helu stanowiącego gaz nośny -  $60 \text{ ml min}^{-1}$ ) oraz wychwyty elektronów (ECD) do oznaczania  $\text{N}_2\text{O}$  na Porapaku Q (temperatura ECD  $300^\circ\text{C}$ , kolumny  $80^\circ\text{C}$ , dozownika  $120^\circ\text{C}$ ). Objętość analizowanej próbki gazowej wynosiła  $0,025 \text{ ml}$ .

Naważki 5 g powietrznie suchej gleby umieszczano w naczynkach inkubacyjnych o pojemności ok.  $60 \text{ cm}^3$ . Glebę zalewano wodą destylowaną w ilości 4,5 ml i 0,5 ml roztworu  $\text{KNO}_3$  o zawartości  $100 \text{ mg N kg}^{-1}$  gleby. Naczynka zamknięto korkami gumowymi z membraną umożliwiającą pobranie próbki gazu i zakapslowano nasadką aluminiową. Tak przygotowane buteleczki odpowietrzano i wymieniało nie mniej niż 50% powietrza nad glebą na hel.

Inkubację prowadzono przez okres 34 dni w temperaturze  $20^\circ \text{C}$ . Analizę powietrza na zawartość  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{CO}_2$  przeprowadzono po upływie 1, 2, 3, 7,

10, 14, 21, 28, 32 i 34 dnia inkubacji. Równolegle w inkubowanych próbkach glebowych oznaczono pH i Eh oraz zawartość azotanów.

Wyniki badań poddano analizie regresji wielokrotnej dla zmiennej zależnej i niezależnej, stosując wykres rozrzutu 2W. Dla poszczególnych zależności wyznaczono współczynniki determinacji ( $R^2$ ) pojedynczych wyników. W przypadku zależności złożonych, opisywanych przez dwie, czasami różne funkcje matematyczne, zastosowano metodę wartości średnich zmiennej zależnej dla określonych zakresów zmiennej niezależnej.

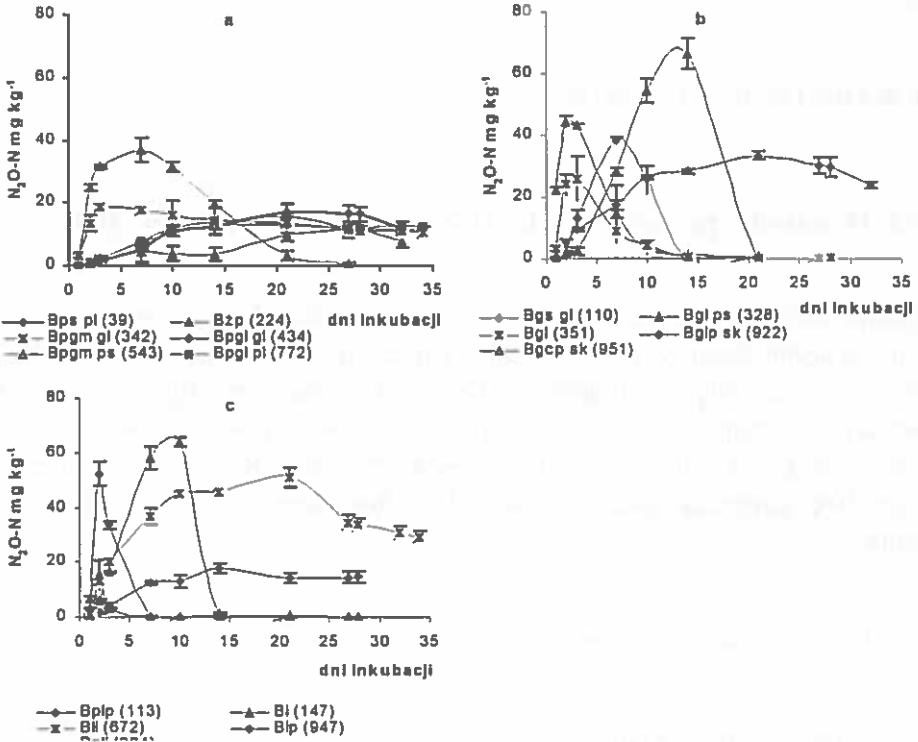
### 3. WYNIKI BADAŃ I Dyskusja

#### 3.1. Dynamika procesów zachodzących w czasie inkubacji gleb

Zatopienie gleby wodą zmienia drastycznie warunki rozwoju bytujących w niej drobnoustrojów. Gleba wraz z zasiedlającymi ją mikroorganizmami reaguje na zmianę warunków natlenienia, które znajdują swój wyraz w zmianach potencjału redoks, wartości pH, ilości produkowanych gazów i zmniejszającej się ilości substratów oddechowych. Rozdział ten przedstawia analizę zmian zachodzących w glebach brunatnych w stanie ich pełnego zalania.

##### 3.1.1. Dynamika emisji i przemian podtlenku azotu w glebach

W badanych glebach obserwowano typowy dla procesów mikrobiologicznych, przebieg krzywej wydzielania podtlenku azotu (Rys. 1a,b,c) charakteryzujący się fazą wzrostu, maksymalnej jego zawartości w fazie gazowej i spadku. Badane gleby charakteryzują się zróżnicowaną ilością wydzielanego  $N_2O$ . Niższą jego emisję stwierdzono w glebach lżejszych, wytworzonych z piasków, wyższą zaś w glebach cięższych, wytworzonych z glin, pyłów i ilów. Ilość wydzielonego  $N_2O$  w badanych glebach w ciągu 34 dni inkubacji wahała się od 11,4 do 66,5  $mg N_2O-N kg^{-1}$  gleby. W glebach wytworzonych z piasków zaobserwowano w tym czasie emisję od 11,4 (gleba Nr 224 wytworzona ze żwiru piaszczystego) do 36,7  $mg N_2O-N kg^{-1}$  gleby (gleba Nr 543 wytworzona z piasku gliniastego mocnego). Średnią emisją podtlenku azotu charakteryzowały się gleby wytworzone z ilów i pyłów, w których stwierdzono od 12,8 (gleba Nr 672 wytworzona z utworu lessowatego ilastego) do 58,0  $mg N_2O-N kg^{-1}$  gleby (gleba Nr 984 wytworzona z pyłu ilastego). Najwyższą aktywnością denitryfikacyjną wykazały się gleby wytworzone z glin, w których produkcja  $N_2O$  wynosiła od



Rys. 1. Krzywe kumulatorywne emisji i absorpcji  $N_2O$  w glebach wytworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c).

Fig. 1. Cumulative curves of the emission and absorption of  $N_2O$  from the soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c).

26,0 (gleba Nr 351 wytworzona z gliny lekkiej) do 66.47  $mg\ N_2O-N\ kg^{-1}$  gleby (gleba Nr 951 wytworzona z gliny ciężkiej pylastej).

Analiza krzywych kumulatorywnych ilości wydzielonego  $N_2O$  pozwoliła wyznaczyć okres czasu po jakim zaobserwowano maksimum jego zawartości. Okres ten wynosi od dwóch do 28 dni. Najszybszą emisję podtlenku azotu zaobserwowano w glebach wytworzonych z glin: - dwie spośród pięciu analizowanych gleb gliniastych swoje maksimum emisji osiągnęły po 2-3 dniach, jedna po siedmiu dniach i pozostałe dwie, po 14 dniach inkubacji (Rys. 1b). Nieznacznie wolniejszą produkcją podtlenku azotu charakteryzowały się gleby wytworzone z ilów i pyłów - dwie spośród pięciu analizowanych gleb, swoje maksimum emisji osiągnęły po 2-3 dniach, jedna po

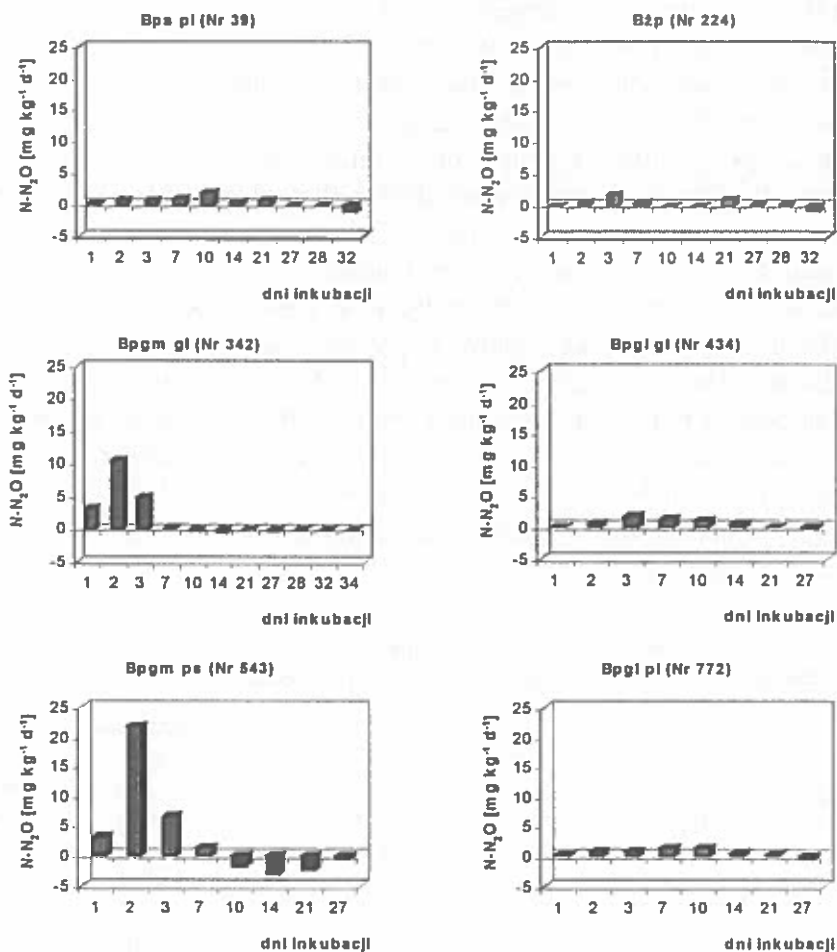


siedmiu dniach, jedna po 14 dniach i jedna po 21 dniach (Rys. 1c). Najwolniejsze tempo emisji podtlenku azotu stwierdzono w glebach wytworzonych z piasku. Jedna spośród sześciu analizowanych gleb piaszczystych swoją maksymalną produkcję  $N_2O$  osiągnęła po trzecim dniu, jedna - po siedmiu dniach, trzy - po 21 dniach a jedna - po 28 dniach (Rys. 1a).

Podobnie kształtuje się aktywność denitryfikacyjna gleb w przeliczeniu na średnią ilość wytworzonego podtlenku azotu przypadająca na jeden dzień okresu jego powstawania. Przy tej samej dawce zadanych azotanów, najniższą ilość wyemitowanego  $N_2O$  stwierdzono w glebie piaszczystej (Nr 224-Bżp) -  $0,4 \text{ mg } N_2O-N \text{ d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  gleby, najwyższą zaś w glebie wytworzonej z łu pylastego (Nr 947-Bip) -  $24,5 \text{ mg } N_2O-N \text{ d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  gleby (Tabela 3). Analiza przyrostu dobowego podtlenku azotu potwierdza duże zróżnicowanie badanych gleb. Najwyższy dobowy przyrost  $N_2O$  stwierdzono również w glebie wytworzonej z łu pylastego (Nr 947-Bip) -  $49,2 \text{ mg } N_2O-N \text{ d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  gleby, najniższą zaś w glebie piaszczystej (Nr 224-Bżp) -  $1,45 \text{ mg } N_2O-N \text{ d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$  gleby. (Rys. 2 a,b,c).

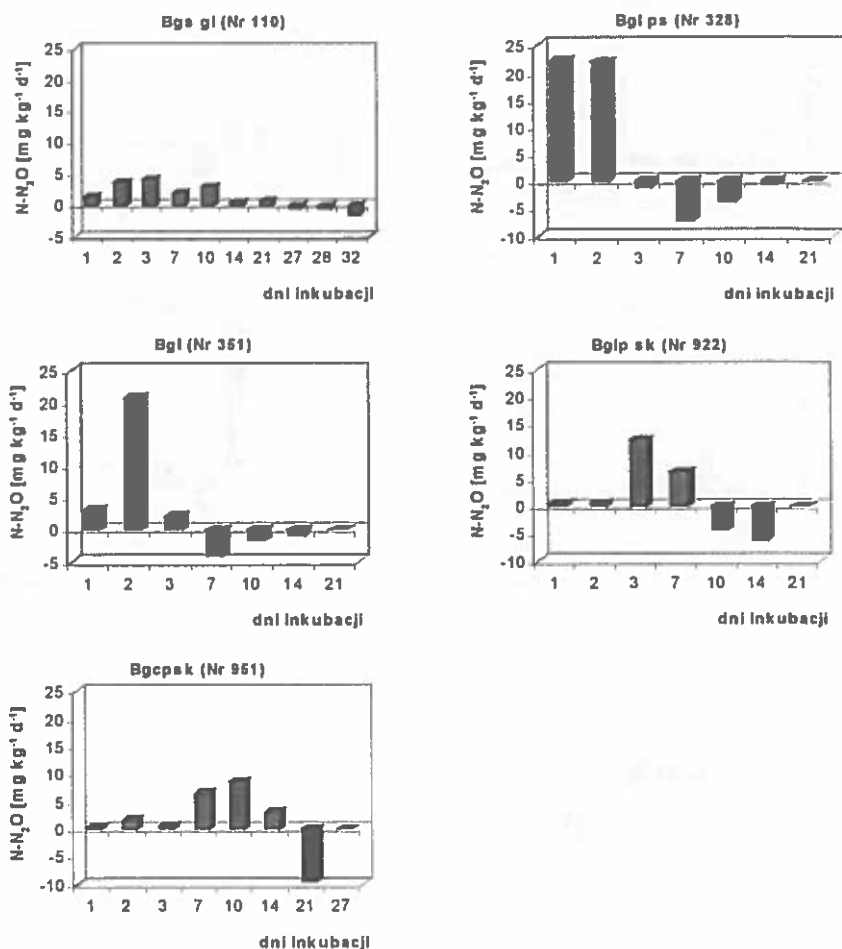
**Tabela 3.** Zmiany stężenia  $N_2O$  i zawartości azotanów  
**Table 3.** Changes in the concentration of  $N_2O$  and nitrate content

Rodzaj gleby	Nr gleby	$N_2O$ [ $\text{mg kg}^{-1}$ ]			Ubytek całkowity $NO_3$ [%]	Maks.udz. $N_2O$ w red. $NO_3$ w dniu max.zaw. [%]	Min.udz. $N_2+NH_4$ w red. $NO_3$ [%]
		Średni przyrost na dobę	Średni ubytek na dobę	Ubytek [%]			
Gleby brunatne wytworzone z piasków	39 Bps. pl	0,82	0,47	30	36,5	62,4	37,6
	224 Bżp	0,41	0,86	30,2	22,1	76	24
	342 Bpgm.gl	5,07	0,31	52,9	59,4	42,7	67,3
	434 Bpgl:gl	0,61	0,1	10	25	63,3	36,7
	543 Bpgm.ps	4,8	1,81	98,4	86,4	66,6	33,4
	772 Bpgl.pl	0,71	0,23	20	31,1	69,8	30,2
Gleby brunatne wytworzone z glin	110 Bgs.gl	1,51	0,9	29,5	67,8	58,4	41,6
	328 Bgl:ps	11,03	2,31	99,2	100	61,3	38,7
	351 Bgl	7,64	1,03	99,3	100	54,9	45,1
	922 Bglp:sk	5,45	2,76	99,9	100	90,3	9,7
	951 Bgcp.sk	4,73	4,75	100	100	68	32
Gleby brunatne wytworzone z iłów i pyłów	113 Bpłp	1,28	0,23	18,4	20,2	91,1	8,9
	147 Bi	4,29	0,58	99,3	100	31,1	68,9
	672 Bli	2,37	1,68	42,7	60,3	96,5	3,5
	947 Bip	24,53	2,01	100	100	54,7	45,3
	984 Bpli	6,41	3,56	100	100	99,6	0,4



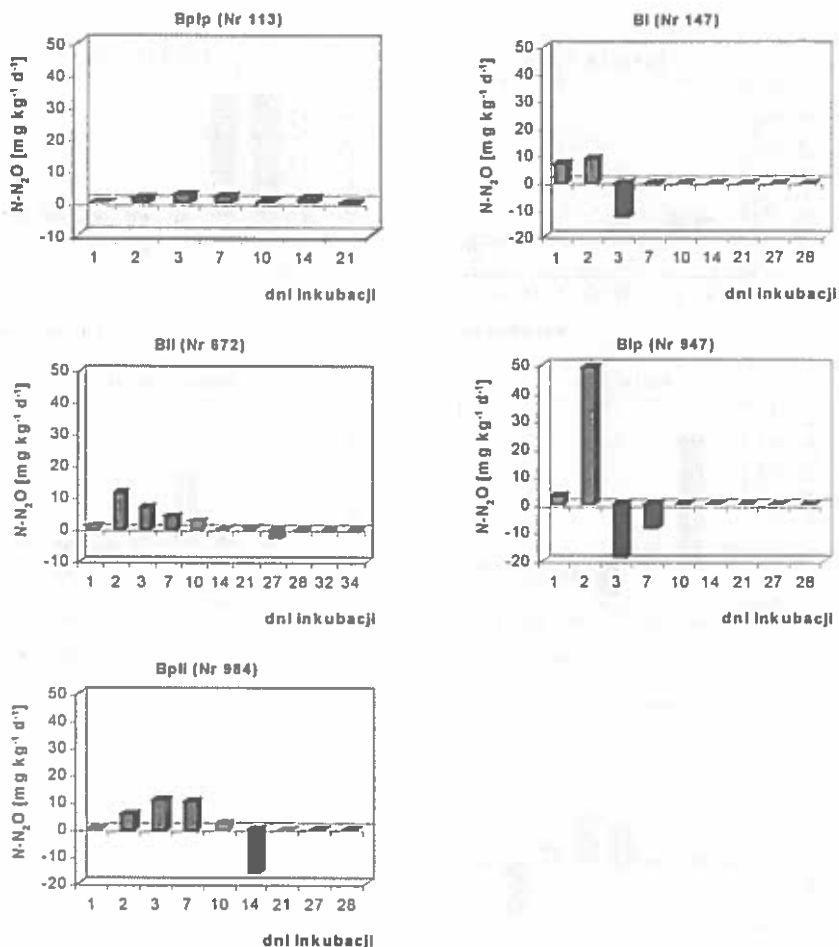
Rys. 2a. Dobowa emisja i absorpcja  $N_2O$  w glebach wytworzonych z piasków.  
 Fig. 2a. Daily emission and absorption of  $N_2O$  from the soils developed from sand.

Badane gleby charakteryzowały się zróżnicowaną ilością zarówno sorbowanego  $N_2O$  jak i wydzielanego do środowiska. Okres po jakim obserwuje się w glebach proces redukcji podtlenku azotu, waha się od 2 do 28 dni inkubacji inkubacji. Podobny przebieg sorpcji podtlenku azotu wykazują gleby wytworzone z glin, pyłów i iłów, gdzie w sześciu spośród 10 analizowanych gleb, proces redukcji  $N_2O$  ma swój początek po 7 dniach,



Rys. 2b. Dobowa emisja i absorpcja  $N_2O$  w glebach wytworzonych z glin.  
 Fig. 2b. Daily emission and absorption of  $N_2O$  from the soils developed from loam.

w trzech glebach proces ten uwidocznił się po 14 dniach i w jednej glebie po 21 dniach inkubacji. Znacznie wolniej proces ten zachodził w glebach wytworzonych z piasków, gdzie w przypadku tylko dwóch spośród 6 analizowanych gleb proces sorpcji  $N_2O$  obserwowany był po 2 i 7 dniach w pozostałych zaś po 14, 21 i 28 dniach doświadczenia (Rys. 1a,b,c). Ilość zasorbowanego  $N_2O$  w badanych glebach wahała się od 1,3 - 66,5 mg  $N_2O-N$  d<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> gleby w okresie trwania inkubacji, czyli pomiędzy drugim a 34 dniem. Gleby wytworzone z piasku sorbowały w tym czasie od 1.3 (gleba Nr 434



Rys. 2c. . Dobowa emisja i absorpcja  $N_2O$  w glebach wytworzonych z ilów i pyłów.  
 Fig. 2c. Daily emission and absorption of  $N_2O$  from the soils developed from silt.

wytworzona z piasku gliniastego lekkiego) do 36,2 mg  $N_2O-N$  d<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> gleby (gleba Nr 543 wytworzona z piasku gliniastego mocnego).

Znacznie wyższą redukcją podtlenku azotu charakteryzowały się gleby wytworzone z ilów i pyłów, pochłaniając od 3,3 (gleba Nr 113 wytworzona z pyłu) do 58,0 mg  $N_2O-N$  d<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> gleby (gleba Nr 984 wytworzona z pyłu ilastego). Najwyższą aktywność sorpcyjną wykazały gleby wytworzone z gliny, pochłaniając od 9,9 (gleba Nr 110 wytworzona z gliny średniej) do

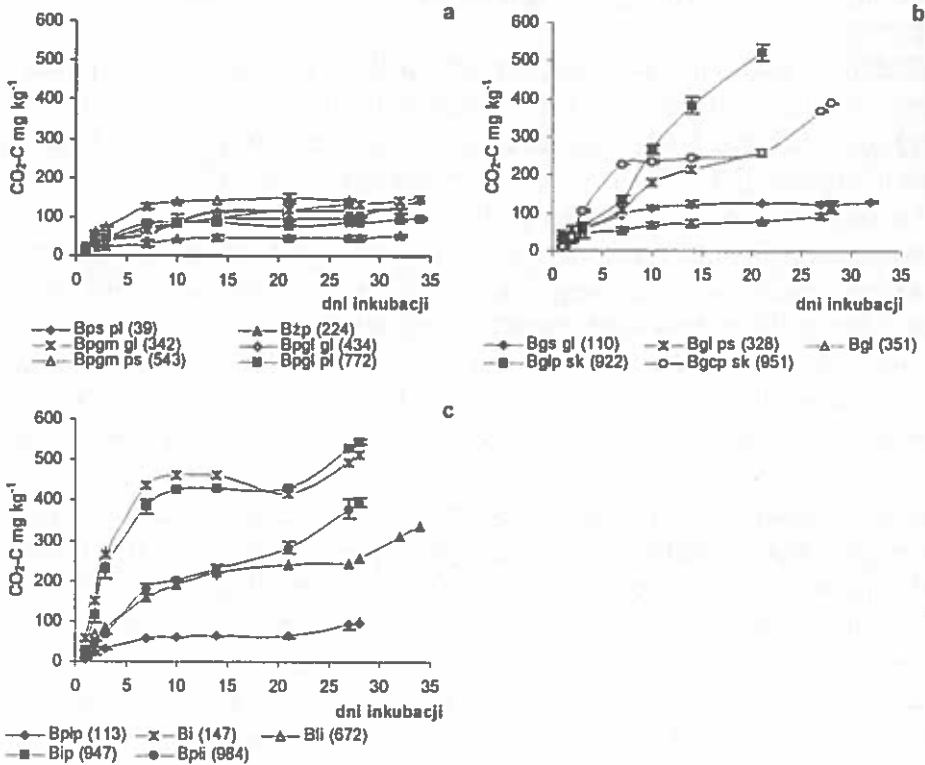
66.5 mg  $N_2O-N$   $d^{-1}$   $kg^{-1}$  gleby (gleba Nr 951 wytworzona z gliny ciężkiej pylastej).

Podobnie kształtuje się średnia dobowo ilość zredukowanego podtlenu azotu. Najniższy ubytek  $N_2O$  stwierdzono w glebie piaszczystej (Nr 434-Bpgl gl) - 0,1 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$ , najwyższy zaś - w glebie wytworzonej z gliny ciężkiej (Nr 951-Bgcp sk) - 4.75 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$ .

Na ogół zdolność redukcyjna gleb wahała się od 10 do 100% wyprodukowanego podtlenu azotu w tym w połowie gleb obserwowano prawie całkowity zanik wytworzonego  $N_2O$  (Tabela 3). Obserwowano również różną dynamikę pochłaniania podtlenu azotu w pierwszej fazie po maksymalnej zawartości  $N_2O$  na krzywej kumulacyjnej. Ilość zredukowanego  $N_2O$  wahała się od 0,12 (dla gleby Nr 39-Bps pl) do 18,6 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$  (gleba Nr 947-Bip). Wyższy dobowy ubytek zawartości podtlenu azotu obserwowano w glebach cięższych wytworzonych z glin, ilów i pyłów, znacznie niższy zaś w glebach wytworzonych z piasku. Maksymalną dobową sorpcję  $N_2O$  w glebach wytworzonych z piasku stwierdzono w glebie Nr 543 Bpgm ps – powyżej 3 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$  w glebach wytworzonych z glin ok. 10 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$  (gleba Nr 951 Bgcp sk), zaś w glebach wytworzonych z ilów i pyłów ok. 19 mg  $N_2O-N$   $kg^{-1}d^{-1}$  (gleba Nr 947-Bip). Maksymalną dobową redukcję podtlenu azotu obserwowano w pierwszym lub w drugim dniu występowania tego zjawiska z tendencją do wydłużania się tego okresu w glebach lżejszych (Rys. 2 a b c).

### 3.1.2. Dynamika mineralizacji węgla w glebach

Analiza emisji dwutlenku węgla w warunkach pełnego zalania gleb wykazała ich duże zróżnicowanie i to zarówno pomiędzy rodzajami gleb jak i w ramach trzech analizowanych skał macierzystych. W przebiegu krzywej kumulatywnej ilości wydzielonego dwutlenku węgla zaobserwowano we wszystkich analizowanych przypadkach, mniej lub bardziej intensywny przyrost ilości  $CO_2$  w początkowej fazie inkubacji gleb. W kolejnych dniach doświadczenia obserwowano systematyczny, ale mniej dynamiczny przyrost wydzielanego dwutlenku węgla, za wyjątkiem kilku gleb, które utrzymywały wysokie tempo mineralizacji substancji organicznych przez cały analizowany okres inkubacji (Rys. 3a,b,c).



Rys. 3. Krzywe kumulatywne emisji i absorpcji CO<sub>2</sub> w glebach wytworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c).

Fig. 3. Cumulative curves of the emission of CO<sub>2</sub> from the soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c).

Najniższą, ale równocześnie najbardziej wyrównaną mineralizację węgla, obserwowano w glebach wytworzonych z piasków. Maksymalne kumulatywne wydzielanie CO<sub>2</sub> w tych glebach wahało się od 52 do 152 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby w trakcie całej inkubacji (Rys. 3a). Około 3 razy wyższą aktywność respiracyjną wykazały gleby wytworzone z glin. W ramach tej samej skały macierzystej zaobserwowano znaczne różnice w aktywności respiracyjnej od 115 do 520 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby (Rys. 3b). Podobne zróżnicowanie występowało w glebach wytworzonych z ilów, gdzie maksymalna kumulatywna ilość wydzielonego CO<sub>2</sub> zawierała się w granicach od 95 do 545 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby (Rys. 3c). Średni przyrost dzienny w badanych gle-

bach wynosił od 1,3 dla gleby piaszczystej do 23,2 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> gleby dla gleby wytworzonej z gliny (Tabela 4).

Badane gleby charakteryzują się również zróżnicowaną dynamiką wydzielania CO<sub>2</sub> w warunkach przeprowadzonych badań. Gleby wytworzone z piasków i ilów najwyższą aktywność respiracyjną przejawiały w pierwszych siedmiu dniach inkubacji, podczas gdy gleby wytworzone z glin odznaczały się niższym tempem przyrostu dwutlenku węgla, za to bardziej wyrównanym w czasie.

**Tabela 4.** Zmiany stężenia CO<sub>2</sub> oraz pH i Eh na koniec inkubacji

**Table 4.** Changes in the concentration of CO<sub>2</sub>, pH and Eh at the end of incubation

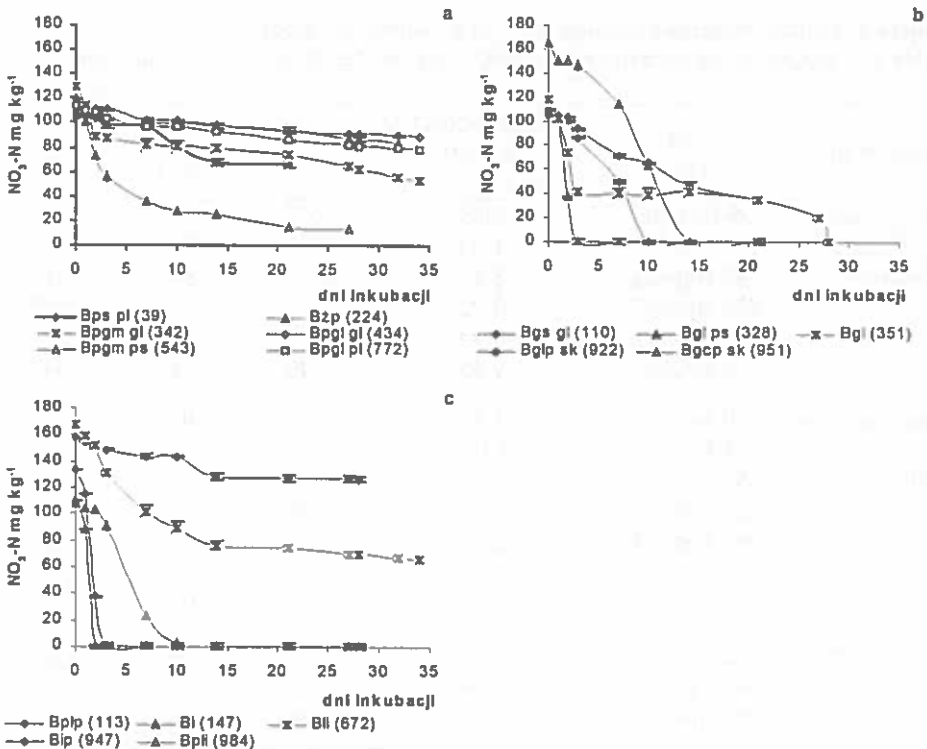
Rodzaj gleby	Nr gleby	Średni przyrost CO <sub>2</sub> na dobę [mg kg <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup> ]	C <sub>org</sub> [%]	ΔEh* [mV]	ΔpH*
Gleby brunatne wytworzone z piasków	39 Bps. pl	3,09	0,67	-74	+0,21
	224 Bżp	1,32	0,32	-32	-0,9
	342 Bpgm.gl	3,65	0,44	-64	+0,12
	434 Bpgl:gl	3,92	0,74	-112	+0,98
	543 Bpgm.ps	4,74	0,88	-94	0
	772 Bpgl.pl	2,43	0,49	-107	+0,6
Gleby brunatne wytworzone z glin	110 Bgs.gl	3,13	0,67	-90	-0,19
	328 Bgl:ps	10,21	0,77	-27	+0,14
	351 Bgl	3,52	0,56	-103	-1,1
	922 Bglp:sk	23,17	1,89	-55	+2,09
	951 Bgcp.sk	13,53	2,85	-111	+2,0
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	113 Bplp	3,17	0,92	-115	+0,12
	147 Bi	16,32	1,95	-186	+0,68
	672 Bli	9,16	0,94	-90	+0,85
	947 Bip	18,48	2,31	-124	+1,43
	984 Bpli	13,83	1,24	-139	+1,78

\* różnica analizowanych wartości pomiędzy dniem zerowym i końcowym inkubacji.

### 3.1.3. Dynamika rozkładu azotanów w glebach

Badane gleby odznaczały się zróżnicowaną zawartością azotanów. Najmniejsze zróżnicowanie i najniższą zasobność wykazywały gleby wytworzone z piasków. Zawartość NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N wahała się w granicach od 4,5 w glebie

wytworzonej z piasku słabo gliniastego (Nr 39) do 29,9 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1}$  gleby w glebie wytworzonej z piasku gliniastego mocnego (Nr 342). Podobną zawartością azotanów charakteryzowały się gleby wytworzone z glin za wyjątkiem gleby Nr 951 (wytworzonej z gliny ciężkiej pylastej), gdzie ilość formy azotanowej wynosiła 65,8 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1}$  gleby. Najwyższą zasobność w tę formę azotu wykazały gleby wytworzone z pyłów i ilów, gdzie średnia zawartość azotanów wynosiła około 38 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1}$  gleby, przy zakresie od 7,9 do 67,4 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1}$  gleby (Tabela 4).



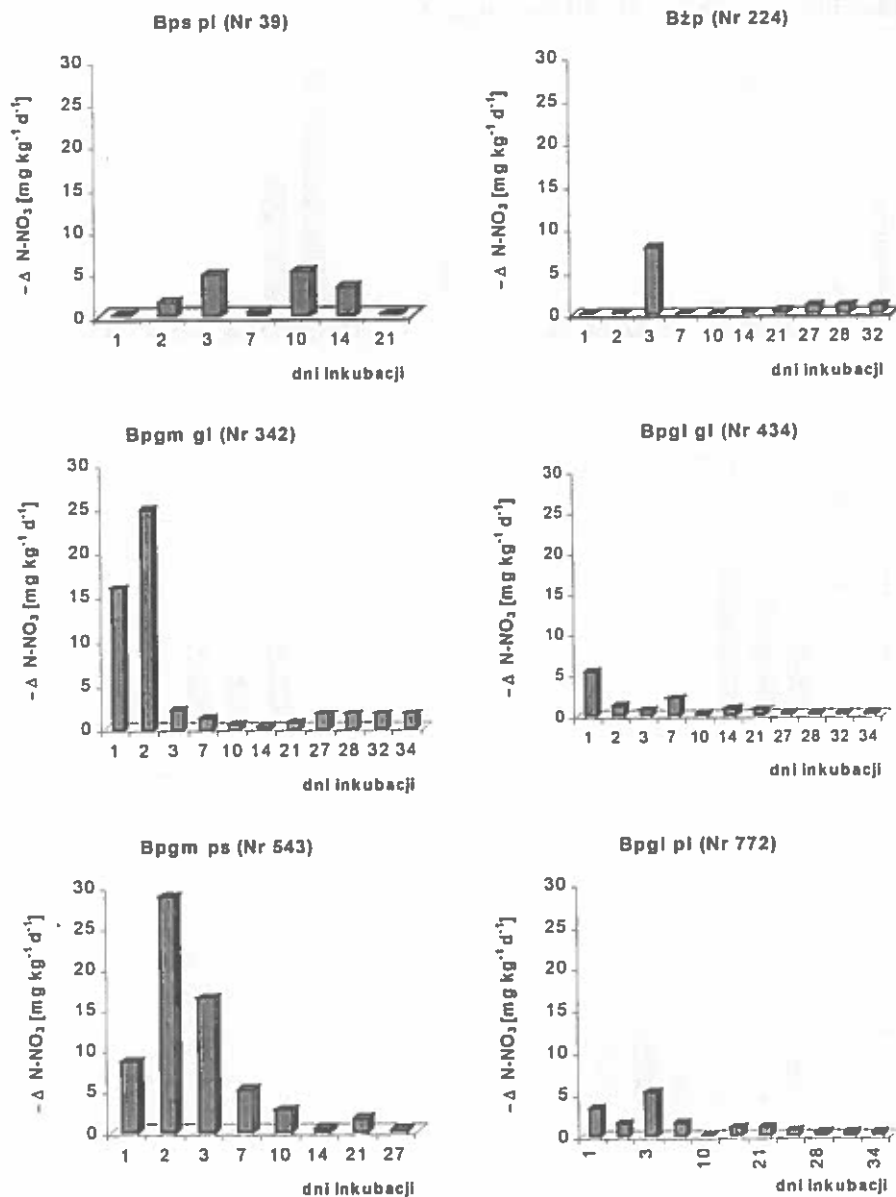
Rys. 4. . Krzywe zawartości azotanów w czasie inkubacji w glebach wytworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c).

Fig. 4. Nitrate content during incubations soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c).

Tempo redukcji azotanów, dodanych do gleby w ilości 100 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1}$ , dzieli badane gleby na dwie grupy niezależnie od skały, z której zostały wytworzone. Pierwsza z nich to gleby w których redukcja azotanów nastąpiła w całości (w tej grupie nie znalazła się żadna gleba piaszczysta),



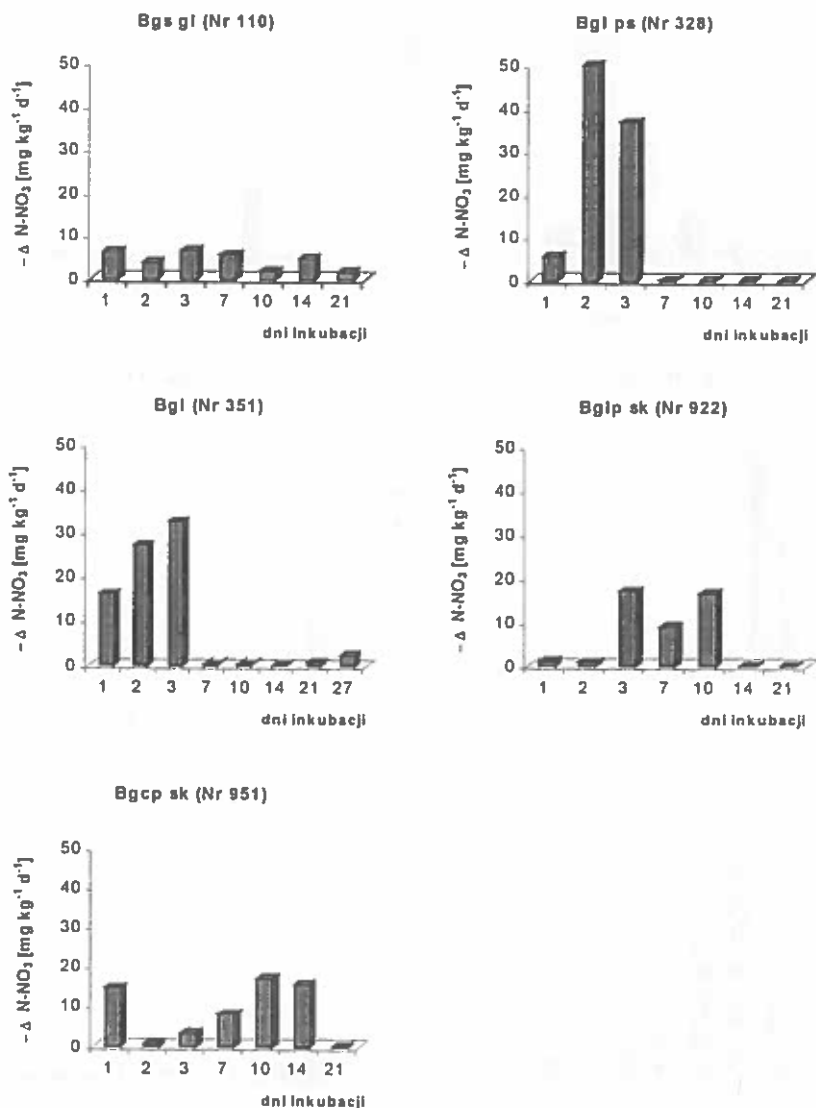
zaś druga to gleby, w których azotany ulegając przemianom i pozostały na pewnym dość wysokim poziomie nawet do 34 dnia inkubacji (Rys. 4a,b,c).



Rys. 5a. Dobra redukcja  $\text{NO}_3^-$  w glebach wytworzonych z piasków.

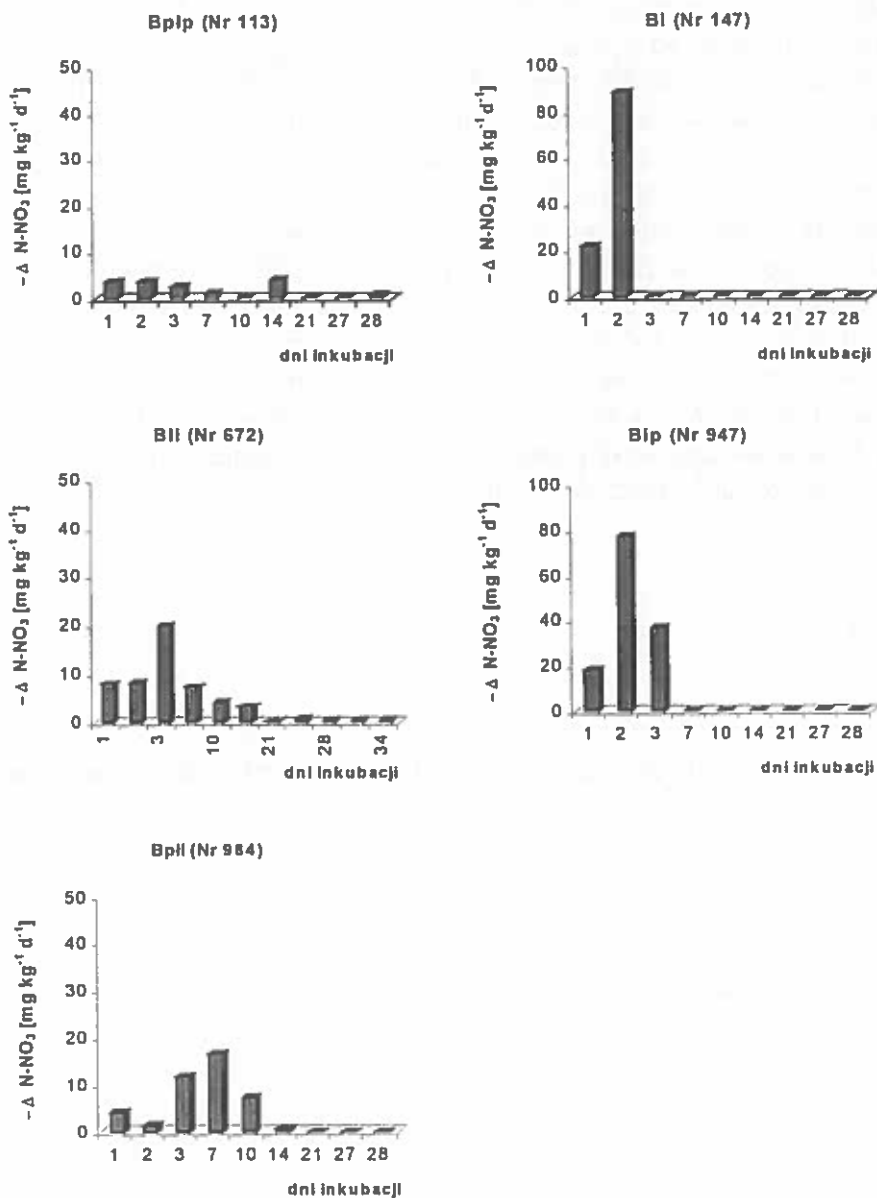
Fig. 5a. Daily reduction of  $\text{NO}_3^-$  in the soils developed from sand.

Najwyższe tempo redukcji azotanów obserwowano pomiędzy pierwszym a 14 dniem inkubacji, kiedy to ilość rozłożonych azotanów wahała się od 0 do 88,3 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (Rys. 5,a,b,c).



Rys. 5b. Dobowa redukcja  $\text{NO}_3^-$  w glebach wytworzonych z glin.  
 Fig. 5b. Daily reduction of  $\text{NO}_3^-$  in the soils developed from loam.

Okres czasu niezbędny do pełnego rozkładu azotanów wynosił od dwu do 28 dni. W czterech spośród pięciu badanych gleb gliniastych obserwowano całkowity rozkład azotanów w okresie od siedmiu do 28 dni. W trzech spo-



Rys. 5c. Dobowa redukcja  $\text{NO}_3^-$  w glebach wytworzonych z ilów i pyłów.  
Fig. 5c. Daily reduction of  $\text{NO}_3^-$  in the soils developed from silt.

śród pięciu gleb ilastych i pylastych stwierdzono całkowitą redukcję azotanów w okresie od dwu do 14 dni inkubacji (Rys. 4a,b,c).

Średni ubytek azotanów w przeliczeniu na jeden dzień inkubacji wynosił w glebach piaszczystych od 0,7 do 3,5 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  w glebach wytworzonych z glin od 4,2 do 11,8 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  i od 1,1 do 55,0 mg  $\text{NO}_3^- \text{-N kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  w glebach pylastych i ilastych. Średnio w glebach wytworzonych z piasków stwierdzono stopień redukcji na poziomie około 43% całej puli azotanów, wśród gleb wytworzonych z glin około 94% i w glebach pylasto-ilastych około 76%.

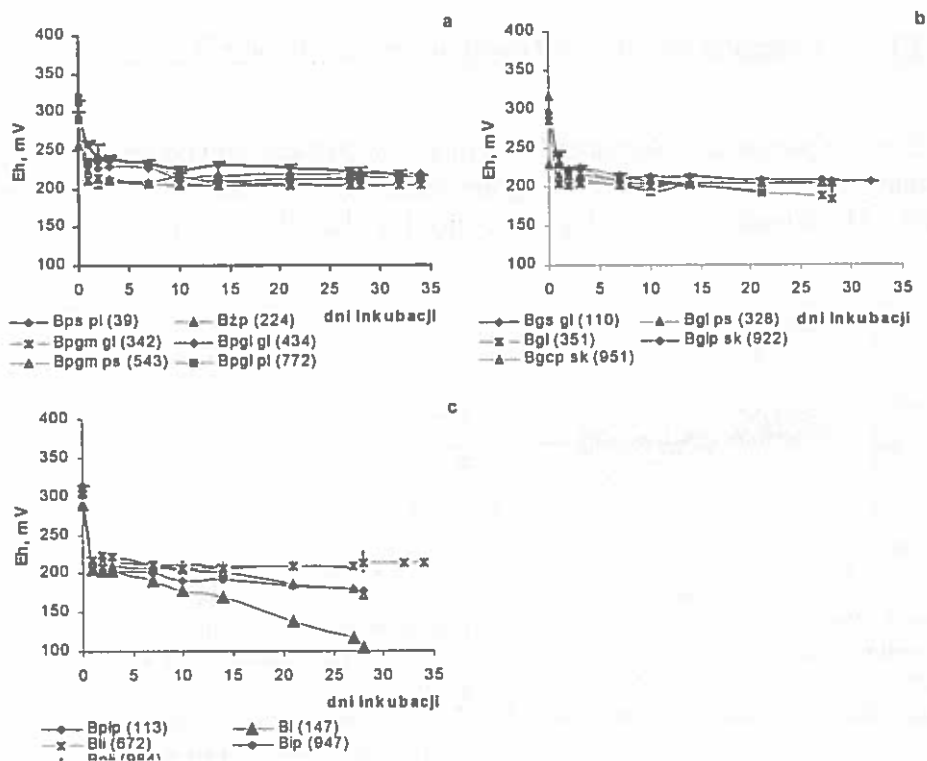
Analiza ilości zredukowanych azotanów i ilości wydzielonego  $\text{N}_2\text{O}$  pozwala oszacować % azotanu zredukowanego do formy podtlenkowej. Pod tym względem badane gleby nie różnią się zasadniczo, choć analiza niektórych gleb wskazuje na duże zróżnicowanie pomiędzy nimi. I tak udział azotanów zdenitryfikowanych do formy podtlenku azotu waha się od 43 do 76,0%; od 55 do 90% i od 31 do 100% odpowiednio w glebach wytworzonych z piasków, glin oraz pyłów i iłów. Pozostała pula rozłożonych azotanów została zredukowana do azotu cząsteczkowego i formy amonowej (Tabela 3).

#### *3.1.4. Dynamika zmian potencjału oksydoredukcyjnego w glebach*

Wartość potencjału oksydoredukcyjnego oznaczana po dwóch godzinach od momentu zalania gleb powietrznie suchych wodą destylowaną z dodatkiem azotanu ( $\text{Eh}_{\text{O NO}_3}$ ) w ilości takiej jak w próbach poddanych inkubacji, wykazuje pewne zróżnicowanie (Tabela 2). Wśród badanych gleb około 50% wykazywało  $\text{Eh}_{\text{O NO}_3}$  w zakresie od +302 do +332 mV, podczas gdy wyjściowa wartość Eh oznaczana w wodzie wynosiła od +302 do 321 mV. Wartość  $\text{Eh}_{\text{O NO}_3}$  pozostałych gleb nie spadła poniżej +200 mV i wynosiła od +220 do +298 mV, analogiczna analiza Eh w wodzie wynosiła od +229 do +295 mV.

Warunki beztlenowe spowodowane zalaniem gleb wodą destylowaną z dodatkiem azotanu i inkubacja w temp. 20°C przez okres powyżej 21 dni, wywołały spadek potencjału oksydoredukcyjnego badanych gleb wynoszący od 27 do 186 mV.

Gleby utworzone z piasków i glin wykazywały podobny spadek wartości Eh wynoszący odpowiednio 32 - 112 i 27 - 111mV, podczas gdy gleby



Rys. 6. Dynamika potencjału redox (Eh) w glebach utworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c) w okresie inkubacji.

Fig. 6. Dynamics of redox potential (Eh) in the soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c) during incubation.

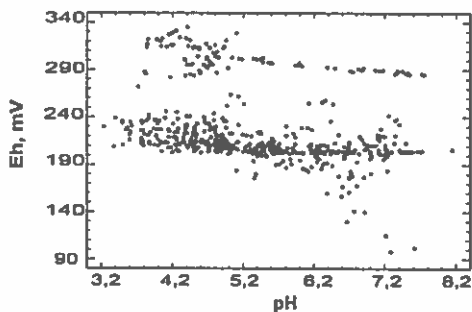
wytworzone z pyłów i ilów charakteryzowały się większym spadkiem wartości Eh, wynoszącym od 90 do 186 mV (Tabela 4).

Analizując tempo spadku wartości Eh, spowodowane stanem anaerobiozy stwierdzono, że największe obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego nastąpiło w pierwszej dobie doświadczenia we wszystkich badanych glebach (Rys. 6a,b,c). Kolejne dni doświadczenia przyniosły już tylko nieznaczne obniżenie wartości Eh lub stabilizację potencjału z wyjątkiem gleby Nr 147 utworzonej z łu, gdzie wartość Eh obniżała się systematycznie przez cały okres doświadczenia. Wśród badanych gleb w trzech utworzonych z glin

i w trzech pochodzenia ilastego zaobserwowano obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego do poziomu poniżej +200 mV.

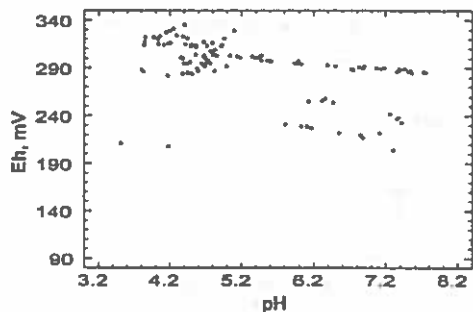
### 3.1.4.1. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od pH gleby

Zmiany potencjału oksydoredukcyjnego w glebach powodują równoległe zmiany wartości pH środowiska glebowego, które związane są z udziałem jonów  $H^+$  w reakcjach oksydoredukcyjnych [122, 29, 72, 37].



Rys. 7. Potencjał redoks w funkcji pH (pojedyncze dane z wszystkich gleb i terminów).

Fig. 7. Redox potential as a function of pH (single data from all soils and entire time of incubation).



Rys. 8. Wyjściowy potencjał redoks w funkcji pH (pojedyncze dane z wszystkich gleb).

Fig. 8. Initial redox potential as a function of pH (single data from all soils).

Analiza regresji potencjału redoks badanych gleb brunatnych wykazała liniową, ujemnie skorelowaną zależność z wartością pH ( $R^2=0,685$ ). Zakres zmiany odczynu wybranych gleb umożliwił prześledzenie tej zależności w bardzo szerokim zakresie wartości pH, od gleb bardzo silnie kwaśnych do zasadowych. Zestawienie równoległe wartości Eh gleb w funkcji pH dla wartości wyjściowych i w okresie 34-dniowej inkubacji pozwala prześledzić wartości Eh dla zerowego i pozostałych dni inkubacji (Rys.7). Natomiast Rys. 8 przedstawia tę samą zależność dla wyjściowego stanu gleb. Wzajemne zależności badanych czynników opisuje równanie prostej ( $y = a + bx$ ), którego  $R^2=0,552$ . Uzyskane wyniki pozostają w zgodności z teoretycznym Eh, które jest ujemnie skorelowane z pH [143].

Z badań Stępniewskiej [154] oraz Glińskiego i Stępniewskiej [67] wynika, że pH *in situ* w warunkach naturalnych jest wielkością dynamiczną, ulegającą ciągłym zmianom, zależną od wilgotności i stanu natlenienia gleby.

Van Cleemput i Patrick [167] i Van Cleemput i wsp. [168] porównując wpływ pH na proces denitryfikacji w tych samych warunkach redoks (0 i +200 mV) dla gleby gliniastej zupełnie zalanej stwierdzili, że przy pH 6 i 8 była ona szybsza i prawie całkowita (do N<sub>2</sub>) w porównaniu z jej przebiegiem przy pH 4,5.

Z Tabeli 5 wynika, że po 34 dniach inkubacji w końcowej fazie doświadczenia, nie występowały gleby bardzo silnie kwaśne, wzrosła zaś liczba gleb lekko kwaśnych a zmalała liczba gleb o odczynie zasadowym. Wśród gleb wytworzonych z piasków maksymalny wzrost wartości pH wynosił około jednej jednostki przy spadku wartości Eh o 112 jednostek, podczas gdy maksymalny spadek pH, zaobserwowany w glebie zasadowej wynosił również około 1 jednostki przy niewielkim spadku potencjału redoks - 32 mV. Maksymalny spadek wartości pH dla gleb wytworzonych z glin zaobserwowano w glebie zasadowej o pH wyjściowym - 7,61 o około 1 jednostkę przy  $\Delta Eh = 103$  mV. Maksymalny wzrost wartości pH zanotowano w 2 glebach bardzo silnie kwaśnych o około 2 jednostki przy  $\Delta Eh = 55$  i 111 mV, co sprawiło, że gleby te znalazły się w grupie gleb lekko kwaśnych. W glebach wytworzonych z ilów i pyłów nie zaobserwowano spadku wartości pH.  $\Delta pH$  w tych glebach wahała się od +0,12 do + 1,78 przy równoczesnym spadku Eh odpowiednio 115 i 139 mV. Podobne zmiany kwasowości badanych gleb, spowodowane zmianami potencjału redoks, obserwowali również inni autorzy.

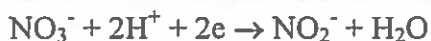
**Tabela 5.** Zmiana odczynu gleb (pH w H<sub>2</sub>O) przed i po zakończeniu doświadczenia  
**Table 5.** Changes in reaction of soils (pH in H<sub>2</sub>O) at the beginning and at the end of incubation

Odczyn gleby	Liczba gleb przed inkubacją	Liczba gleb po inkubacji
Gleby bardzo silnie kwaśne (pH < 4,5)	4	0
Gleby kwaśne (pH 4,6 - 5,5)	6	6
Gleby lekko kwaśne (pH 5,5 - 6,5)	1	6
Gleby o odczynie obojętnym (pH 6,6 - 7,2)	2	2
Gleby zasadowe (pH > 7,2)	3	2

Stępniewska [155] badając właściwości oksydoredukcyjne gleb mineralnych Polski stwierdziła, że maksymalne zmiany pH gleby zależą od wartości w stanie pełnego natlenienia i wynosiły do +1,6 jednostki dla gleb kwaśnych o pH 5 oraz -0,5 jednostki dla gleb o pH powyżej 7,5. W jednej z gleb kwaśnych, o pH 5,47 po 40 dniach inkubacji wartość pH wynosiła 6,76 przy zmianie Eh od 371 do 212 mV.

Gliński i Stępniewski [66] stwierdzają, że procesom redukcji w glebach towarzyszy zmiana ich odczynu w kierunku zobojętnienia, czyli pH gleb kwaśnych wzrasta a alkalicznych maleje, stabilizując się po upływie kilku tygodni na poziomie pH 6 - 7,5. Zmiany te jednak nie przekraczają na ogół 2 jednostek pH.

Wzrost pH gleb kwaśnych po zalaniu wymienieni autorzy tłumaczą pobieraniem jonów wodorowych przez tlen głównie w następstwie reakcji redoks zachodzących w glebie. Przy redukcji azotanów reakcje te przebiegają następująco:



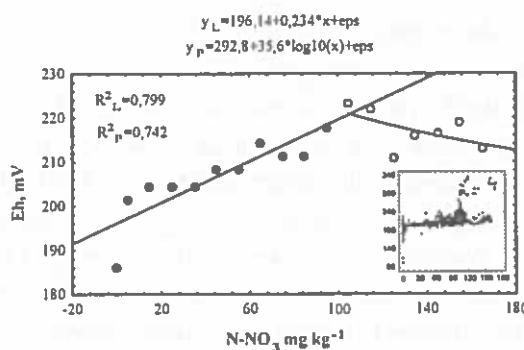
Całkowita redukcja  $2\text{NO}_3^-$  do  $\text{N}_2$  wytwarza  $2\text{OH}^-$ , które powodują podwyższenie pH środowiska [151]. Natomiast obniżanie się pH gleb alkalicznych wiąże się z akumulacją  $\text{CO}_2$  w warunkach beztlenowych [123].

#### 3.1.4.2. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od zawartości azotanów w glebach.

Jak wykazują badania wielu autorów w warunkach zalania gleby wodą wyczerpanie się tlenu następuje w ciągu kilku godzin powodując w niej wiele zmian. W szczególności zaś obniża się potencjał oksydoredukcyjny gleby przy czym spadek Eh poniżej +300 mV spowodowany jest redukcją gleby i kolejnym włączaniem się innych niż układ  $\text{O}_2:\text{H}_2\text{O}$  par redoks np.  $\text{NO}_3^-:\text{NO}_2^-$  [66].

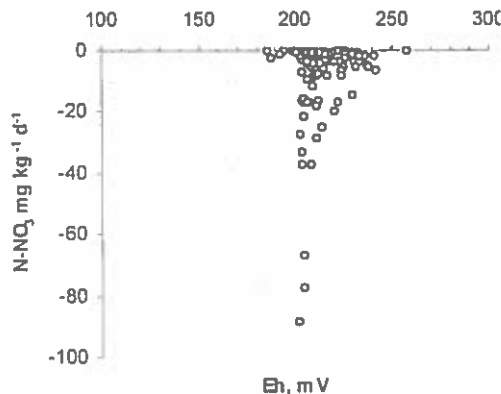
Pod wpływem obniżenia w glebie zawartości tlenu poniżej 1% (v/v), zaczynają w niej dominować mikroorganizmy beztlenowe nad tlenowymi. Gliński i Stępniewski [66] stwierdzają, że zalanie gleby wodą powoduje stopniowy spadek potencjału redoks aż do osiągnięcia pewnego dość stabil-





Rys. 9. Potencjał redoks (Eh) w funkcji stężenia  $\text{NO}_3^-$  (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ) Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb i terminów inkubacji.

Fig. 9. Redox potential (Eh) as a function of nitrate content in the soils ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils and entire time of incubation.



Rys. 10. Dobowa redukcja  $\text{NO}_3^-$  w funkcji średniej wartości Eh w analizowanym okresie (wartości średnie wszystkich gleb i terminów inkubacji).

Fig. 10. Daily reduction of  $\text{NO}_3^-$  in the soils as a function of means Eh values during investigated time (single data from all soils and entire time of incubation).

nego poziomu. Szybkość tego spadku i wartość Eh zależą od intensywności procesu redukcji, uwarunkowanej temperaturą i zawartością łatwo rozkładanego substratu organicznego oraz zawartością utlenionych związków nieorganicznych będących akceptorami elektronów w tym azotanów.

Zalanie wybranych do badań gleb, w których zawartość dostępnych azotanów wynosiła od 104,53 do 167,42  $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{N} \cdot \text{kg}^{-1}$ , spowodował spadek potencjału redoks, wynoszący od 15 do 104 mV po pierwszej dobie inkubacji. Analiza statystyczna potencjału redoks w funkcji zawartości azotanów wykazała złożoną zależność, którą najlepiej opisują funkcje: liniowa, której współczynnik determinacji  $R^2=0,799$  i funkcja logarytmiczna, której współczynnik determinacji  $R^2=0,742$ .

Jak pokazuje Rys. 9, potencjał redoks obniża się wraz ze spadkiem zawartości azotanów w zakresie od około 100 do około 10  $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{N} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Obniżenie to wynosi około 60 mV. Najwyższa dobowa redukcja azotanów przypada na wartość Eh w wąskim zakresie

pomiędzy 200 a 210 mV (Rys. 10).

Podobne wartości potencjału redoks obserwowali Bailey i Beauchamp [12] w glebie lessowej z dodatkiem azotanów gdzie Eh wynosiło około +200 mV. Największy zakres potencjału redoks w analizowanych glebach, (od +200 do +340 mV) zanotowano przy zawartości azotanów od 100 do 120 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup>. Wartością graniczną zawartości azotanów dla badanych gleb wydaje się być wartość około 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup>, przy której w większości gleb wyraźnie spada wartość Eh. Bailey i Beauchamp [12] w cytowanej wyżej pracy zaobserwowali gwałtowny spadek wartości Eh po wyczerpaniu się azotanów. Warunki naszych badań nie potwierdzają tego zjawiska, ponieważ w glebach, gdzie zawartość azotanów spadła do zera potencjał obniżał się, ale nie tak gwałtownie, jak pokazują to wyżej wspomniani autorzy. Zakres Eh przy zerowej zawartości NO<sub>3</sub><sup>-</sup> w zawieszynie glebowej wynosił od około +200 do +90 mV dla pojedynczych wyników. W Tabeli 6 podano gleby, w których nie stwierdzono zawartości NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

Tabela 6. Wartość potencjału redoks (Eh) i kumulatywna zawartość N<sub>2</sub>O w glebach, w których w okresie prowadzonych badań nie stwierdzono zawartości azotanów  
Table 6. Redox potential (Eh) and cumulative content of N<sub>2</sub>O-N in the soils where nitrates were exhausted during incubation

Numer i rodzaj gleby	Eh <sub>końc.</sub>	Zawartość NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Zawartość N <sub>2</sub> O
	mV		
328 Bgl:ps	193 (21)*	0,00 (7)*	0,35 (21)*
351 Bgl	189 (28)	0,00 (28)	0,17 (28)
922 Bglp:sk	193 (21)	0,00 (14)	0,04 (21)
951Bgcp:sk	204 (28)	0,00 (14)	4,02 (21); 0,00 (28)
147Bi	105 (28)	0,00 (2)	0,11 (28)
947Bip	178 (28)	0,00 (3)	0,08 (21); 0,00 (28)
984Bpli	172 (28)	0,00 (14)	0,14 (21); 0,00 (28)

\* w nawiasach zamieszczono dzień inkubacji, w których zanotowano analizowaną wartość.

Przytoczone w Tabeli 6 dane dają podstawę do wnioskowania, że czynnikami hamującymi spadek potencjału redoks w warunkach przeprowadzonego doświadczenia, po wyczerpaniu się azotanów, była zawartość podtlenu azotu jak również obecność tlenu w powietrzu nad zalaną glebą. Wydaje się, że drobnoustroje zasiedlające wyżej wymienione gleby miały zdolność równoczesnego wykorzystywania trzech różnych akceptorów elektronów

jakimi są: tlen, azotan i podtlenek azotu, gdyż przemiany biochemiczne zachodziły w warunkach mikroaerofilnych, typowych dla intensywnego rozwoju fakultatywnych beztlenowców jakimi są głównie denitryfikatory. W niektórych glebach zaznaczyło się zróżnicowanie pod względem zdolności do wykorzystania azotanów. Wiele drobnoustrojów może używać  $\text{NO}_3^-$  jako zasadniczy akceptor elektronów dla uzyskania energii ze związków organicznych, kiedy niska zawartość  $\text{O}_2$  ogranicza ich metabolizm [69]:



Co więcej, niektóre denitryfikatory mogą wykorzystywać równocześnie tlen i azotany lub azotyny jako akceptory elektronów („tlenowa denitryfikacja”) [126, 127, 177]. Największe wydzielanie  $\text{N}_2\text{O}$  przewidywane jest w warunkach mikroaerofilnych, kiedy to redukcja  $\text{N}_2\text{O}$  do  $\text{N}_2$  jest hamowana przez  $\text{O}_2$  i kiedy nityfikatory również limitowane przez niedostatek tlenu, produkują  $\text{N}_2\text{O}$  [79].

**Tabela 7.** Dynamika procesów redoks w glebach podczas pierwszych trzech dni inkubacji  
**Table 7.** Dynamics of redox potential processes in the soils during first three days of incubation

Rodzaj gleby	Nr gleby	$\Delta \text{Eh}$ [mV]			$\Delta \text{NO}_3^-$ [ $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ]		
		1 dzień	2 dzień	3 dzień	1 dzień	2 dzień	3 dzień
Gleby brunatne wytworzone z piasków	39 Bps pl	34	17	3	0,11	1,58	4,83
	224 Bzp	16	16	0	0	0,19	7,8
	342 Bpgm gl	56	0	5	16,01	24,99	2,1
	434 Bppl pl	99	0	5	5,51	1,21	0,74
	543Bpgm ps	88	0	0	8,61	28,77	16,38
	772Bppl pl	85	0	0	3,31	1,63	5,34
Gleby brunatne wytworzone z glin	110 Bgs gl	54	19	0	6,25	3,67	6,62
	328 Bgl ps	15	10	0	5,62	66,62	36,92
	351 Bgl	82	11	0	16,38	27,3	33,03
	922 Bglp sk	18	12	0	1,16	0,89	17,08
	951 Bgcp sk	85	16	0	14,66	0,74	3,43
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	113 Bplp	104	0	4	3,61	3,61	2,66
	147 Bi	86	3	0	21,7	88,27	0
	672 Bli	86	0	4	8,03	8,13	19,95
	947 Bip	91	7	0	18,06	77,51	37,36
	984 Bpli	98	0	7	4,13	1,4	11,9

Tak więc czynnikami kontrolującymi spadek potencjału redoks w warunkach przeprowadzonych badań było zaopatrzenie w tlen, obecność azotanów i podtlenku azotu.

Jak wskazują wyniki przedstawione w Tabeli 7, największy spadek wartości Eh w analizowanych pierwszych trzech dobach inkubacji, nastąpił po pierwszej dobie we wszystkich analizowanych glebach. Podczas gdy rozkład azotanów w analizowanym okresie zwiększał się wraz z upływem czasu w większości analizowanych gleb. Należy sądzić, że część drobnoustrojów zasiedlających badane gleby preferowały w pierwszej dobie tlen jako akceptor elektronów. W kolejnych dniach zwiększył się udział azotanów w procesach oddechowych badanych drobnoustrojów, przy równoczesnym wyczerpywaniu się ilości wolnego tlenu. Można więc stwierdzić, że to właśnie spadek zawartości  $O_2$  w zawieszynie glebowej jest przyczyną wyraźnego spadku wartości Eh w pierwszej dobie inkubacji.

Stan natlenienia gleby, który jest zwykle odwrotnie proporcjonalny do ilości wody w glebie w wielu pracach uważany jest jako kluczowy czynnik wpływający na produkcję  $N_2O$ . Ten odwrotny stosunek pomiędzy tempem denitryfikacji i zawartością tlenu opisywany jest w wielu pracach [59, 18, 39].

Podobne wyniki uzyskali Parkin i Tiedje [114], którzy stwierdzili, że tempo denitryfikacji pozostawało niskie, tak długo jak koncentracja tlenu była większa niż 3%. Przy niskiej zawartości tlenu tempo denitryfikacji wzrasta i szybko osiąga beztlenowe tempo, kiedy ilość tlenu spada poniżej 0,5%.

### 3.1.4.3. Potencjał oksydoredukcyjny w zależności od składu mechanicznego gleb i wyjściowej zawartości substancji organicznych

Przedstawiona w Tabeli 8 analiza statystyczna zależności Eh od składu mechanicznego badanych gleb wskazuje na istotne powiązanie badanych parametrów.

**Tabela 8.** Współczynnik korelacji (r) pomiędzy potencjałem redoks i zawartością frakcji mechanicznych i zawartością materii organicznej w glebach (dla całości danych gdzie n = 463)

**Table 8.** Values for the correlation coefficient (r) obtained between redox potential and soil size fractions content and organic matter content (all data, where n = 463)

Zmienna niezależna (x):	Funkcja $y = a + bx$	Współczynnik korelacji
piasek [1-0,1 mm]	$y = 199 + 0,22 x$	0,392***
pył gruby [0,1-0,05 mm]	$y = 213 - 0,21 x$	-0,148**
pył drobny [0,05-0,02 mm]	$y = 213 - 0,26 x$	-0,149**
ił pyłowy gruby [0,02-0,005 mm]	$y = 219 - 0,75 x$	-0,338***
ił pyłowy drobny [0,005-0,002 mm]	$y = 219 - 1,42 x$	-0,419***
ił koloidalny [ $<0,002$ mm]	$y = 218 - 1,19 x$	-0,516***
materia organiczna [%]	$y = 218 - 7,92 x$	-0,308***

\*\* istotne przy poziomie 0,01.

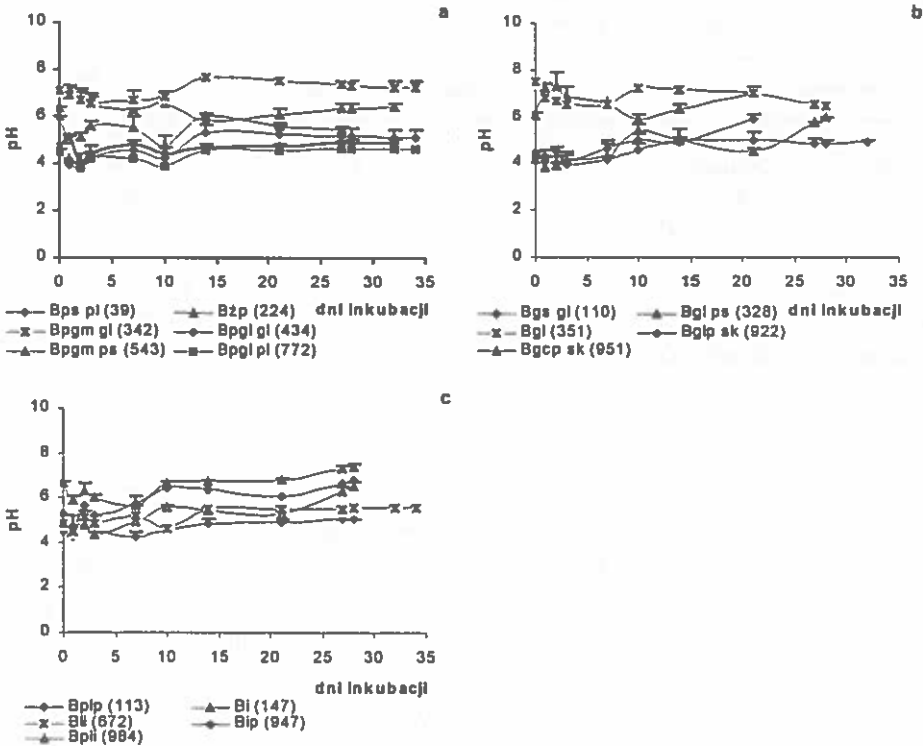
\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

W świetle uzyskanych wyników stwierdzono, że im drobniejsze cząstki gleby tym istotność wpływu na wartość Eh jest większa. A zatem, największy wpływ na potencjał redoks miała zawartość ładu koloidalnego, najmniejszy zaś - ładu grubego. Wysoki współczynnik korelacji zaobserwowano również dla frakcji piasków. Jeśli zatem materiał, z którego zbudowane są gleby wywiera istotny wpływ na potencjał redoks, to będzie miał również istotne znaczenie dla odporności gleb na procesy redukcyjne. Stępniewska [155] badając odporność gleb na procesy redukcyjne stwierdziła, że najmniejszą odpornością na procesy redukcyjne odznaczały się między innymi gleby wytworzone z lessu w następnej zaś kolejności: wytworzone z glin, dalej z pyłów i grupą najbardziej odporną na redukcję okazały się gleby wytworzone z piasków.

Badane gleby wykazują ujemną korelację liniową potencjału redoks w funkcji wyjściowej zawartości węgla organicznego. Szybkość spadku wartości Eh i jego minimalna wartość zależą od wielu czynników w tym również od ilości łatwo rozkładalnego substratu organicznego [66].

### 3.1.5. Dynamika zmian pH w glebach

Analiza wyjściowego pH badanych gleb pozwala wyróżnić wśród nich gleby od: silnie kwaśnych o  $\text{pH} < 4,5$  do gleb zasadowych o  $\text{pH} > 7,2$  (Tabela 2). Zakres wyjściowego  $\text{pH}_{\text{ONO}_3}$  mierzonego po 2 godzinach od mo-



Rys. 11. Dynamika pH w glebach wytworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c) w okresie inkubacji.

Fig. 11. Dynamics of pH in the soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c) during incubation.

mentu zalania gleby wodą destylowaną z dodatkiem azotanu w glebach wytworzonych z piasków wahał się od 3,98 do 7,38; w glebach wytworzonych z glin - od 3,83 do 7,61 i w glebach wytworzonych z utworów pyłowych i iłowych od 4,68 do 6,70. Przedziały wartości pH na koniec inkubacji w badanych glebach wynosiły odpowiednio: 4,9 - 7,4; 4,9 - 7,0 i 5,2 - 7,4,0. Ogólnie rzecz biorąc w przebiegu całego doświadczenia zaobserwowano tendencję obniżania się wartości pH gleb zasadowych i obojętnych a wzrost pH gleb silnie kwaśnych i kwaśnych (Rys. 11a,b,c).

### 3.2. Denitryfikacja gleb w zależności od czynników środowiskowych

Środowisko glebowe jest układem wielu czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych wzajemnie na siebie oddziałujących. Produkcja podtlenku azotu w glebie, będzie podlegać tym wzajemnym oddziaływaniom czynników glebowych a ich wypadkową będzie tempo i wielkość redukcji azotanów. Zakres tych procesów zależy od wielu czynników w tym od: potencjału oksydoredukcyjnego gleby, zawartości łatwo dostępnego źródła węgla, zawartości azotanów, pH gleby, jak również składu granulometrycznego gleby.

#### 3.2.1. Emisja $N_2O$ z gleb i jego redukcja

Analiza tempa i ilości wydzielonego podtlenku azotu w warunkach przeprowadzonych doświadczeń pozwala wyróżnić gleby o bardzo zróżnicowanej aktywności denitryfikacyjnej i to zarówno w procesie generowania  $N_2O$  jak i jego redukcji. Przyjmując to kryterium jako podstawę, badane gleby można podzielić na trzy zasadnicze grupy:

- gleby intensywnie generujące i intensywnie redukujące  $N_2O$  - do których należą następujące gleby: 543 Bpgm ps, 328 Bgl:ps, 351 Bgl, 922 Bglp:sk, 951 Bgcp.sk, 147 Bi, 947 Bip, 984 Bpli,
- gleby intensywnie generujące i słabo redukujące  $N_2O$  - do których należą następujące gleby: 110 Bgs.gl, 672 Bli,

- gleby słabo generujące i słabo redukujące  $N_2O$  - do których należą następujące gleby: 39 Bps.pl, 224Bżp, 342 Bpgm.gl, 434 Bppl:gl, 772 Bppl.pl, 113 Bplp.

Zestawienie powyższe wyraźnie wskazuje, że jedną z właściwości istotnie wpływających na emisję i redukcję podtlenku azotu  $N_2O$  jest skład mechaniczny gleb. Zazwyczaj szybkemu przyrostowi ilości wytwarzanego podtlenku azotu w większości gleb utworzonych z glin lub z iłów i pyłów, towarzyszy równie intensywny proces jego pochłaniania. Można powiedzieć, że gleby te są zarówno dobrym emitorem, jak też dobrym pochłaniaczem  $N_2O$ . Gleby nieco lżejsze, które w naszym przypadku reprezentowane są tylko przez dwie gleby utworzone z gliny średniej i lessu ilastego, są dobrymi emitorami i znacznie słabszymi pochłaniaczami. Czas powstawania jak i zanikania podtlenku azotu jest w nich stosunkowo długi. I wreszcie gleby najlżejsze, do których należy większość gleb utworzonych z piasku, będące stosunkowo słabymi emitorami i jeszcze słabszymi reduktorami  $N_2O$ . Analiza statystyczna ilości wyprodukowanego i zasorbowanego podtlenku azotu wskazuje, że istnieje istotna różnica tylko pomiędzy glebami utworzonymi z piasku i pozostałymi glebami.

Można zatem założyć, że im cięższa gleba tym więcej będzie produkowała podtlenku azotu. Założenia te zdają się dzielić i inni autorzy. Granli i Bøckman [69] stwierdzają, że jeśli gleba jest całkowicie uwilgotniona a zawartość wody jest równa lub wyższa niż pojemność polowa, pory są wypełnione wodą, ale mogą być również zamknięte przez pęczniejące cząsteczki gliny i humusu. Taka fizyczna bariera może ograniczać emisję  $N_2O$  [43, 144].

Prawdopodobieństwo redukcji  $N_2O$  wzrasta wraz z czasem jego przebywania w glebie. A zatem  $N_2O$  wygenerowany w powierzchniowej warstwie gleby ma większą szansę na wyemitowanie do atmosfery aniżeli, podtlenek wyprodukowany w głębszych warstwach gleby [69].

Freney i wsp. [62] stwierdza, że podtlenek azotu może być redukowany przez zalane gleby, podczas gdy natlenione gleby nie są w stanie pochłaniać  $N_2O$  z atmosfery.

Arah i wsp. [7] stwierdzają, że gleby gliniaste mają potencjalnie większe możliwości zatrzymywania utworzonego  $N_2O$  niż gleby piaszczyste. Podtlenek azotu łatwiej również uwalnia się z gleb o strukturze gruboziarnistej. Podtlenek azotu produkowany w głębszych warstwach gleby może być re-



dukowany do  $N_2$  podczas przechodzenia przez profil glebowy, szczególnie w glebach ciężkich, w których jak się wydaje, dyfuzja jest powolna.

Z danych zebranych przez Eichnera [52] wynika, że powietrze glebowe w warunkach polowych zawiera zwykle od 1 do 1000 ppm  $N_2O$ . Przemieszczenie powietrza glebowego z zawartym w nim  $N_2O$ , spowodowanym przez deszcz lub nawodnienie może zwiększyć emisję  $N_2O$ .

Wielu autorów obserwowało maksymalną emisję  $N_2O$  z gleby krótko po nawodnieniu lub obfitych opadach deszczu [46, 40, 74, 73].

Z punktu widzenia ochrony środowiska naturalnego, szczególnie niebezpieczne mogą być te gleby, które produkują duże ilości podtlenku azotu a czas, po którym następuje przewaga pochłaniania nad produkcją  $N_2O$  przekracza okres 7 dni i więcej. Analiza wariancji całości otrzymanych wyników pozwala wyróżnić w tym względzie trzy grupy gleb, istotnie różniące się od siebie. Gleba wytworzona z lessu ilastego (672-Bli) wyraźnie odbiegała pod względem emisji i redukcji  $N_2O$  od gleb pozostałych. Do 21 dnia inkubacji, wydzielanie podtlenku azotu  $N_2O$  przeważało nad jego zanikaniem a dopiero pomiędzy 21 a 34 dniem w glebie tej zaobserwowano redukcję na poziomie 43% wytworzonego  $N_2O$ . Należy sądzić, że w warunkach naturalnych gleba ta nie mogłaby istotnie przyczynić się do zmniejszenia emisji  $N_2O$  do atmosfery (Rys.1c).

Kolejna grupa (złożona z pięciu gleb) to trzy gleby gliniaste (110-Bgs gl, 328-Bgl ps i 951-Bgcp sk), jedna wytworzona z pyłu ilastego (984-Bpli) i jedna gleba piaszczysta wytworzona z piasku gliniastego mocnego (543-Bpgm ps). Wszystkie te gleby zdenitryfikowały prawie 100% wygenerowanego  $N_2O$ . Wyjątek stanowiła gleba Nr 110-Bgs gl, w której emisja i pochłanianie podtlenku azotu przebiegało podobnie jak w glebie Nr 672-Bli, tylko na niższym poziomie.

I wreszcie najliczniejsza i najbardziej zróżnicowana grupa gleb, obejmowała pozostałe gleby o dość zróżnicowanym składzie granulometrycznym. Najliczniejsze są w tej grupie gleby piaszczyste. Znajduje się tu również gleba Nr 113 (wytworzona z pyłu) z racji swej niskiej emisji  $N_2O$  jak i pozostałe gleby o nieco większej zawartości części spławialnych, charakteryzujące się wysokim tempem wydzielania i sorbowania podtlenku azotu. Gleby lżejsze zredukowały w okresie trwania doświadczenia od 10 do około 53% wygenerowanego podtlenku azotu (za wyjątkiem gleby Nr 543-Bpgm ps), podczas gdy pozostałe - niemal 100% (Tabela 3). Wydaje się więc słuszne stwierdzenie, że wśród badanych gleb, gleby lekkie mogą stanowić

najmniejsze zagrożenie środowiska naturalnego człowieka emisją podtlenku azotu.

Dane literaturowe potwierdzają obserwacje wynikające z niniejszych badań, że gleba może usuwać  $N_2O$  atmosferyczny w warunkach sprzyjających jego redukcji [19, 61, 91, 133, 149, 145].

Cicerone [44] uważa ten ubytek  $N_2O$  za niewielki w skali globalnej, ale jeśli uwzględnimy bardzo powolny rozkład podtlenku azotu  $N_2O$  w stratosferze to nawet niewielka jego redukcja w glebie może przyczynić się istotnie do zmniejszenia jego ilości w atmosferze.

Silvola i wsp. [145] również obserwowali pochłanianie  $N_2O$  w warunkach polowych na fińskich polach torfowych.

Ryden [133] odnotował redukcję  $N_2O$  na pastwiskach. Zaobserwował on, że gleba kontrolna nie nawożona usuwa podtlenek azotu wyemitowany do atmosfery, kiedy zawartość wody w glebie osiągnie wartość powyżej 20% wag.

Zdaniem Granli i Bøckmana [69] wilgotna gleba stwarza dobre warunki do przedłużania kontaktu gleby z  $N_2O$ , ale równocześnie utrudnia przenikanie podtlenku azotu z atmosfery do gleby. Należy sądzić, że istnieje niewielkie usuwanie  $N_2O$  z atmosfery przez glebę, ale zagrożenie to nie może być uważane za rozstrzygnięte.

Lensi i Chalamet [89] stwierdzili, że również rośliny mogą usuwać  $N_2O$  z powietrza. Podobnie Grundmann i wsp. [71] odnotowali, że  $^{15}N_2O$  jest metabolizowany przez liście kukurydzy jako źródło N.

Warunki przeprowadzonego doświadczenia dzięki zamkniętemu obiegowi produktów przemian biochemicznych, dały możliwość wyznaczenia pojemności denitryfikacyjnej badanych gleb i to zarówno w zakresie emisji podtlenku azotu jak i jego redukcji.

Rozpuszczalność  $N_2O$  (przy ciśnieniu 1 atm) wynosi  $0,7 \text{ g } N_2O \cdot Nl^{-1}$  [176]. Powietrze glebowe z zawartością  $N_2O$  10 ppmv zawiera  $7 \mu\text{g } N_2O \cdot Nl^{-1}$  w roztworze glebowym, jeśli w tych warunkach prawo Henry'ego jest spełniane. A zatem, powierzchniowa warstwa gleby zawiera około  $5 \text{ g } N_2O \cdot N \cdot ha^{-1}$  rozpuszczonego w wodzie do 0,3 m, przy wilgotności gleby 25 vol%. Zawartość od 1 do  $300 \mu\text{g } N_2O \cdot Nl^{-1}$  w roztworze glebowym jest odnotowywana przez wielu autorów [51, 160, 102, 103, 104] a zawartość od 500 do  $10000 \mu\text{g } N_2O \cdot Nl^{-1}$  odnotowali Amundson i Davidson [5]. Rozpuszczony podtlenek azotu może przemieszczać się wraz z roztworem glebowym w okresach mokrych i może uwalniać się w okresach suchych [69].

### 3.2.2. Denitryfikacja w zależności od potencjału oksydoredukcyjnego gleb (Eh)

Zmiany potencjału oksydoredukcyjnego odzwierciedlają się w zmianach zawartości tlenu. Po wprowadzeniu do gleby substancji organicznych tlen ulega wyczerpaniu, powodując w szybkim czasie obniżenie potencjału redoks. Procesy te są sprzężone z selekcją takich mikroorganizmów, które mogą rozwijać się w warunkach niedoboru tlenu. Przy tym różne procesy katalizowane przez drobnoustroje i ich enzymy przebiegają przy określonych wartościach potencjału redoks. Niektóre z nich według Tate III [158] są następujące:

tlenowe utlenianie węgla	>0,2 V
denitryfikacja	0,15 do 0,2 V
metanogeneza	-0,2 do -0,1 V
redukcja siarki	-0,2 do -0,1 V

Analiza wyjściowa potencjału redoks badanych gleb wykazała niewielkie różnice, nieistotne statystycznie, potencjału gleb zalanych wodą destylowaną w porównaniu z potencjałem gleb zalanych wodą destylowaną z dodatkiem azotanu. Wyjątek stanowiły gleby Nr 224-Bżp, 342-Bpgm gl i 922-Bglp:sk, gdzie wartość Eh po ich wzbogaceniu w N-NO<sub>3</sub> była istotnie niższa, niż w glebach zalanych samą wodą. Większość analizowanych gleb wytworzonych z różnych skał macierzystych wykazywała Eh od +280 do +320 mV, z wyjątkiem trzech gleb (dwie wytworzone z glin i jedna z piasku), w których wartość ta spadła poniżej +250 mV (Tabela 2).

We wszystkich analizowanych glebach największy spadek wartości Eh zaznaczył się po pierwszym dniu inkubacji. Największy zakres zmian dotyczył gleb o składzie granulometrycznym piasku, wśród których obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego w trakcie trwania doświadczenia ( $\Delta Eh$ ) wynosiło od 16 do 99 mV. Podobny zakres zmian zaobserwowano w przypadku gleb wytworzonych z glin, gdzie zakres ten wynosił od 15 do 88 mV. Najmniej zróżnicowany spadek wartości Eh zaobserwowano w glebach o składzie granulometrycznym iłu i pyłu, w których wynosił on od 86 do 104 mV (Tabela 7). Na podkreślenie zasługuje fakt, że górne granice spadku potencjału redoks były bardzo zbliżone do siebie w glebach o różnym składzie granulometrycznym. Podobnie szybki spadek wartości Eh w pierwszej fazie inkubacji zaobserwowali i inni autorzy [66, 121]. Wiele gleb istotnie

różniło się pod względem wartości potencjału redoks w początkowym okresie (do trzeciego dnia) inkubacji.

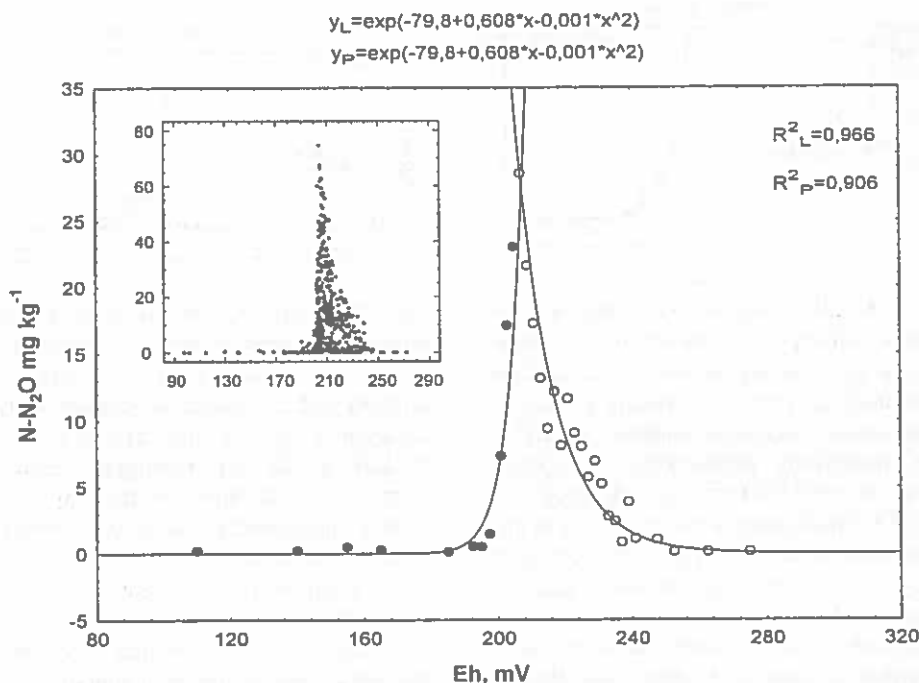
Kolejne dni inkubacji sprowadzają większość gleb do zakresu Eh od +230 do około +180 mV, choć nadal występują znaczne różnice pomiędzy poszczególnymi glebami. Wyjątek stanowią dwie gleby o skrajnie rozrzuconych wartościach Eh; gleba Nr 39 wytworzona z piasku słabo gliniastego, wykraczająca istotnie poza wartość +230 mV i gleba Nr 147 wytworzona z iltu, której wartość średnia Eh spadła do około +170 mV (Rys.7).

Analiza wariancji wartości Eh dla gleb wytworzonych z różnej skały macierzystej wykazała istotne różnice pomiędzy glebami wytworzonymi z piasków, glin oraz iltów i pyłów. Najwyższe wartości Eh w przekroju całego doświadczenia obserwowano w glebach piaszczystych, nieco niższe w glebach wytworzonych z glin i najniższe w glebach wytworzonych z iltów i pyłów (Rys. 6a,b,c).

Największy spadek wartości Eh o 186 mV zaobserwowano w glebie wytworzonej z iltu (Nr 147), najniższy zaś, zaledwie 27 mV w glebie (Nr 328) wytworzonej z gliny lekkiej (Tabela 4). Przy analizie spadku wartości Eh w poszczególnych grupach gleb w przekroju całego doświadczenia, na podkreślenie zasługuje fakt, że w przypadku gleb o składzie granulometrycznym piasków i glin potencjał redoks niewiele różnił się od wartości zanotowanych w drugim dniu inkubacji i wynosił odpowiednio od +32 do +107 i od +27 do +111 mV, podczas gdy w pozostałej trzeciej grupie granulometrycznej, wystąpiły znaczne różnice. Ogólnie można powiedzieć, że badane gleby charakteryzowały się niezbyt szerokim zakresem zmian wartości potencjału redoks w porównaniu z wynikami innych autorów, gdzie spadek wartości Eh w glebach wytworzonych z glin wahał się od +350 do +50 mV [155].

Analiza regresji całości uzyskanych wyników pozwala wyznaczyć zakres wartości granicznych Eh dla produkcji i redukcji  $N_2O$  w glebach o zróżnicowanym składzie granulometrycznym, wartości pH i zawartości substancji organicznej. W zakresie produkcji podtlenku azotu wartość graniczna Eh wynosiła około +250 mV a przedział intensywnej produkcji zawierał się w zakresie Eh od +250 do +210 mV. Wartością graniczną dla redukcji  $N_2O$  było Eh około +200 mV a cała redukcja odbywała się w zakresie niespełna 10 mV od +210 do +200 mV (Rys. 12). Jak widać produkcja i redukcja  $N_2O$  jest istotnie nieliniowo skorelowana z potencjałem redoks. Najlepiej zależność tę opisuje równanie funkcji wykładniczej  $y=\exp(a+bx)$  dla fazy po-

wstawiania podtlenku azotu, której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,906$  oraz równanie  $y = \exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,966$ .

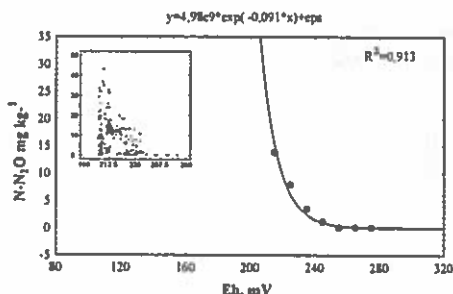


**Rys. 12.** Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji (P – prawa strona wykresu) i absorpcji (L – lewa strona wykresu) w powietrzu nad zawiesiną glebową w funkcji Eh (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb i terminów inkubacji.

**Fig. 12.** Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (P – right side of figure) and absorption (L – left side of figure) in the headspace of gas as a function of Eh values ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils and entire time of incubation.

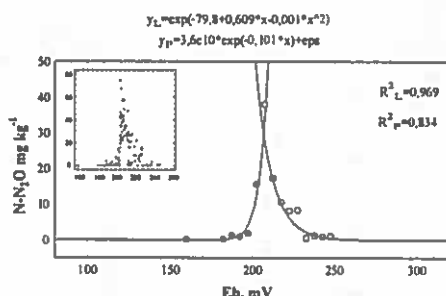
Analiza regresji emisji i sorpcji podtlenku azotu w funkcji potencjału redoks, pozwala prześledzić jaki udział w wyznaczeniu tej zależności miała skala macierzysta, z której gleby zostały wytworzone. Zależność tę dla gleb wytworzonych z piasków najlepiej opisuje funkcja wykładnicza ( $y = \exp(a+bx)$ ), której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,913$ . Powstawanie  $N_2O$  dla tej grupy gleb rozpoczyna się od +270 mV z zawężonym zakresem

redukcji podtlenu do kilku mV. Potwierdza to wcześniejsze obserwacje wynikające z niniejszej pracy, że grupa ta jest głównie emitorem podtlenu (Rys. 13).



Rys. 13. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji i absorpcji w powietrzu nad zawiesiną w glebach wytworzonych z piasków w funkcji Eh (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

Fig. 13. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (P – right side of figure) and absorption in the headspace of gas as a function of Eh values in the soils developed from sand ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from entire time of incubation.

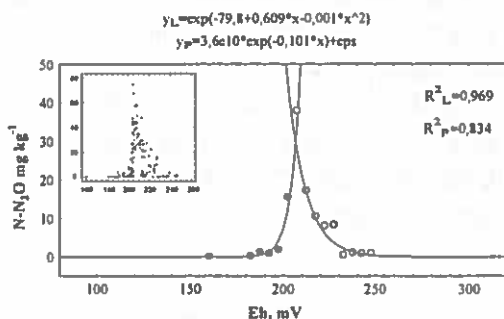


Rys. 14. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji (P – prawa strona wykresu) i absorpcji (L – lewa strona wykresu) w powietrzu nad zawiesiną w glebach wytworzonych z glin w funkcji Eh (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

Fig. 14. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (P – right side of figure) and absorption (L – left side of figure) in the headspace of gas as a function of Eh values in the soils developed from loam ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from entire time of incubation.

Gleby wytworzone z gliny wykazały normalny rozkład punktów na wykresie analizy regresji (Rys. 14) z zakresem wartości Eh dla produkcji i redukcji  $N_2O$  od +250 do +180 mV, z maksimum Eh równym +210 mV. Zależność tę najlepiej opisują równania złożonej funkcji wykładniczej dla faz: powstawania i redukcji  $N_2O$ . Pierwszą z nich opisuje równanie  $y = \exp(a+bx)$ , której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,834$  oraz równanie  $y = \exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,969$ . Gleby te jak już wcześniej stwierdzono, okazały się zarówno dobrymi emitarami jak i reduktorami podtlenu azotu.

Analizę regresji dotyczącą równowagowej zawartości  $N_2O$  w fazie produkcji i redukcji dla gleb wytworzonych z iłów i pyłów przedstawia Rys.15.



Rys. 15. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji (P – prawa strona wykresu) i absorpcji (L – lewa strona wykresu) w powietrzu nad zawiesiną w glebach wytworzonych z ilów i pyłów w funkcji Eh (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

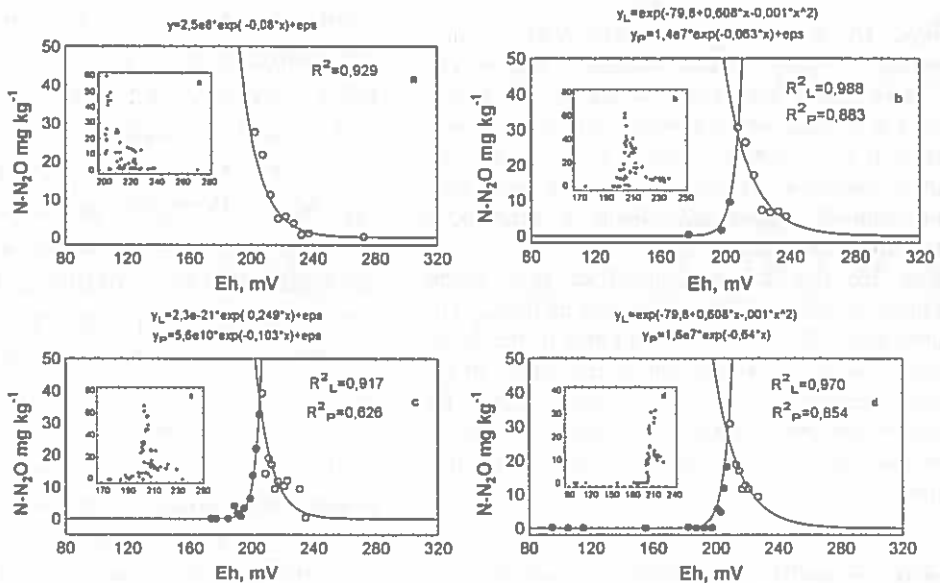
Fig. 15. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (P – right side of figure) and absorption (L – left side of figure) in the headspace of gas as a function of Eh values in the soils developed from silt ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from entire time of incubation.

Gleby te również wykazują wysoki współczynnik korelacji, najlepiej opisywany przez równania funkcji wykładniczej  $y = \exp(a+bx)$  dla fazy powstawania podtlenku azotu, której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,899$  oraz równanie  $y = \exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,734$ . Charakterystyczny dla tych gleb jest znacznie węższy zakres potencjału redoks dla produkcji  $N_2O$ . Wartość graniczna produkcji podtlenku azotu dla tych gleb wynosiła około +230 mV, podczas gdy zakres Eh dla redukcji  $N_2O$  jest znacznie szerszy aniżeli dla gleb piaszczystych i wynosi od +210 do +100 mV. Jedynie wartość potencjału redoks, przy której zachodzi maksymalne wy-

dzielanie podtlenku azotu jest wspólna dla wszystkich gleb i wynosi +210 mV.

Analiza wydzielania i pochłaniania podtlenku azotu w poszczególnych dniach inkubacji pozwala na wyznaczenie zakresu zmian wartości potencjału redoks. Dla zilustrowania tego zjawiska wybrano 4 punkty pomiarowe, w których zachodzą istotne zmiany jakościowe w emisji a następnie sorpcji  $N_2O$ . Rysunki 16a,b,c,d przedstawiają redukcję i emisję podtlenku azotu w funkcji Eh przy zróżnicowanych okresach inkubacji liczonych od momentu zalania gleby. W drugim dniu inkubacji (Rys.16a), przy wartości Eh od około +200 do +280 mV obserwowano zdecydowaną przewagą emisji nad sorpcją. Zależność tę najlepiej opisuje równanie funkcji wykładniczej  $y = \exp(a+bx)$ , której współczynnik determinacji  $R^2 = 0,929$ .

Kolejne wyraźne jakościowe zmiany notowano w siódmym dniu inkubacji (Rys.16b), gdzie zakres emisji zawężił się do przedziału od 200 do 240 mV a pojawiło się wyraźnie zjawisko redukcji podtlenku w zakresie potencjału redoks od +180 do około +200 mV. Wzajemne relacje w tym przypadku opisuje złożona funkcja wykładnicza  $y=\exp(a+bx)$  dla fazy powstawania podtlenku azotu, której współczynnik determinacji  $R^2=0,883$  oraz równanie  $y=\exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2=0,988$ .



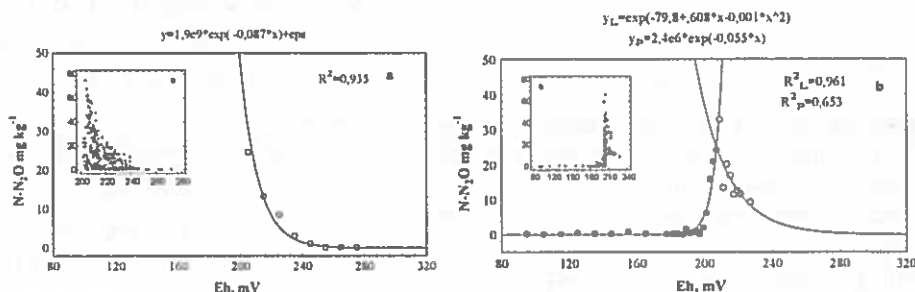
Rys. 16. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji (P – prawa strona wykresu) i absorpcji (L – lewa strona wykresu) w powietrzu nad zawieszoną glebową z II (a), VII (b), X (c) i końcowego (d) dnia inkubacji w funkcji Eh (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb.

Fig. 16. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (P – right side of figure) and absorption (L – left side of figure) in the headspace of gas values in the soils from the second day (a), seventh day (b), tenth day (c) and final day (d) of the incubation as a function of Eh ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils.

W dziesiątym dniu doświadczenia nieznacznie tylko zmienia się zakres Eh, w którym zachodzi emisja ale zaznacza się już przewaga fazy redukcji podtlenku azotu nad fazą jego produkcji przy wartości potencjału redoks



utrzymującym się na tym samym poziomie (Rys.16c). Zależność tę najlepiej opisuje równanie funkcji wykładniczej  $y=\exp(a+bx)$  dla fazy powstawania podtlenku azotu, której współczynnik determinacji  $R^2=0,626$  oraz równanie  $y=\exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2=0,917$ . W końcowym dniu hodowli obserwowano wyraźną przewagę redukcji podtlenku nad produkcją z postępującym spadkiem wartości Eh do około +90 mV (Rys.16d). Zależność tę najlepiej opisuje równanie funkcji wykładniczej  $y=\exp(a+bx)$  dla fazy powstawania podtlenku azotu, której współczynnik determinacji  $R^2=0,854$  oraz równanie  $y=\exp(a+bx+cx^2)$  dla fazy redukcji, której współczynnik determinacji  $R^2=0,970$ . We wszystkich analizowanych dniach doświadczenia maksimum wydzielania  $N_2O$  obserwowano przy Eh pomiędzy +205 i +210 mV.

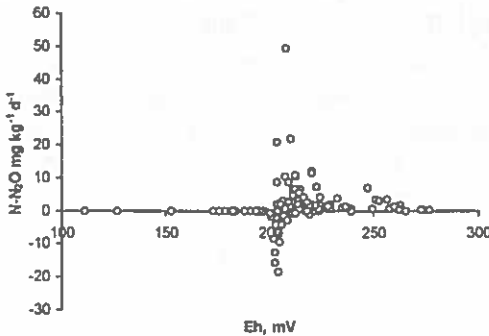


Rys. 17. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji (a) i absorpcji (b) (P – prawa strona wykresu i L – lewa strona wykresu) w powietrzu nad zawiesiną glebową w funkcji Eh (wartości średnie y dla wyznaczonych zakresów wartości x). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb i terminów inkubacji.

Fig. 17. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission (a) and absorption (b) (L – left side of figure and P – right side of figure) in the headspace of gas as a function of Eh values (y = mean values for the determined ranges of x value). Insertion shows single data from all soils and entire time of incubation.

Podobne wyniki uzyskali Smith i wsp. [149] badając wpływ Eh w zakresie od -200 do +350 mV i pH gleby (5, 6, 7 i 8,5) na produkcję i redukcję podtlenku azotu. Stwierdzili, że maksimum redukcji podtlenku azotu obserwowano przy pH 6 i 7. Krytyczna wartość Eh dla redukcji i produkcji  $N_2O$  wynosi +250 mV przy pH 6 i 7 oraz +300 mV przy pH 5. Chociaż redukcja  $N_2O$  przy pH 5 rozpoczyna się od wyższych wartości Eh lecz tempo rozkładu podtlenku jest niższe przy pH 5. Zasadowe środowisko nie zmienia wartości granicznej potencjału redoks ale tempo redukcji było mniejsze. Autorzy potwierdzają, że gleba może być pochłaniaczem  $N_2O$ .

Masscheleyn i wsp. [97] badali emisję  $N_2O$  z pól ryżowych przy różnych wartościach potencjału redoks w zakresie od +500 do - 250 mV. Znaleźli dwa maksima wydzielania  $N_2O$  przy +400 mV, kiedy nityfikacja była źródłem podtlenu i przy 0 mV, gdy  $N_2O$  było produkowane podczas denityfikacji.



Rys. 18. Rys. 18. Dobowa emisja i absorpcja  $N_2O$  w funkcji średniej wartości potencjału redoks w analizowanym okresie (wartości średnie z wszystkich gleb i terminów inkubacji).

Fig. 18. Daily emission and absorption of  $N_2O$  as a function of means Eh values during investigated time (mean values from all soils and entire time of incubation).

Podobne wyniki uzyskali Kralova i wsp. [86] badając denityfikację w zawieszinie glebowej wzbogaconej azotanami. Maksimum wydzielania  $N_2O$  zaobserwowano przy Eh 0 mV podczas gdy denityfikacja przebiegała nadal ze wzrostem emisji  $N_2$  przy niższych wartościach potencjału redoks.

W celu lepszego zilustrowania wpływu Eh na przemiany azotanów, jak również produktów ich redukcji w badanych glebach, przeprowadzono analizę regresji osobno dla emisji podtlenu azotu i dla jego redukcji. Rysunek 17a

przedstawia rozkład punktów charakterystyczny dla fazy emisji  $N_2O$ , którą najlepiej opisuje funkcja wykładnicza, której współczynnik determinacji  $R^2=0,9345$  przy zakresie wartości Eh od około +200 do około +280. Rysunek 17b przedstawia rozkład punktów charakterystyczny dla fazy redukcji  $N_2O$ , którą najlepiej opisują dwa równania funkcji wykładniczej  $y=\exp(a+bx)$  dla tej części gleb, w której redukcja podtlenu azotu zachodzi wolniej gdzie współczynnik determinacji  $R^2 = 0,653$  oraz równanie  $y=\exp(a+bx+cx^2)$  w glebach, w których proces redukcji  $N_2O$  zachodzi szybciej a współczynnik determinacji  $R^2 = 0,961$  w zakresie wartości Eh od około +220 do około +90. Zwraca uwagę bardzo ostro zaznaczona wartość graniczna Eh, po której następuje redukcja podtlenu azotu. Zjawisko to dobrze ilustruje Rys.18 przedstawiający dobowe przyrosty podtlenu azotu

i jego redukcji w funkcji średniej wartości potencjału redoks wyliczonej dla badanego okresu.

Wysoki współczynnik korelacji wartości Eh z powstawaniem i redukcją podtlenku azotu wskazuje, że jednym z najważniejszych czynników decydujących o wielkości emisji tego gazu do atmosfery jest potencjał oksydo-redukcyjny gleby.

### 3.2.3. Denitryfikacja w zależności od zawartości azotanów w glebach

W warunkach anaerobiozy wywołanych wysokim uwilgotnieniem gleby lub jej całkowitym zalaniem bakterie wykorzystują tlen zawarty w azotanach lub azotynach. Organizmy te wykorzystują utlenione formy azotu jako alternatywne akceptory elektronów zamiast wolnego tlenu. Kiedy podczas redukcji dysymilacyjnej azotanów produkowany jest azot cząsteczkowy  $N_2$  lub podtlenek  $N_2O$ , proces ten nazywany jest denitryfikacją. Ponieważ jednak redukcja azotanów czasami prowadzi do wytworzenia amoniaku lub azotynów, niektórzy autorzy używają bardziej ogólnej nazwy dla tego procesu, to jest oddychania azotanowego. Kiedy głównym produktem redukcji azotanów jest amoniak proces ten nazywany jest fermentacyjną redukcją azotanów [54]. Proces redukcji dysymilacyjnej do  $NH_4^+$  może zachodzić w takich samych warunkach jak denitryfikacja właściwa i wtedy stanowi konkurencję w wykorzystaniu  $NO_3^-$  [161].

Ogólnie można stwierdzić, że tempo denitryfikacji wzrasta po dodaniu azotanów [134, 171, 45, 125, 136, 4].

Wysoka emisja  $N_2O$  wymaga odpowiedniego zaopatrzenia w nieorganiczny azot i organiczny węgiel [105, 134, 132, 62, 91, 94].

Sahrawat i Keeney [135] podkreślają również wagę C organicznego i stwierdzają, że całkowita denitryfikacja ( $N_2O$  plus  $N_2$ ) jest wprost proporcjonalna do zawartości  $NO_3^-$  w glebie, kiedy inny istotny komponent, łatwo przyswajalne substancje organiczne są również obecne i nie limitują tempa wydzielania gazów. Kiedy brakuje łatwych do wykorzystania substancji organicznych, denitryfikacja potencjalna jest ograniczana a wydzielanie  $N_2$  plus  $N_2O$  nie wzrasta wraz ze wzrostem zawartości  $NO_3^-$  w glebie.

Bouwman [33] stwierdził, że zachodzi dyfuzja  $NO_3^-$  z miejsc tlenowych do beztlenowych a następnie jego redukcja. Dlatego w glebach natlenionych

zachodzi równocześnie denitryfikacja i nityfikacja autotroficzna połączona z produkcją  $N_2O$  w różnych mikroprzestrzeniach.

Tempo denitryfikacji w glebie wzrasta wraz ze wzrostem zawartości azotanów do pewnego poziomu, powyżej którego jest wartością stałą. Ten typ reakcji jest typowy dla większości procesów mikrobiologicznych i opisywany jest przez równanie Michaelisa-Mentena

$$V = \frac{V_m \cdot S}{S + K_m}$$

gdzie :  $V$  - tempo denitryfikacji  
 $V_m$  - maksymalne tempo denitryfikacji  
 $S$  - zawartość  $NO_3^-$   
 $K_m$  - stała Michaelisa-Mentena

$K_m$  jest to ilość  $NO_3^-$ , przy której tempo denitryfikacji wynosi 50% wartości maksymalnej. Tempo denitryfikacji opisywane jest kinetyką reakcji pierwszorzędowej w stosunku do zawartości azotanów tylko wtedy, gdy  $S$  jest poniżej  $K_m$  [69].

Wartości  $K_m$  dla denitryfikacji różnią się wyraźnie w doniesieniach różnych autorów. Klemetsson i wsp. [78] podają 4 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  gleby, Murray i wsp. [108] od 0,025 do 0,2 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  zawiesiny glebowej a Malhi i wsp. [96] podają od 117 do 138 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  gleby. Zatem opierając się na definicji  $K_m$  można by oczekiwać wysycenia substratem i niezależności prędkości reakcji przy stężeniu substratu 4-5 razy wyższym niż wartość  $K_m$ .

Naturalna zawartość azotanów w powietrznie suchych glebach wytypowanych do badań wahała się od 4,53 do 67,42 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  gleby. Analiza statystyczna wykazała istotne różnice w zawartości azotanów w poszczególnych glebach. W większości analizowanych przypadków ilość ich nie przekraczała 20 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  gleby. Najwyższą i istotnie różną od pozostałych gleb zawartością  $NO_3^-$  charakteryzowały się gleby wytworzone z ilów i pyłów (Tabela 1).

Zawartość  $NO_3^-$  w warstwie ornej jest zwykle pomiędzy 2 do 10 mg  $NO_3^-$ -N  $kg^{-1}$  podczas większej części roku i powinna być w tym zakresie wtedy gdy denitryfikacja wzrasta wraz ze wzrostem zawartości  $NO_3^-$  [69].

Badania Stępniewskiej [155] wykazały wyższe zawartości azotanów w warstwie ornej, wynoszące od 0,20 do 0,44 g kg<sup>-1</sup> gleby.

Dodatek azotanów do gleby w ilości 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup> gleby w założeniu miał wyeliminować wpływ tego czynnika na proces denitryfikacji w początkowej jego fazie. Analiza statystyczna wydzielania podtlenku azotu nie wykazała jego istotnego zróżnicowania w zależności od wyjściowej zawartości azotanów (naturalna zawartość + wprowadzona) w okresie do 10 dnia inkubacji.

Limmer i Steele [95] stwierdzili, że denitryfikacja potencjalna była niezależna od ilości NO<sub>3</sub><sup>-</sup> przy zawartości powyżej 25 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup> gleby.

Stanford i wsp. [152] wykazali, że denitryfikacja przebiega według reakcji pierwszorzędowej, kiedy substraty podlegające utlenieniu nie limitują procesu a poziom azotanów jest mniejszy niż 40 mg l<sup>-1</sup>.

Natomiast Starr i Parlange [153] stwierdzili, że denitryfikacja przebiega przeważnie zgodnie z reakcją zerowego rzędu kiedy związki węglowe są limitowane lub poziom azotanów jest powyżej 40 mg l<sup>-1</sup>.

Abbadie i Lensi [0] badając mineralizację związków węglowych i azotowych w wilgotnych sawannach zachodniej Afryki, stwierdzili ścisłą zależność pomiędzy zawartością substancji organicznych a mineralizacją związków azotowych i węglowych. Nie stwierdzono natomiast wpływu zawartości węgla na proces denitryfikacji. Aktywność denitryfikacyjna była badana w próbkach powietrznie suchych z dodatkiem azotanu ( 80 μg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> g<sup>-1</sup> suchej gleby) w ilości wystarczającej dla przebiegu reakcji zerowego rzędu.

Badania laboratoryjne nad denitryfikacją potencjalną innych autorów wykazały, że zawartość NO<sub>3</sub><sup>-</sup> związana z przejściem reakcji enzymatycznej redukcji azotanów od reakcji rzędu zerowego do reakcji rzędu pierwszego waha się w szerokich granicach od 40 [82] do 100 μg N g<sup>-1</sup> gleby [11].

Scholefield i wsp. [141] badając proces denitryfikacji w glebie gliniastej z zastosowaniem atmosfery helowej stwierdzili, że denitryfikacja wzrasta wraz z zawartością azotanów w zakresie od 0-150 kg ha<sup>-1</sup>.

Analiza materiału glebowego i opis dynamiki zmian potencjału oksydo-redukcyjnego pozwalają na stwierdzenie, że zostały spełnione trzy spośród czterech podstawowych warunków zaistnienia redukcji dysymilacyjnej azotanów:

- obniżenie wartości Eh do +400 mV,
- obecność azotanów,
- obecność łatwo dostępnego węgla.

Pozostał czwarty czynnik, czyli obecność bakterii (a ściślej enzymów) czynnych w redukcji dysymilacyjnej azotanów, jednej z licznie reprezentowanych grup drobnoustrojów w glebie. Mikroorganizmy denitryfikujące w glebie to przede wszystkim bakterie beztlenowe i warunkowo beztlenowe, które mają zdolność do redukcji tlenków azotu ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ), kiedy dostępność  $\text{O}_2$  jest ograniczona. Powszechnie uważa się, iż większość bakterii glebowych ma zdolność do denitryfikacji [165, 166].

Gleby badane w niniejszej pracy wykazały różną dynamikę redukcji azotanów do produktów gazowych. Po pierwszej dobie inkubacji stwierdzono, że w większości gleb azotany zostały zdenitryfikowane do poziomu od 100 do 115 mg  $\text{NO}_3^-$ -N  $\text{kg}^{-1}$  gleby. Wyjątek stanowią dwie gleby: Nr 113-Bpłp i Nr 672-Bli oraz gleba wytworzona z gliny ciężkiej - Nr 951, które wykazały najniższą aktywność redukcji azotanów a zawartość  $\text{NO}_3^-$  w tych glebach wynosiła powyżej 140 mg  $\text{kg}^{-1}$ . Zdecydowana większość gleb wytworzonych z piasków charakteryzowała się niską aktywnością w rozkładzie azotanów. Średni ubytek azotanów w przeliczeniu na 1 dzień inkubacji nie przekraczał 4 mg N- $\text{NO}_3$   $\text{kg}^{-1}$  gleby. Przyczyną niskiej aktywności denitryfikacyjnej tych gleb może być nieco niższa zawartość substancji organicznych w porównaniu do pozostałych gleb, jak również związana z typem gleb selekcja drobnoustrojów wykorzystujących w pierwszej kolejności tlen jako akceptor elektronów.

Według Błaszczyka i wsp. [22, 24, 25, 27] i Błaszczyka [28] środowisko w jakim rozwijają się bakterie denitryfikacyjne wywiera istotny wpływ na ich selekcję gatunkową i aktywność denitryfikacyjną.

Według niektórych autorów [0, 118, 138, 69] aktywność populacji drobnoustrojów w glebie może oddziaływać w większym stopniu na powstawanie w niej podtlenku azotu niż czynniki fizyczne czy chemiczne.

Inni autorzy stwierdzili również, że tempo denitryfikacji zależy od historii próbki glebowej [64, 91].

Najaktywniejsza wśród badanych gleb okazała się gleba ilasta - Nr 147-Bi, w której zawartość azotanów, po pierwszej dobie inkubacji, spadła poniżej 90 mg N- $\text{NO}_3$   $\text{kg}^{-1}$  gleby. Wśród analizowanych gleb zaobserwowano istotne różnice w zawartości azotanów. Do trzeciego dnia inkubacji włącznie, trzy gleby o najniższej aktywności redukcji azotanów, nadal istotnie różniły się od pozostałych gleb, podczas gdy do grupy gleb najaktywniejszych dołączyły kolejne dwie - Nr 328-Bgl ps i 947-Bip. W 21 dniu hodowli w sześciu glebach zawartość azotanów spadła do zera, pozostałe zaś gleby

istotnie różniły się pomiędzy sobą. Natomiast gleba wytworzona z pyłu Nr 113 (Bpłp) pozostała najmniej aktywna w warunkach przeprowadzonego doświadczenia. W większości badanych gleb zaobserwowano zjawisko adaptacji drobnoustrojów do zmiany akceptora elektronów i syntezy reduktazy azotanowej (Rys. 4a,b,c).

Zastanawiająca może być bardzo niska aktywność w redukcji azotanów trzech wyżej wymienionych gleb, których skład mineralogiczny, zawartość C org. i pH wyjściowe nie predestynują tych gleb do grupy nieaktywnej mikrobiologicznie. Gleby te natomiast wyróżnia spośród innych analizowanych, najwyższa naturalna zawartość  $\text{NO}_3^-$  (Tabela 1). Przyczyny zatem należy doszukiwać się nie w warunkach doświadczenia czy zasobności danej gleby a w składzie drobnoustrojów zasiedlających ją. Wydaje się, że w glebach Nr 113-Bpłp i 672-Bli zdecydowanie dominują mikroorganizmy pozbawione reduktazy azotanowej, być może w większym stopniu zdolne do wykorzystywania tylko formy azotynowej, stąd również wysokie nagromadzenie jonu azotanowego w materiale wyjściowym.

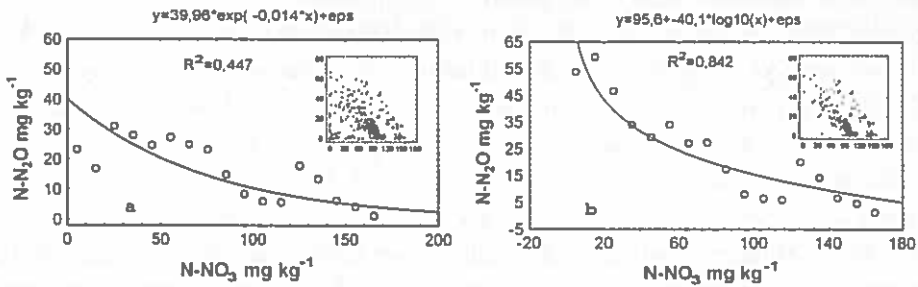
Wielu autorów zwraca uwagę na to zjawisko dowodząc, że bakterie denitryfikacyjne wykazują różną niekompletność w szlakach redukcyjnych. Najczęściej brakującymi enzymami w tym szlaku są reduktazy: azotanowa i podtlenkowa. Niektóre bakterie produkują tylko  $\text{N}_2$ , podczas gdy inne wydzielają mieszaninę  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2$  a niektóre tylko  $\text{N}_2\text{O}$  [157, 127]. Natomiast Klemmedtson i Svensson [80] zwracając uwagę na to zjawisko piszą, że nie wszystkie bakterie posiadają komplet enzymów zdolnych przekształcić azotany do azotu cząsteczkowego. Czasami  $\text{N}_2\text{O}$  jest głównym produktem, podczas gdy inne startują raczej od redukcji azotynów niż azotanów.

Natomiast w glebie Nr 951-Bgcp sk dominują prawdopodobnie drobnoustroje, preferujące tlen jako ostateczny akceptor elektronów i wymagające dłuższego czasu adaptacji do zmiany akceptora elektronów i syntezy reduktazy azotanowej.

Błaszczuk [26] badając aktywność denitryfikacyjną 2 szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i jednego szczepu z rodzaju *Paracoccus* w hodowlach z dodatkiem  $\text{NO}_3^-$  i  $\text{NO}_2^-$  stwierdził, że bakterie wymagają czasu do syntezy i aktywacji reduktazy azotynowej przy zmianie akceptora elektronów. Równoczesna hodowla wyżej wymienionych szczepów w podłożu z dodatkiem azotanów i azotynów wykazała trzy różne systemy indukcji reduktaz: azotanowej i azotynowej.

Czynnikiem hamującym proces denitryfikacji może być też niedostatek zredukowanej formy azotu w badanych glebach. Bakterie denitryfikacyjne nie mogą korzystać z azotanu jako źródła azotu i wymagają zredukowanych jego związków [85].

Redukcja azotanów prowadzi między innymi do wytworzenia podtlenku azotu - głównego przedmiotu naszych zainteresowań. Jak wykazała wcześniejsza analiza uzyskanych wyników (Rozdział 3.1.1) badane gleby charakteryzują się bardzo zróżnicowaną aktywnością w redukcji azotanów i emisji  $N_2O$ . Rysunek 19a,b przedstawia zawartość podtlenku azotu w powietrzu nad powierzchnią zawiesiny glebowej w funkcji zawartości azotanów. Podtlenek azotu przedstawia równowagową jego zawartość w fazie emisji i redukcji a zawartość azotanów stanowi ilość pomniejszoną o część zredukowaną do produktów gazowych ( $N_2O$  i  $N_2$ ) oraz formy amonowej w okresie całego doświadczenia. Przedstawione wyniki wskazują, że ilość powstałego podtlenku azotu rosła nieliniowo w miarę ubywania azotanu.



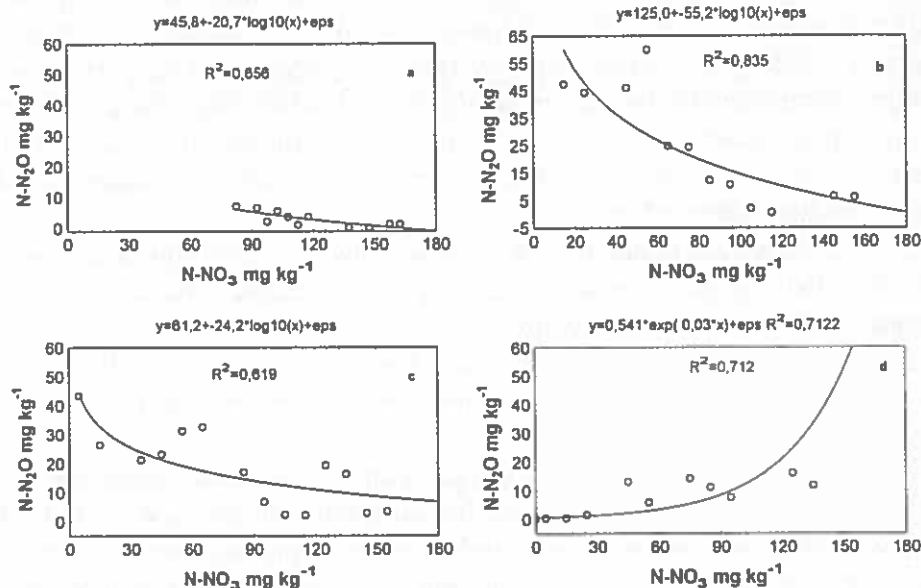
Rys. 19. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji i absorpcji (a) oraz w fazie absorpcji (b) w powietrzu nad zawiesiną glebową w funkcji aktualnego stężenia  $NO_3^-$  (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb.

Fig. 19. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission and absorption (a) and emission (b) in the headspace of gas as a function of an actual concentration of  $NO_3^-$  ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils.

A zatem, pomiędzy zawartością  $N_2O$  w fazie gazowej podczas całego okresu inkubacji a zawartością  $NO_3^-$  w glebie zachodzi ujemna korelacja, którą opisuje funkcja wykładnicza, której współczynnik determinacji  $R^2=0,447$  (Rys. 19a). Wyznaczenie tej samej zależności dla pierwszej fazy inkubacji, w której produkcja  $N_2O$  wyraźnie dominowała nad redukcją, potwierdza wysoką ujemną zależność pomiędzy zawartością azotanów w glebie a za-



wartością  $N_2O$  w fazie gazowej. Wyraża się to wyższym współczynnikiem determinacji  $R^2=0,842$  (Rys. 19b).



Rys. 20. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji i absorpcji w powietrzu nad zawiesziną glebową z I (a), II (b), III (c) i końcowego (d) dnia inkubacji w funkcji aktualnego stężenia  $NO_3^-$  (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ).

Fig. 20. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission and absorption in the head-space of gas from the first day (a), second day (b), third day (c), and final day (d) of the incubation as a function of an actual concentration of  $NO_3^-$  ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value from all soils).

Interesujące wydawało się prześledzenie tej zależności w poszczególnych dniach inkubacji. Do analizy wybrano te dni doświadczenia, w których zachodziły istotne zmiany jakościowe w procesie denitryfikacji, odzwierciedlające poszczególne fazy inkubacji drobnoustrojów – fazę adaptacji, fazę powstawania podtlenku azotu i fazę jego redukcji. Zjawiska te mają swoje odzwierciedlenie w zmianie funkcji matematycznych opisujących wymienione zależności. Po pierwszym dniu inkubacji zawartość azotanów mieściła się w granicach od ok. 82 - 162 mg  $NO_3^- \cdot N \cdot kg^{-1}$  gleby a powstałego  $N_2O$  od 0 - 24 mg  $N_2O \cdot N \cdot kg^{-1}$  gleby. Emisja podtlenku azotu w zależności od aktualnej zawartości azotanów w inkubowanych glebach opisywana jest przez funkcję logarymiczną, której  $R^2=0,656$  (Rys. 20a). Wyniki z drugiego

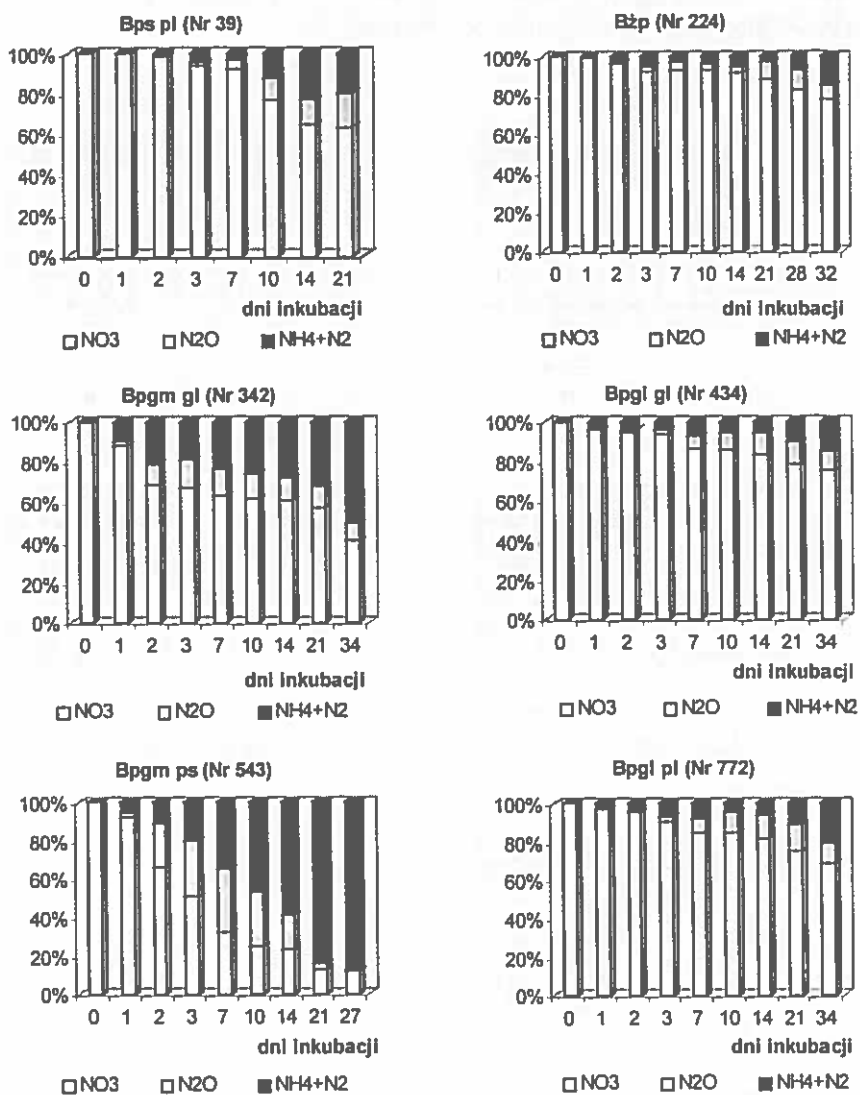
i trzeciego dnia inkubacji opisuje ta sama funkcja matematyczna, której współczynnik determinacji wynosi odpowiednio  $R^2=0,835$  i  $R^2=0,619$  (Rys. 20b,c). Kolejnym dniem istotnych zmian jest siódmy dzień inkubacji, w którym zależność ilości  $N_2O$  od ilości ubywającego azotanu jest zmieniona przez redukcję podtlenku azotu w tym przypadku malejącej zawartości azotanu towarzyszy malejąca zawartość  $N_2O$ . Analiza statystyczna nie wykazuje żadnej istotnej zależności od 7 do 21 dnia inkubacji. W 21 dniu inkubacji obserwujemy kolejną zmianę zależności funkcyjnej badanego substratu i produktu denitryfikacji.

W 21 dniu zanikanie podtlenku azotu zdecydowanie dominuje nad powstawaniem, stąd zmiana ujemnej zależności na dodatnią; malejącej zawartości azotanów odpowiada niska zawartość  $N_2O$ .

Zależność ta utrzymuje się do końca inkubacji (do 34 dnia) i najlepiej opisuje ją funkcja wykładnicza o współczynniku determinacji  $R^2= 0,712$  (Rys.20 d).

Tabela 3 przedstawia dane dotyczące stopnia rozkładu azotanów oraz procentowy udział w tym rozkładzie frakcji podtlenku azotu wyliczony dla dnia, w którym w powietrzu nad glebą stwierdzono najwyższą zawartość  $N_2O$  oraz sumy frakcji  $N_2$  i formy amonowej czyli pozostałych możliwych produktów redukcji dysymilacyjnej. Dynamika redukcji azotanów przedstawiona została w rozdziale 3.1.3.

Rysunki 21, 22 i 23 przedstawiają stopień rozkładu azotanów w % jak również procentowy udział podtlenku azotu w puli rozłożonych azotanów. Na wykresach tych przedstawiono także sumę  $N_2$  i  $NH_4^+$ . Rysunek 21 przedstawia wyżej opisane stosunki dla gleb wytworzonych z piasków. W żadnej z gleb piaszczystych nie stwierdzono redukcji całej puli azotanów dostępnych w czasie prowadzonych badań. Najwięcej azotanów zredukowały dwie gleby wytworzone z piasku gliniastego mocnego; gleba Nr 543-Bpgm ps (86,4%) i gleba Nr 342-Bpgm gl (59,4%). Wydaje się, że czynnikiem decydującym w tym przypadku jest skład mechaniczny i pH analizowanych gleb. Obie gleby mają najniższą zawartość frakcji piasku i średnio wyższe pH od pozostałych gleb. Wpływ składu mechanicznego i pH na proces wydzielania podtlenku azotu omówiony będzie szczegółowo w dwóch kolejnych rozdziałach. W pozostałych glebach procent wykorzystania azotanów był bardzo niski i zawierał się w granicach od 22 do 36% puli azotanów dostępnych dla drobnoustrojów. Wielkość emisji podtlenku azotu w pierwszym dniu doświadczenia wskazuje, że większość badanych gleb

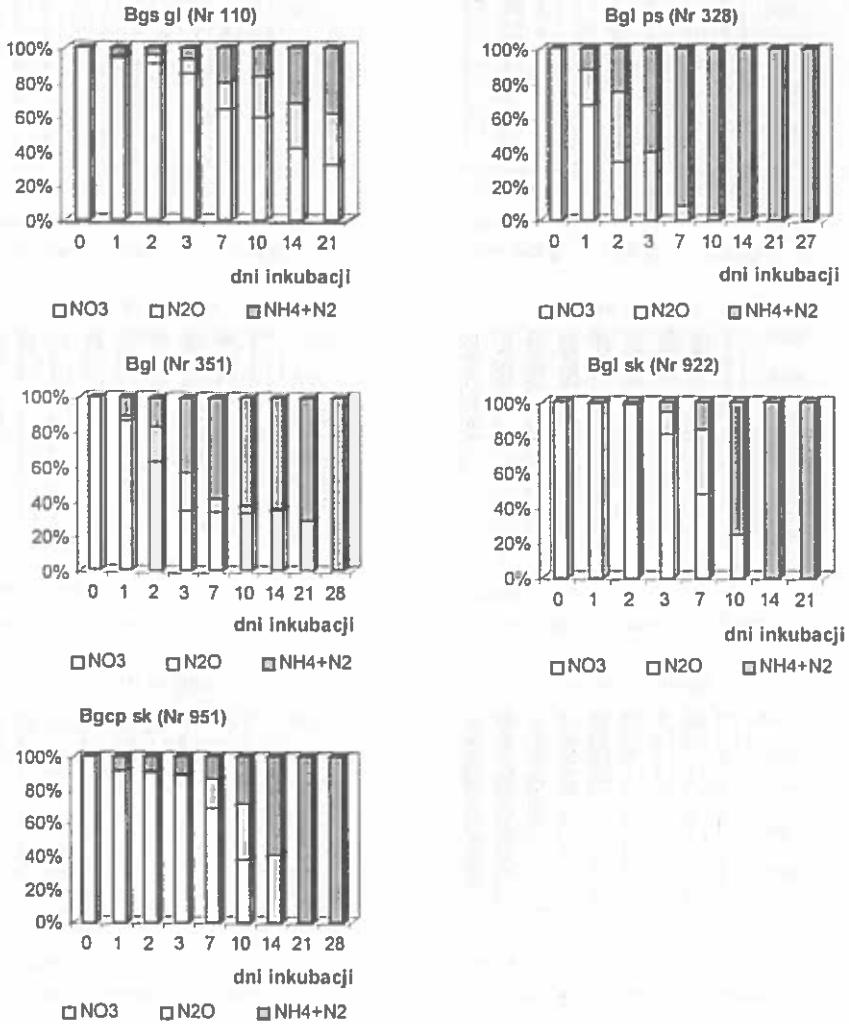


Rys. 21. Procent frakcji NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O oraz (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N<sub>2</sub>) w glebach wytworzonych z piasków w trakcie inkubacji.

Fig. 21. Per cent of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N<sub>2</sub>) in the soils developed from sand during incubation.

wytworzonych z piasków, nawilżonych po okresie suszy, wymaga przynajmniej jednej doby do ożywienia drobnoustrojów. Wyjątek w tym wzglę-

dzie stanowią dwie gleby najaktywniejsze (Nr 342-Bpgm gl i Nr 543-Bpgm ps), redukujące największą ilość azotanów.



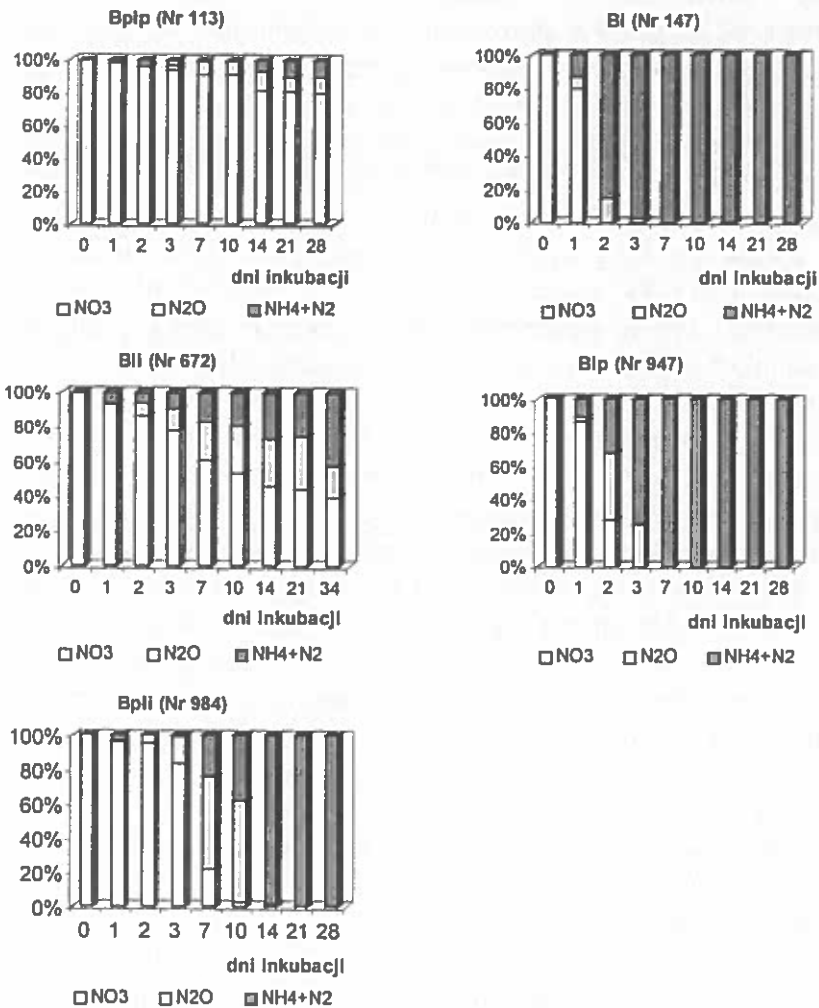
Rys. 22. Procent frakcji NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O oraz (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+N<sub>2</sub>) w glebach wytworzonych z glin w trakcie inkubacji.

Fig. 22. Per cent of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+N<sub>2</sub>) in the soils developed from loam during incubation.

Gleby wytworzone z glin (Rys. 22) wykazywały wysoką aktywność w redukcji azotanów; cztery spośród pięciu gleb zredukowały NO<sub>3</sub><sup>-</sup> w 100%.

Wyjątek stanowi gleba Nr 110-Bgs gl, która rozłożyła  $\text{NO}_3^-$  w 67,8%. Niższą aktywność tej gleby w porównaniu do innych gleb tej grupy należy tłumaczyć połączeniem stosunkowo wysokiej zawartości frakcji piasku z niskim pH. Pozostałe gleby stanowiły grupę bardzo zróżnicowaną pod względem tempa rozkładu azotanów. W malejącej kolejności gleby te można uszeregować: Nr 328-Bgl ps, 922-Bglp:sk, 951-Bgcp sk i 351-Bgl: azotany uległy w nich rozkładowi odpowiednio po 3, 10, 10 i 21 dniach. Interesujący wydaje się tutaj wpływ odczynu gleby. W glebie najaktywniejszej o pH obojętnym 6,85, odczyn wzrósł tylko do wartości pH 6,99 w okresie całej inkubacji. Proces denitryfikacji mógł zatem przebiegać intensywnie od początku inkubacji. Słuszność tego rozumowania zdaje się potwierdzać fakt, że gleba aktywna Nr 328-Bgl ps różni się od gleby mało aktywnej Nr 110-Bgs gl głównie wartością pH, w której nieznacznie tylko podwyższyło się pH z wartości 4,72 do 4,91 w okresie całej inkubacji. Kolejne dwie gleby Nr 922-Bglp:sk i 951-Bgcp sk charakteryzują się bardzo zbliżonymi właściwościami; w obu tych bardzo silnie kwaśnych glebach na początku doświadczenia, pH wzrosło odpowiednio z 3,83 do 5,92 i z 3,94 do 5,94. Istotny wzrost wartości pH zbiega się z dniem przyspieszonego tempa rozkładu azotanów. I wreszcie w glebie Nr 351-Bgl do trzeciego dnia obserwujemy intensywny rozkład azotanów, który przypada na znaczne podwyższenie pH do wartości 5,72 i kolejny wzrost pH powyżej 7, który utrzymywał się do 21 dnia doświadczenia. Spadek pH do wartości poniżej 7 spowodował wzrost aktywności tej gleby w rozkładzie azotanów.

Rysunek 23 przedstawia wyżej opisane zależności w glebach wytworzonych z ilów i pyłów. W trzech spośród pięciu badanych gleb, stwierdzono całkowity rozkład azotanów. Pozostałe dwie gleby Nr 113 - gleba wytworzona z pyłu i Nr 672 - wytworzona z lessu ilastego o pH wyjściowym odpowiednio 4,95 i 4,68, zredukowały 20 i 60 % dostępnych azotanów. W pierwszej z gleb pH utrzymywało się w zakresie słabo kwaśnym (5,07) poniżej optimum dla procesu denitryfikacji. Niski stopień rozkładu azotanów sprawił niewielkie pobranie jonów  $\text{H}^+$  nie wpływając istotnie na zmianę wartości pH. W przypadku gleby Nr 672-Bli podwyższenie wartości pH o 0,85 (z 4,65 do 5,53) było efektem znacznie wyższego stopnia rozkładu azotanów. Pozostałe trzy gleby, w których azotany rozłożone zostały w całości, wykazały po tym względem również zróżnicowaną aktywność. Można je ułożyć w następujący szereg malejący: gleba Nr 147-Bi, 947-Bip i 984-Bpli. Gleba Nr 147-Bi okazała się glebą najaktywniejszą w redukcji



Rys. 23 Procent frakcji NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O oraz (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N<sub>2</sub>) w glebach wytworzonych z ilów i pyłów w trakcie inkubacji.

Fig. 23. Per cent of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + N<sub>2</sub>) in the soils developed from silt during incubation.

azotanów, ponieważ już po drugiej dobie inkubacji nie stwierdzono w niej obecności azotanów. W glebie tej o początkowej wartości pH 6,7 podobna wartość odczynu utrzymywała się do 21 dnia inkubacji. Po 33 dniach trwania doświadczenia pH tej gleby wynosiło 7,38. W kolejnej glebie Nr 947-

Bip azotany zostały w całości zredukowane po 2 dobie, zmieniając wartość pH z 5,37 do 6,8. W ostatniej glebie tej grupy denitryfikacja zapoczątkowana przy niższym pH (4,71) spowodowała redukcję całej puli azotanów po upływie 10 dni przy wzroście pH do 6,49. Wydaje się, że w warunkach przeprowadzonego doświadczenia istotne znaczenie w procesie redukcji azotanów, miało wyjściowe pH badanych gleb.

Tabela 9. Współczynnik korelacji ( $r$ ) pomiędzy zawartością azotanów ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) i wartością pH

Table 9. Values for the correlation coefficient ( $r$ ) obtained between nitrate content ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) and pH

Rodzaj gleby	Funkcja $y = a + bx$	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń	Zakres pH
Wszystkie gleby Razem	$y = 156 - 14,52 x$	-0,386***	$n = 400$	3,2 - 7,6
Gleby brunatne wytworzone z piasków	$y = 105 - 3,84 x$	-0,168*	$n = 191$	3,4 - 7,6
Gleby brunatne wytworzone z glin	$y = 169 - 18,82 x$	-0,564***	$n = 102$	3,2 - 7,6
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	$y = 341 - 48,09 x$	-0,571***	$n = 85$	3,7 - 6,2

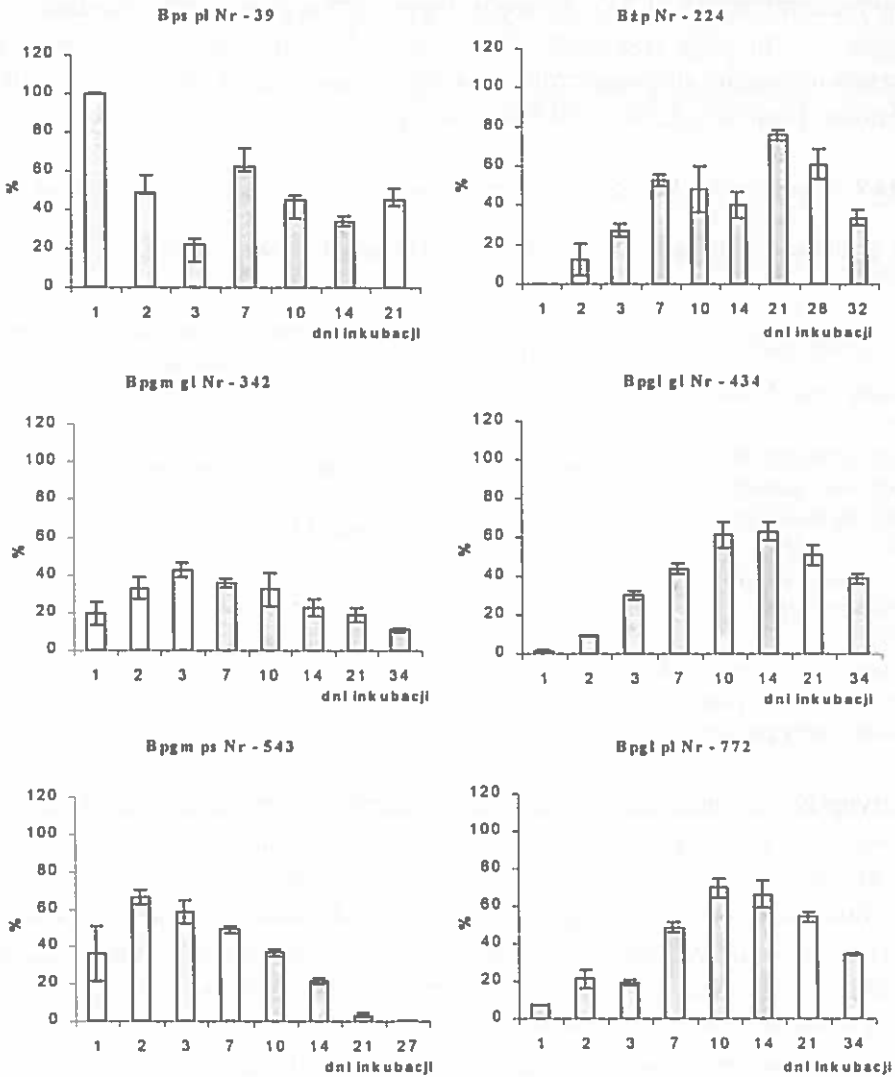
\* istotne przy poziomie 0,05.

\*\* istotne przy poziomie 0,01.

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

Potwierdza to analiza statystyczna zależności zawartości azotanów od wartości pH, zamieszczona w Tabeli 9 przedstawiająca analizę regresji dla wszystkich gleb i terminów oraz poszczególnych skał macierzystych, z których zbudowane są poszczególne gleby. Przedstawione dane pokazują, że zawartość azotanów maleje liniowo wraz ze wzrastającą wartością pH. Znacznie wyższą korelacją badanych parametrów charakteryzują się gleby cięższe w porównaniu do gleb piaszczystych. W nich też procesy redukcji azotanów a w tym również proces denitryfikacji zachodzą intensywniej. Nieznacznie natomiast różnią się zakresy pH w poszczególnych grupach gleb, choć wykazały one znaczne zróżnicowanie pomiędzy sobą.

Rysunki 24, 25 i 26 przedstawiają procentowy udział podtlenku azotu w puli rozłożonych azotanów w kolejnych dniach doświadczenia (słupki

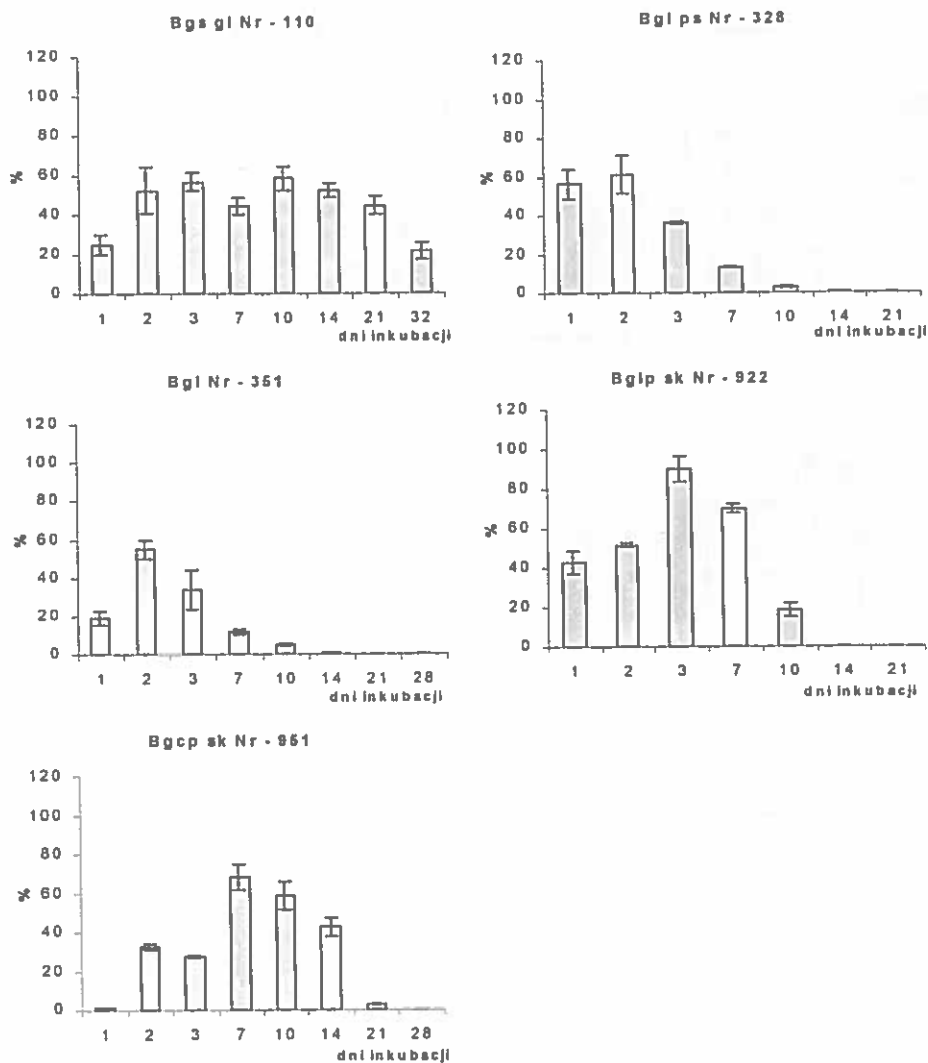


Rys. 24. Procent N<sub>2</sub>O w ilości zredukowanych azotanów w glebach wytworzonych z piasków w trakcie inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości N<sub>2</sub>O w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 24. Per cent of N<sub>2</sub>O in the quantity of reduced nitrate in the soils developed from sand during incubation (white posts show the maximum cumulative value of N<sub>2</sub>O in the headspace of gas).



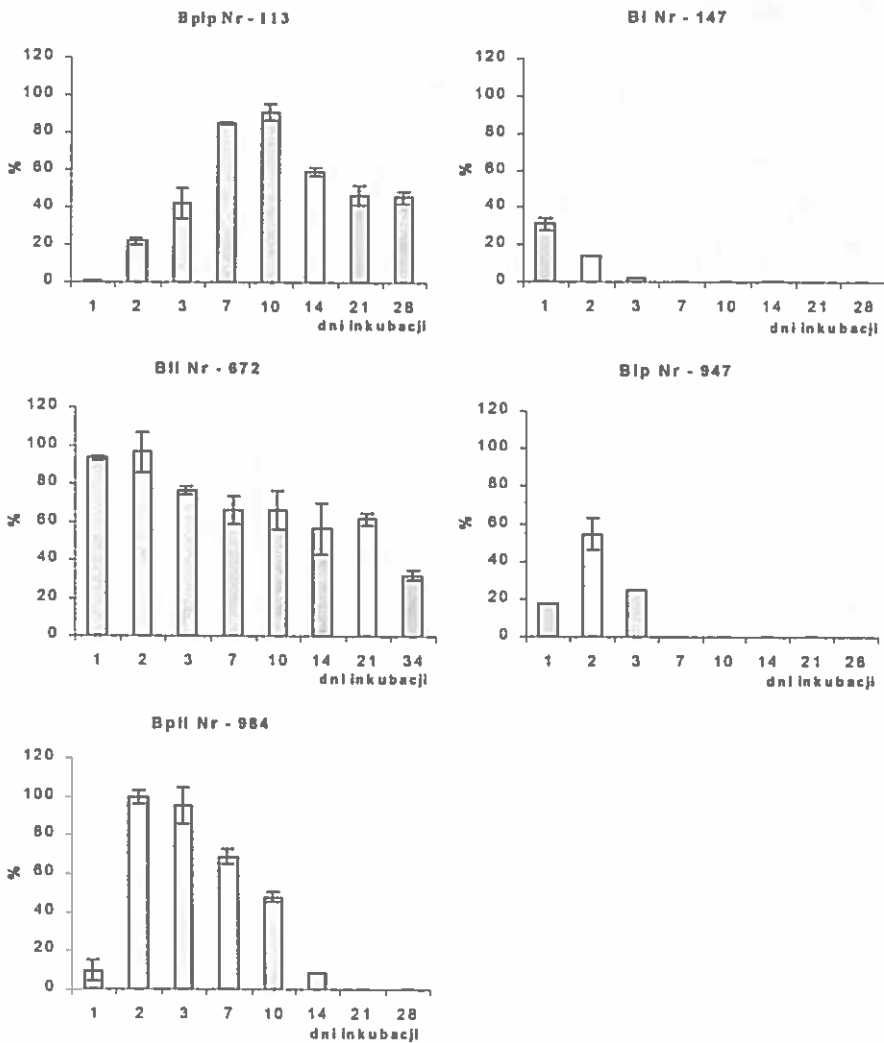
białe oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości podtlenku azotu w powietrzu nad zawiesiną glebową).



Rys. 25. Procent  $N_2O$  w ilości zredukowanych azotanów w glebach wytworzonych z glin w trakcie inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości  $N_2O$  w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 25. Per cent of  $N_2O$  in the quantity of reduced nitrate in the soils developed from loam during incubation (white posts show the maximum cumulative value of  $N_2O$  in the headspace of gas).

Jak pokazują przedstawione dane liczbowe zależność ta zmienia się w czasie i jest uwarunkowana rodzajem gleby. Nie tylko stopień rozkładu azota-



Rys. 26. Procent  $N_2O$  w ilości zredukowanych azotanów w glebach wytworzonych z ilów i pyłów w trakcie inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości  $N_2O$  w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 26. Per cent of  $N_2O$  in the quantity of reduced nitrate in the soils developed from silt during incubation (white posts show the maximum cumulative value of  $N_2O$  in the headspace of gas).

nów zależy od wartości pH wyjściowego, ale również procentowy udział frakcji  $N_2O$  w puli zredukowanych azotanów.

We wszystkich analizowanych przypadkach, za wyjątkiem gleby Nr 147-Bi, procentowy udział frakcji podtlenku azotu wzrasta w okresie doświadczalnym, aż do osiągnięcia pewnego maksimum, po czym spada do pewnego poziomu. Poziom ten dla gleb, w których ani redukcja  $NO_3^-$  ani redukcja  $N_2O$  nie obniżyły się do zera jest wyznaczony tylko do momentu określenia wyraźnej redukcji azotanów, dla pozostałych gleb kończył się najczęściej z chwilą całkowitej redukcji azotanów i podtlenku azotu. Czas, po którym gleby osiągały maksymalny % udział  $N_2O$  we frakcji zredukowanych azotanów był bardzo różny i wynosił jeden dzień dla gleby Nr 147-Bi i od 2 do 21 dni dla pozostałych gleb. Zaobserwowano, że czas ten ma związek z wyjściową wartością pH (Tabela 2). Im większy był dystans do optymalnego pH dla danej gleby, tym czas na osiągnięcie maksymalnego udziału frakcji podtlenku azotu w puli zredukowanych azotanów był dłuższy. Zjawisko to obserwowano zarówno w przypadku gleb bardzo silnie kwaśnych jak i zasadowych. W pierwszych glebach pH rosło w drugich obniżyło się. Innymi słowy, wraz ze wzrastającym pH w przypadku gleb kwaśnych i spadkiem pH w przypadku gleb zasadowych, udział frakcji podtlenku azotu wzrasta. Niskie pH jest zwykle czynnikiem hamującym, szczególnie dla ostatniego stadium redukcji podtlenku azotu do  $N_2$  (Klemedtson i Svensson 1988).

Należy również w tym miejscu zwrócić uwagę na znaczenie obecnego tlenu w naczyniach inkubacyjnych. Niższa procentowa zawartość frakcji podtlenku w stosunku do innych produktów redukcji azotanów mogła być spowodowana obecnością  $O_2$ . W warunkach niepełnej anaerobiozy mogą być blokowane enzymy szlaku dysymilacyjnego w tym również reduktazy odpowiedzialnej za redukcję azotanu do formy podtlenkowej. W początkowej więc fazie redukcji azotanów, szczególnie w powierzchniowej warstwie roztworu glebowego, graniczącego z powietrzem, mogła zachodzić redukcja asymilacyjna azotanów z udziałem mikroorganizmów. W miarę wyczerpywania się tlenu w redukcji azotanów mogły aktywniej uczestniczyć reduktazy szlaku dysymilacyjnego. Zjawisko to jest odnotowywane w literaturze. W szczególności niektóre badania dotyczące reduktaz azotanowych wykazały obecność aktywnych i nieaktywnych form w zależności od warunków oksydoredukcyjnych środowiska [156]. W warunkach redukcyjnych gleby, reduktazy przechodzą w formy nieaktywne. Regulacja syntezy tych enzy-

mów jest różna dla różnych gatunków drobnoustrojów, występują one jako enzymy konstytucyjne u niektórych gatunków lub jako represyjne u innych gatunków. Dla przykładu u *Rhizobium japonicum*, enzym szlaku asymilacyjnego jest wytwarzany w warunkach tlenowych i w obecności azotanów, podczas gdy w warunkach beztlenowych wytwarzana jest reduktaza azotanowa szlaku dysymilacyjnego [47]. Obydwa enzymy mają różny ciężar cząsteczkowy i różną wrażliwość na inhibitory [156].

Na uwagę zasługuje również procentowy udział frakcji podtlenku azotu w dniu maksymalnej jego zawartości w stosunku do rozkładanego azotanu. Procent ten jest zawsze niższy lub równy maksymalnemu udziałowi  $N_2O$  w metabolitach redukcji azotanów. Na dzień ten przypada również najczęściej wyższa wartość pH. Wydaje się więc, że w pewnym zakresie niższych wartości pH przeważa produkcja podtlenku azotu nad pozostałymi frakcjami redukcji dysymilacyjnej azotanów. Po osiągnięciu pewnego optimum, różnego dla różnych gleb, rozkład azotanów jest szybszy niż przyrastająca zawartość  $N_2O$ , chociaż w wartościach bezwzględnych ilość podtlenku zwiększa się. Wydaje się, że są to optymalne warunki dla redukcji dysymilacyjnej w tym również denitryfikacji. Tak więc osiągnięcie maksymalnej przewagi emisji nad redukcją, szybko spadający procent udziału  $N_2O$  w niektórych glebach jest spowodowany zanikaniem podtlenku azotu. Arah i Smith [6] stwierdzili w swojej pracy, że ilość emitowanego podtlenku pozostaje w ścisłej relacji do warunków w jakich zachodzą poszczególne etapy denitryfikacji. Niskie pH, wysoka zawartość azotanów, niska wilgotność i niska zawartość łatwo przyswajalnych związków organicznych, sprzyjają wydzielaniu większej ilości frakcji podtlenku azotu wśród produktów tego procesu. Wydaje się, że w przypadku przeprowadzonych badań dwa pierwsze czynniki: niskie pH i wysoka zawartość azotanów na początku inkubacji mogły mieć istotny wpływ na przebieg procesów redukcji azotanów.

Badane gleby można więc podzielić na 3 typy wg sposobu rozkładu azotanów:

1. Gleby, w których w początkowej fazie zachodzi rozkład azotanów z równoczesną produkcją  $N_2O$ . Następnie rozkład  $NO_3^-$  zachodzi równocześnie z redukcją  $N_2O$ . Do grupy tej należy większość badanych gleb w tym wszystkie wytworzone z piasku, dwie z grupy lessów (Nr 672-Bli) i pyłów (Nr 113-Bpłp) i jedna gliniasta (Nr 110-Bgs gl)

2. Druga grupa obejmuje gleby, które pierwsze dwa etapy rozkładu mają identyczne. Dochodzi jeszcze trzeci etap rozkładu  $N_2O$  po wyczerpaniu się

puli azotanów. Ponadto różnica pomiędzy drugą i pierwszą grupą gleb polega na tym, że w glebach wcześniej omawianych nie dochodzi do całkowitego rozkładu ani azotanów ani podtlenku azotu, podczas gdy gleby z tej grupy rozkładają zarówno azotan jak podtlenek azotu prawie w 100%. Do grupy tej należą trzy gleby gliniaste (Nr 328-Bgl ps, 351-Bgl i 922-Bglp:sk) i gleba pylasta Nr 984.

3. I wreszcie trzecia grupa gleb, odbiegająca nieco charakterem rozkładu  $\text{NO}_3^-$  od pozostałych badanych gleb. Różnica ta głównie polega na tym, że po okresie równoczesnego rozkładu  $\text{NO}_3^-$  i produkcji  $\text{N}_2\text{O}$ , rozkład podtlenku azotu rozpoczyna się dopiero po wyczerpaniu się puli dostępnych azotanów. Należą tu dwie gleby wytworzone z ilów (Nr 147-Bi i 947-Bip) i jedna gleba wytworzona z gliny (Nr 951-Bgcp sk).

**Tabela 10.** Maksymalne zakresy procentowego udziału frakcji  $\text{N}_2\text{O}$  w całkowitej redukcji  $\text{NO}_3^-$  z dnia ich najwyższego % udziału w puli zredukowanych azotanów ( $\text{max}_1$  w %) i dnia maksymalnej kumulatywnej zawartości  $\text{N}_2\text{O}$  ( $\text{max}_2$  w %) oraz zakres czasu opisywanych wartości maksymalnych (w dniach)

**Table 10.** Maximal ranges of percentage  $\text{N}_2\text{O}$  in the total reduction of  $\text{NO}_3^-$  in the day of highest percentage participation of  $\text{N}_2\text{O}$  in the pool of reduced nitrate ( $\text{max}_1$  in %) and in the day of the highest cumulative content of  $\text{N}_2\text{O}$  in the headspace of gas ( $\text{max}_2$  in %) and the range time of described values (days)

Rodzaj gleby	$\text{max}_1$ (%)	$\text{max}_2$ (%)	$\text{max}_1$ (dni)	$\text{max}_2$ (dni)
Gleby brunatne wytworzone z piasków	42,7 (Nr 342)* do 76,0 (Nr 224)*	42,7 (Nr 342)* do 61,1 (Nr 224)*	2 do 21	3 do 21
Gleby brunatne wytworzone z glin	54,9 (Nr 351) do 90,3 (Nr 922)	33,9 (Nr 351) do 69,8 (Nr 922)	2 do 10	2 do 21
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	31,1 (Nr 147) do 99,6 (Nr 984)	13,9 (Nr 147) do 68,9 (Nr 984)	1 do 10	2 do 21

\* w nawiasach podano numery gleb, które wyznaczają zakresy opisywanej zależności.

Przytoczone w Tabeli 10 dane wskazują, że najmniej zróżnicowane pod względem procentowego udziału podtlenku azotu w całkowitej redukcji azotanów, są gleby wytworzone z piasków. Procent zawartości  $\text{N}_2\text{O}$  w całości zredukowanych azotanów jest w tych glebach najniższy a przyrost jego najpowszechniejszy. Najbardziej zróżnicowaną grupą pod tym względem były gleby wytworzone z ilów i pyłów. W dwóch ostatnich rodzajach gleb znacznie krótszy jest również czas, po którym udział podtlenku azotu w puli

rozłożonych azotanów jest największy (Tabela 10 – max<sub>1</sub>-dni). Natomiast czas po których gleby osiągają swoją maksymalną kumulatywną emisję N<sub>2</sub>O, nie różnicuje analizowanych gleb (Tabela 10 – max<sub>2</sub>-dni).

Firestone i Tiedje [56] wykazali, że w okresie pomiędzy 16 a 33 godziną po osiągnięciu stanu beztlenowego, 40-90% produktów gazowych denitryfikacji stanowi podtlenek azotu. Początkowa produkcja reduktazy azotanowej jest stymulowana i enzym jest produkowany szybciej aniżeli reduktaza podtlenkowa. A zatem, N<sub>2</sub>O kumuluje się i może uwalniać się do atmosfery.

Letey i wsp. [90] sugerują, że w warunkach beztlenowych reduktazy azotanowe rozwijają się szybko, podczas gdy reduktaza podtlenkowa rozwija się wolniej. Niska koncentracja azotanów wynosząca 5 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N·kg<sup>-1</sup> może również stymulować tworzenie i aktywność reduktazy podtlenkowej [21, 150].

Analiza wyników niniejszych badań pozwala na sformułowanie pewnych prawidłowości dotyczących denitryfikacji azotanów.

Po pierwsze w zdecydowanej większości analizowanych gleb % zawartość N<sub>2</sub>O w puli zredukowanych azotanów wzrasta w miarę upływu czasu. Czynniki, które w warunkach przeprowadzonych badań decydowały o tym zjawisku jest odczyn środowiska, rodzaj gleby, stopień natlenienia i skład gatunkowy drobnoustrojów.

Po wtóre, procentowy udział frakcji podtlenku azotu w odniesieniu do ilości zredukowanych azotanów, swoje maksimum osiąga zawsze przed dniem najwyższej kumulatywnej ilości N<sub>2</sub>O, po którym następują jego dalsze przemiany. Wydaje się, że w przypadku tych gleb, gdzie redukcja azotanów zatrzymuje się na pewnym poziomie, gromadzący się podtlenek azotu wpływa hamująco na proces dalszej denitryfikacji azotanów. Nie wykluczone, że od tego momentu rozpoczyna się powolna redukcja podtlenku azotu, niemożliwa do zauważenia, ponieważ powstawanie N<sub>2</sub>O w tym czasie jeszcze przeważa nad jego redukcją. Należy tu nawiązać do wyników Van Cleemputa i wsp. [170] według których tempo denitryfikacji może być obniżone, jeśli ilość N<sub>2</sub>O w glebie wzrośnie w tym czasie do wysokiego poziomu.

Po trzecie, N<sub>2</sub>O jest preferowany przez wiele bakterii jako akceptor elektronów, czasami nawet przy bardzo wysokim poziomie azotanów. Wydaje się, że gleby osiągają pewien stan równowagi w redukcji azotanów i produkcji podtlenku azotu zdeterminowany głównie przez rodzaj gleby i warunki doświadczenia. Preferencja wykorzystywania N<sub>2</sub>O przy wysokim cza-

sami poziomie zawartości  $\text{NO}_3^-$ , może wynikać z różnic kinetyki reakcji związków o różnym stopniu utlenienia.

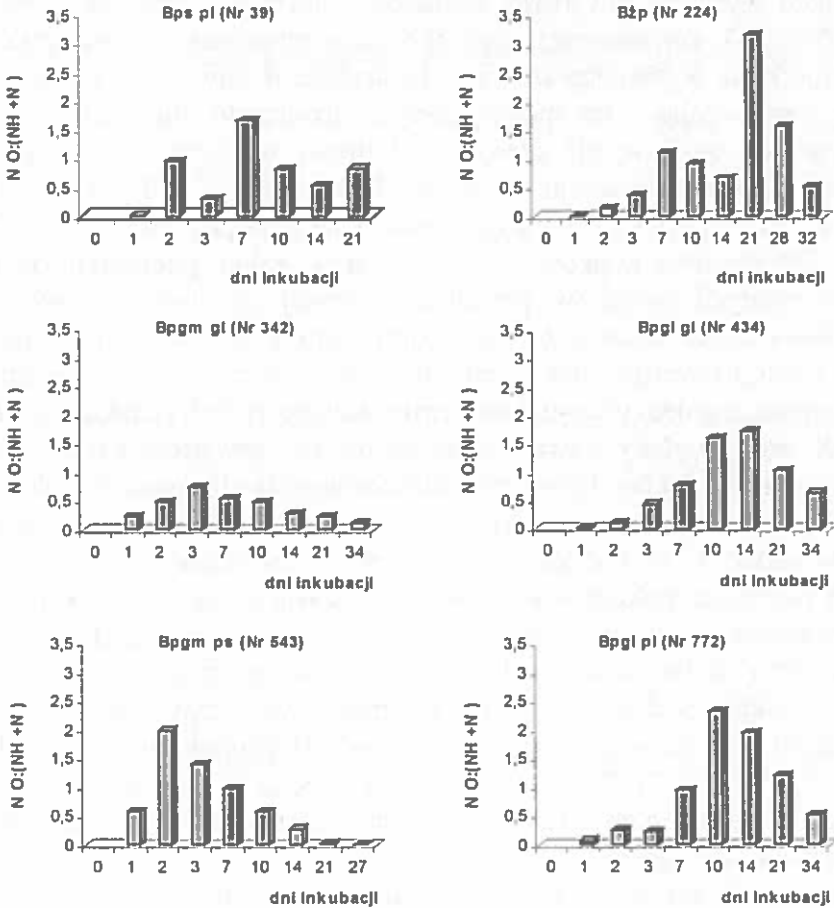
Zdaniem Leteya i wsp. [92]] redukcja  $\text{N}_2\text{O}$  zachodzi nawet w obecności stosunkowo wysokiej zawartości azotanów i może być szybsza aniżeli redukcja  $\text{NO}_3^-$ . W konsekwencji tego  $\text{N}_2\text{O}$  nagromadzony w powietrzu glebowym podczas wczesnego stadium denitryfikacji, może być redukowany później, zapobiegając w ten sposób jego przenikaniu do atmosfery.

Po czwarte, zmianie pH gleby w kierunku zobojętnienia towarzyszy zmiana procentowego udziału frakcji podtlenku azotu w puli redukowanych azotanów, jak to potwierdzają wyniki naszych badań przedstawione na Rys. 27, 28 i 29. Rysunki te przedstawiają stosunek frakcji podtlenku azotu do sumy pozostałych związków; produktów redukcji azotanów. Założono, że jest to suma azotu cząsteczkowego i formy amonowej, która może pochodzić z redukcji asymilacyjnej i dysymilacyjnej. Wielu autorów dopatrzyło się zależności pomiędzy stosunkiem emitowanego  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  a takimi parametrami jak: odczyn gleby, zawartość azotanów czy zawartość tlenu. Analiza wyników naszych badań dotyczyła kształtowania się stosunku  $\text{N}_2\text{O}$  do sumy frakcji  $\text{N}_2$  i formy amonowej. Analiza ta potwierdza słuszność wcześniejszego wniosku, że w początkowym okresie doświadczenia rozpatrywany stosunek rośnie, co wskazuje na dużą w tym czasie szybkość redukcji azotanów. Przemiany biochemiczne startowały w warunkach niepełnej anaerobiozy a zatem istniały warunki dla redukcji asymilacyjnej, stąd niski % zawartości frakcji podtlenku azotu. W miarę wyczerpywania się tlenu w powietrzu nad zalaną glebą, wzrastał udział produktów denitryfikacji w szczególności zaś  $\text{N}_2\text{O}$ . Po osiągnięciu pewnego maksimum charakterystycznego dla danej gleby, stosunek ten maleje, między innymi z powodu zmniejszającej się ilości  $\text{O}_2$ .

Wiele dotychczasowych prac wskazuje, że redukcja  $\text{N}_2\text{O}$  do  $\text{N}_2$  jest w większym stopniu podatna na inhibicję przez tlen niż redukcja  $\text{NO}_3^-$  do  $\text{N}_2\text{O}$  a zatem stosunek  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  maleje wraz ze obniżaniem się koncentracji  $\text{O}_2$ . Obecność więc  $\text{O}_2$  obniża aktywność i opóźnia syntezę reduktazy podtlenkowej w stosunku do reduktaz azotanowej i azotynowej, tak więc stosunek  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  wzrasta wraz ze wzrostem ilości  $\text{O}_2$  [59, 148, 57,18, 149, 53, 164, 31, 97].

W warunkach wysycenia gleby wodą lub w warunkach w pełni beztlenowych (tj. w źle odwadnianych glebach i w osadach)  $\text{N}_2$  jest uważany za główny produkt denitryfikacji [106, 47].

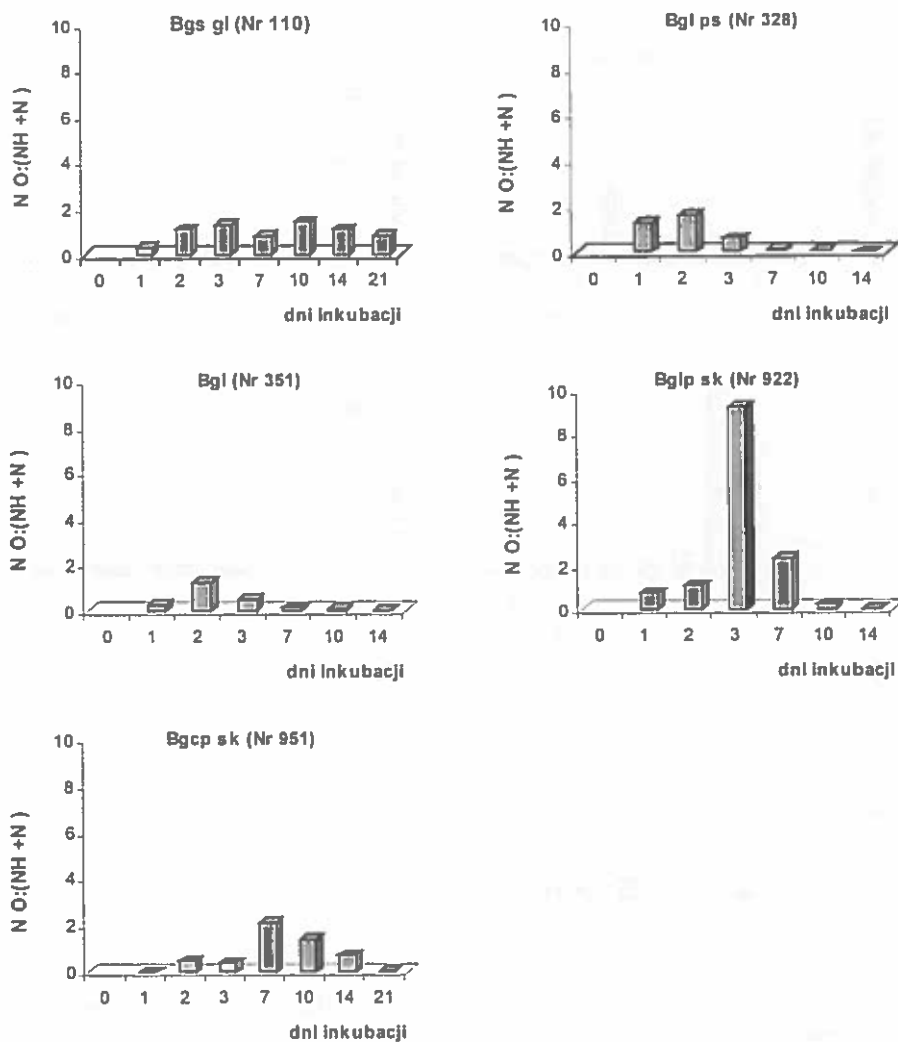
Stosunek  $N_2O:N_2$  zwykle maleje wraz ze wzrostem zawartości wody i ma tendencje do wysokich wartości kiedy tempo denitryfikacji jest niskie [107, 128, 130, 160, 9, 142, 174].



Rys. 27. Stosunek wagowy wyemitowanego  $N_2O$  do  $(NH_4^+ + N_2)$  w glebach wytworzonych z piasków.

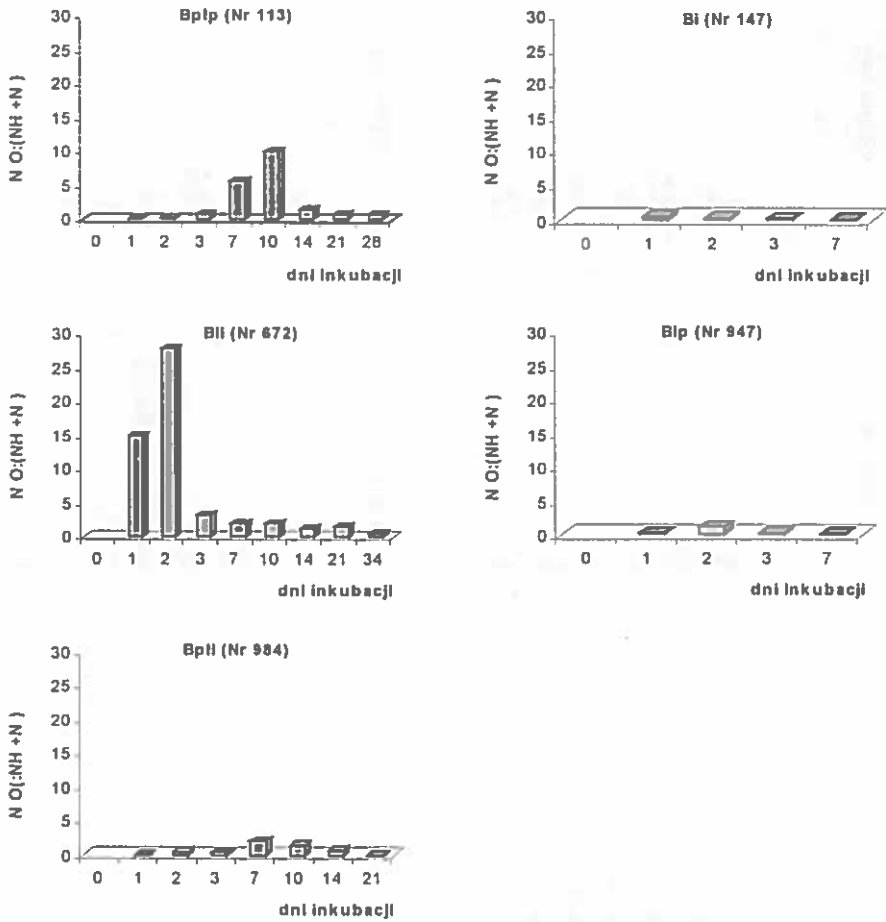
Fig. 27. Weight ratio of  $N_2O$  emitted to  $(NH_4^+ + N_2)$  in the soils developed from sand.





Rys. 28. Stosunek wagowy wyemitowanego  $N_2O$  do  $(NH_4^+ + N_2)$  w glebach wytworzonych z glin.

Fig. 28. Weight ratio of  $N_2O$  emitted to  $(NH_4^+ + N_2)$  in the soils developed from loam.



Rys. 29. Stosunek wagowy wyemitowanego  $N_2O$  do  $(NH_4^+ + N_2)$  w glebach wytworzonych z ilów i pyłów.

Fig. 29. Weight ratio of  $N_2O$  emitted to  $(NH_4^+ + N_2)$  in the soils developed from silt.

Tabela 11 przedstawia maksymalne wartości stosunku  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$  ( $max_1$ ) oraz wartość tego stosunku z dnia maksymalnej kumulatywnej zawartości  $N_2O$  ( $max_2$ ) dla poszczególnych gleb, jak również wartości ich pH.

**Tabela 11.** Maksymalne wartości stosunku  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$  ( $max_1$ ) oraz z dnia maksymalnej kumulatywnej zawartości  $N_2O$  ( $max_2$ ) dla poszczególnych gleb, jak również wartości pH dla wyliczonego stosunku

**Table 11.** Maximal values of the ratio  $N_2O:(N_2 + NH_4^+)$  ( $max_1$ ) and from the day of the highest cumulative content of  $N_2O$  in the headspace of gas ( $max_2$ ) in the individual soils and pH values for the calculated ratios

Rodzaj gleby	Nr gleby	Stosunek $N_2O/N_2+NH_4^+$ ( $max_1$ )	Stosunek $N_2O/N_2+NH_4^+$ ( $max_2$ )	pH ( $max_1$ )	pH ( $max_2$ )
Gleby brunatne wytworzone z piasków	39 Bps pl	1,66 (7)*	0,83 (21)*	4.83	4.78
	224 Bżp	3,17 (21)	1,56 (28)	6.04	6.2
	342 Bpgm gl	0,74 (3)	0,74 (3)	6.55	6.55
	434 Bppl pl	1,72 (14)	1,04 (21)	5.29	5.23
	543Bpgm ps	1,92 (2)	0,97 (7)	5.08	5.53
	772Bppl pl	2,31 (10)	1,20 (21)	3.83	4.58
Gleby brunatne wytworzone z glin	110 Bgs gl	1,40 (10)	0,81 (21)	4.6	4.97
	328 Bgl ps	1,59 (2)	1,59 (2)	7.27	7.27
	351 Bgl	1,22 (2)	0,51 (3)	6.67	5.72
	922 Bglp sk	9,25 (3)	2,31 (7)	4.07	4.64
	951 Bgcp sk	2,13 (7)	0,74 (14)	4.33	5.01
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	113 Bplp	10,14 (10)	1,46 (14)	4.59	4.88
	147 Bi	0,45 (1)	0,16 (2)	5.9	6.29
	672 Bli	27,94 (2)	1,6 (21)	5.17	5.53
	947 Bip	1,21 (2)	1,21 (2)	5.56	5.56
	984 Bpli	363,52 (2)	2,21 (7)	4.79	4.96

\* w nawiasach zamieszczono liczbę dni, po których zanotowano analizowane wartości.

Badane gleby charakteryzują się szerokim stosunkiem frakcji podtlenu azotu do pozostałych produktów redukcji azotanów. Zakres ten waha się od 0,45 do 28. Tylko dwie gleby spośród badanych 16, nie osiągają wartości większej od 1, jest to gleba Nr 147 wytworzona z łu o pH wyjściowym 6,7 i gleba Nr 342 wytworzona z gliny o pH wyjściowym 7,35. Natomiast pozostałe gleby przekroczyły wartość 1. Szeroki jest również zakres czasowy, po którym w glebach odnotowano maksymalny ( $max_1$ ) stosunek  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$ , który wynosi od 1 do 21 dni. Jednakże większość gleb (11) osiąga maksymalną wartość tego stosunku do 7 dni. Biorąc za podstawę podziału badanych gleb skalę macierzystą, można wśród nich wyróżnić trzy zakresy wartości stosunku  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$ , dla gleb wytworzonych z piasków zakres ten wynosi od 0,75 do 3,2, dla gleb wytworzonych z glin od 1,2 do 9,25 i dla gleb wytworzonych z ilów i pyłów od 0,5 do 28. Relacje te

wyraźnie zmieniają się w odniesieniu do dni, w których stwierdzono maksymalną zawartość  $N_2O$ . W siedmiu glebach stosunek ten wynosi poniżej jedności a dla wszystkich gleb - od 0,2 do 2,3. Zmniejszają się też wyraźnie różnice pomiędzy poszczególnymi skałami macierzystymi i wynoszą odpowiednio dla piasków, glin i pyłów: 0,7 do 1,6; 0,5 do 2,3; i 0,2 do 2,2. Na ogół można stwierdzić, że maksymalny stosunek  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$  zależał od pH badanej gleby i jej rodzaju. Rozpatrując zależność omawianego stosunku od wartości pH gleby w poszczególnych grupach skał macierzystych stwierdzono, że wyższej wartości pH towarzyszył niższy stosunek  $N_2O:N_2+NH_4^+$  i odwrotnie. Ponadto w zdecydowanej większości analizowanych przypadków, wzrost wartości pH pociągnął za sobą spadek stosunku  $N_2O:N_2+NH_4^+$ . Wydaje się, że udokumentowany wieloma pracami wpływ pH na stosunek  $N_2O:N_2$ , ma swoje zastosowanie również dla połączonej frakcji  $N_2+NH_4^+$ . Można więc stwierdzić, że stosunek  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$  daje pełniejszy obraz przemian jakie towarzyszą wprowadzonym do gleby azotanom, niż analizowanie tylko stosunku  $N_2O:N_2$ .

Proces redukcji dysymilacyjnej  $NO_3^-$  do  $NH_4^+$  może zachodzić w takich samych warunkach jak denitryfikacja i wtedy stanowi konkurencję w wykorzystaniu  $NO_3^-$  [161]. Drobnoustroje te i ich enzymy mają również zdolność oddychania na drodze fermentacji i dlatego są zdolne do wzrostu w środowisku bez obecnych azotanów w warunkach beztlenowych, podczas gdy większość denitryfikatorów nie posiada zdolności do fermentacji, dlatego nie należy spodziewać się ich przetrwania podczas nieobecności tlenków azotu w warunkach beztlenowych. W redukcji dysymilacyjnej azotany spełniają rolę akceptorów elektronów a przemiany energetyczne zwykle zachodzą obydwoma drogami przepływu elektronów, dlatego zanikanie azotanów lub azotynów w glebie prowadzi nie tylko do produkcji  $N_2O$  lub  $N_2$  ale także do produkcji  $NH_4^+$  [162].

Wielu autorów podkreśla, że w warunkach obniżającego się pH wzrasta stosunek  $N_2O:N_2$  [20, 37, 58, 129, 83, 84, 111, 119]. Jednym z tłumaczeń wzrostu stosunku  $N_2O:N_2$  w warunkach zakwaszenia jest inhibicja reduktazy podtlenkowej przez niskie pH [0, 55].

Focht [59] stwierdził połączony wpływ pH i aeracji na ilość wydzielanego z gleby podtlenku azotu. Wg tego autora przy pH 6,0 i 8,0 wydzielanie  $N_2O$  wzrasta, gdy frakcja natlenionych porów wynosi maksymalnie 12% przestrzeni porów wypełnionych powietrzem. Przy wyższym natlenieniu

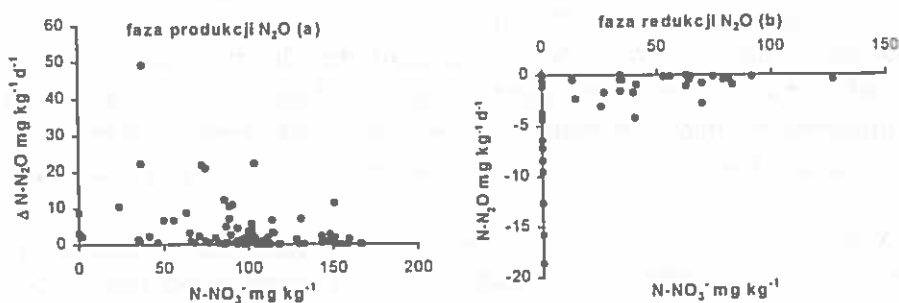
wydzielanie  $N_2O$  szybko spada. Przy pH 4,35 wydzielanie  $N_2O$  maleje wraz ze wzrostem natlenienia w całym zakresie frakcji porów natlenionych.

Firestone i wsp. [57] wykazali, że wpływ  $NO_3^-$  na stosunek  $N_2O:N_2$  zależy od pH. Dodatek  $10 \text{ mg } NO_3^- \cdot N \cdot \text{kg}^{-1}$  dawał stosunek  $N_2O:N_2$  równy 4 przy pH 4,9 i 0,2 przy pH 6,5. Podobne wyniki uzyskali inni autorzy [20, 41, 65].

W przeprowadzonych badaniach nie można pominąć wpływu  $NO_3^-$  na analizowany stosunek  $N_2O : (N_2+NH_4^+)$ .

Biorąc pod uwagę fakt, że stosunek  $N_2O : (N_2+NH_4^+)$  w początkowej fazie doświadczenia wyraźnie wskazuje na przewagę frakcji  $N_2+NH_4^+$  nad frakcją  $N_2O$ , czemu towarzyszy wysoka koncentracja azotanów, można sądzić, że wywiera ona ujemny wpływ na redukcję  $N_2O$  do  $N_2$  (Rys.27-29). W miarę wyczerpywania się azotanów obserwowano również spadek analizowanego stosunku.

Analiza dobowej produkcji podtlenku azotu w zależności od aktualnej zawartości azotanu potwierdza hamujący wpływ  $NO_3^-$  na redukcję  $N_2O$  do  $N_2$ . Przedstawione dane na Rys. 30a wskazują, że dobowa dynamika emisji  $N_2O$  znacznie wzrosła przy zawartości azotanów poniżej  $100 \text{ mg N-N}_2O \text{ kg}^{-1}$ . Na podkreślenie zasługuje również fakt, że redukcja podtlenku azotu zachodziła w szerokim zakresie zawartości azotanów, również od zawartości azotanów poniżej  $100 \text{ mg N-N}_2O \text{ kg}^{-1}$  (Rys. 30b).



Rys. 30. Dobowy przyrost  $N_2O$  w funkcji aktualnego stężenia  $NO_3^-$  (a) oraz dobowy ubytek  $N_2O$  (b) w funkcji aktualnego stężenia  $NO_3^-$ .

Fig. 30. Daily increase of  $N_2O$  as a function of an actual concentration of  $NO_3^-$  (a) and daily decrease of  $N_2O$  as a function of an actual concentration of  $NO_3^-$  (b).

Wpływ  $NO_3^-$  na procesy redoks zależy od wielu czynników takich jak: pH, zawartość tlenu, typ gleby, zawartość wody. W warunkach intensywnych procesów redukcyjnych gleby (np. zalania gleby organicznej) hamują-

cy wpływ  $\text{NO}_3^-$  na redukcję  $\text{N}_2\text{O}$  silnie maleje lub zanika z powodu wzrostu zapotrzebowania na akceptory elektronów [159, 160, 9, 33].

Wiele danych literaturowych wskazuje, że jon  $\text{NO}_3^-$  hamuje lub opóźnia redukcję  $\text{N}_2\text{O}$  do  $\text{N}_2$  [20, 42]. W efekcie tego stosunek  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  wyraźnie wzrasta wraz ze wzrostem zawartości azotanów [20, 33, 41, 128, 57, 159, 9, 53, 171, 43, 87].

Zawartość azotanów w przedziale od 10 do 30  $\text{mg NO}_3^- \cdot \text{N} \cdot \text{kg}^{-1}$  jest zwykle wystarczająca do opóźniania redukcji  $\text{N}_2\text{O}$  do  $\text{N}_2$ . Jest to górny zakres powszechnie spotykanej zawartości azotanów w warstwie ornej, ale może być on wyższy lokalnie po zastosowaniu nawozów lub podczas jesieni w czasie rozkładu w glebach resztek poźniwnych. Ponieważ pobieranie  $\text{NO}_3^-$  postępuje w glebie nieprzerwanie podczas denitryfikacji, przez rośliny i drobnoustroje, zawartość azotanów obniża się i zmniejsza się również stosunek  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  [131].

Niska koncentracja  $\text{NO}_3^-$  opóźnia redukcję  $\text{N}_2\text{O}$  do  $\text{N}_2$  na drodze mikrobiologicznej, natomiast wysoka koncentracja zupełnie hamuje ten proces. Hamujący wpływ  $\text{NO}_3^-$  na redukcję  $\text{N}_2\text{O}$  istotnie zwiększa się wraz z obniżeniem się pH gleby [34].

Wzrost koncentracji  $\text{NO}_3^-$  w glebie lub osadach prowadzi do wzrostu stosunku  $\text{N}_2\text{O}:\text{N}_2$  w produktach gazowych. Przypisuje się to inhibicji reduktazy podtlenkowej przez  $\text{NO}_3^-$  [20, 56, 159, 177] i jak już wspomniano wcześniej efekt ten wzmacnia się przy niskim pH.

Nie jest jasne, czy wpływ  $\text{NO}_3^-$  na ostatni etap denitryfikacji – do  $\text{N}_2$  jest spowodowany rzeczywiście inhibicją redukcji  $\text{N}_2\text{O}$ , czy dlatego, że  $\text{NO}_3^-$  jest preferowany przez drobnoustroje jako akceptor elektronów bardziej niż  $\text{N}_2\text{O}$  podczas denitryfikacji lub może dlatego, że obydwa te procesy zachodzą równocześnie [41].

Wydaje się, że różnorodność drobnoustrojów, jak i środowisko ich przebywania, jest tak złożone, że emisja podtlenku azotu, która jest przedmiotem naszych badań, stanowi wypadkową, również i tych czynników, których nie uwzględniono przy ich rozpatrywaniu. Dorobek w obrębie omawianego zagadnienia potwierdza tę sugestię, że na kierunek i tempo denitryfikacji wpływają również inne czynniki i jeśli jeden z tych czynników jest limitujący, to proces denitryfikacji przebiega raczej niezależnie od zawartości azotanów [33, 42, 8, 87].

Na ogół nie obserwuje się wzrostu tempa denitryfikacji spowodowanego wzrostem zawartości azotanów jeśli gleba jest uboga w węgiel organiczny [95, 99, 112].

#### *3.2.4. Denitryfikacja w zależności od wartości pH gleb*

Jednym z czynników istotnie wpływających na proces redukcji azotanów w tym również na proces denitryfikacji i emisji  $N_2O$ , jest niewątpliwie pH. W pracy tej poświęcono już wiele uwagi wpływowi odczynu gleby na wydzielanie gazu szklarniowego jakim jest podtlenek azotu przy okazji omawiania wpływu potencjału redoks na badane procesy i w kontekście stosunku poszczególnych gazów, produktów redukcji dysymilacyjnej azotanów. Rozdział ten będzie próbą znalezienia zależności pomiędzy wartością pH i wielkością emisji  $N_2O$ .

Na podstawie średniej wartości pH badanych gleb w przekroju całego doświadczenia, można wyróżnić trzy zasadnicze zakresy odczynu gleb, różniące się istotnie pomiędzy sobą, choć w ramach tych zakresów znajdują się również gleby wykazujące istotne różnice w wartości pH.

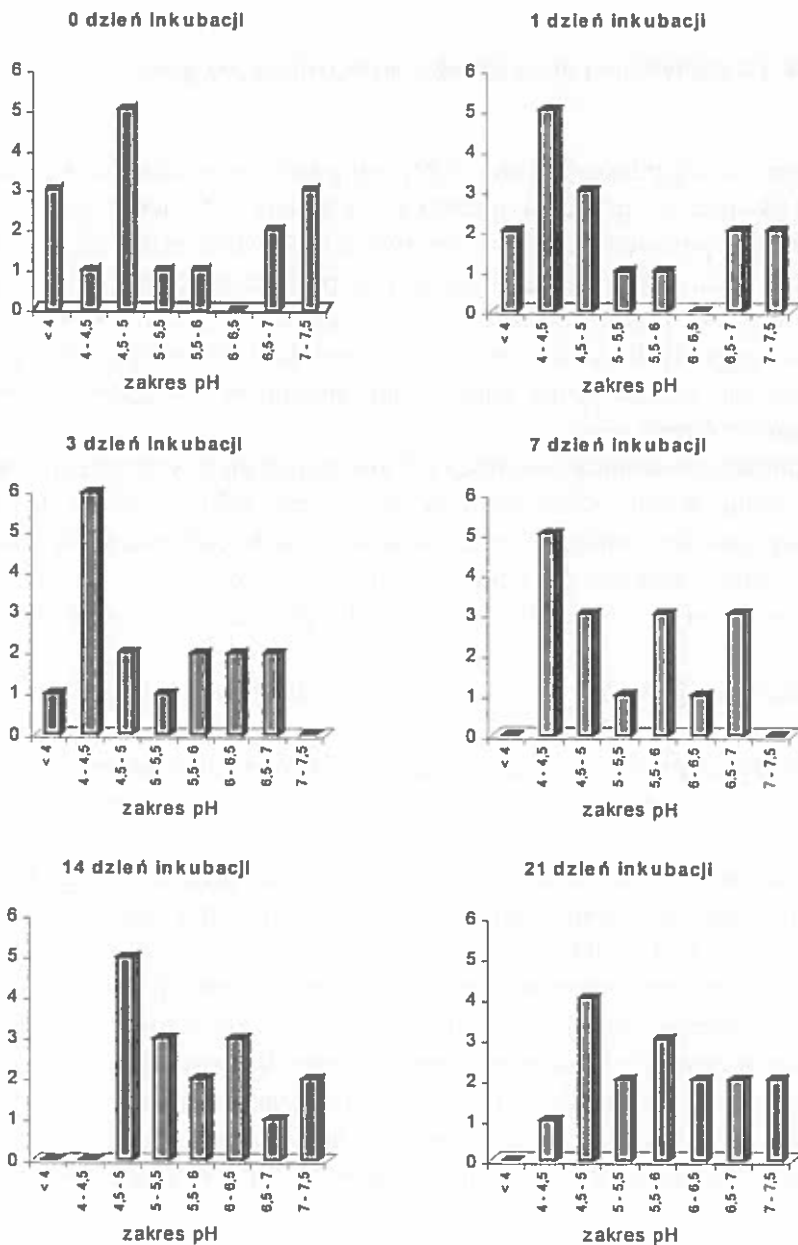
I zakres o pH 4 - 5; obejmujący 3 gleby piaszczyste, 3 gliniaste i 1 pyłową,

II zakres o pH 5 - 6; z przewagą gleb pylasto-ilastych w liczbie 3 i 1 gleba piaszczysta,

III zakres o pH 6 - 7; bez widocznej przewagi którejkolwiek ze skał macierzystych. W grupie tej znalazły się 2 gleby piaszczyste, 2 gliniaste i 1 ilasta.

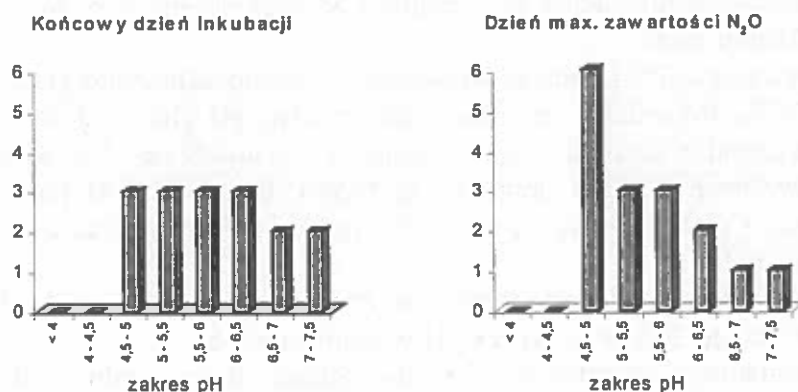
Jak widać, wśród badanych gleb wyraźnie przeważają gleby kwaśne i lekko kwaśne nad obojętnymi, mimo warunków anaerobiozy, na co wpływ miało bardzo niskie pH wyjściowe niektórych gleb. Rysunki 31a i b przedstawiają histogram wartości pH w badanych glebach w poszczególnych dniach inkubacji oraz dodatkowo – w dniu maksymalnej zawartości  $N_2O$ . Wartości te przyjęto według pH optymalnego dla poszczególnych grup gleb. Zgodnie z danymi przedstawionymi w histogramie można stwierdzić, że do siódmego dnia inkubacji większość gleb znalazła się w zakresie pH od 4 do 4,5. Pomiędzy siódmym i 21 dniem zakres ten przesunął się z 4,5 do 5.

W końcowej fazie doświadczenia nastąpiła wyraźna równowaga liczby gleb dla poszczególnych zakresów od 4,5 do 7,5, z lekką przewagą gleb piaszczystych w grupie od 4,5 do 5,5.



Rys. 31a. Histogram pH w glebach w poszczególnych dniach inkubacji.  
Fig. 31a. Histogram of pH in soils in the individual days of incubation.

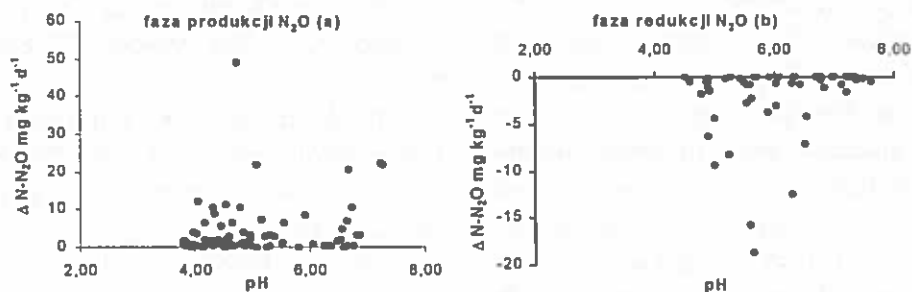




Rys. 31b. Histogram pH w glebach w końcowym dniu inkubacji i w dniu maksymalnej kumulatywnej emisji N<sub>2</sub>O.

Fig. 31b. Histogram of pH in soils in the final days of incubation and in the day of the highest cumulative content of N<sub>2</sub>O in the headspace of gas.

Analiza danych z dnia maksymalnej zawartości podtlenku azotu wskazuje, że optimum wydzielania N<sub>2</sub>O w badanych glebach zachodzi w bardzo szerokim zakresie pH od 4,5 do 7,27, z przewagą gleb w zakresie pH 4,5 do 5 w dalszej kolejności w zakresie pH od 5 do 6.



Rys. 32. Dobowy przyrost N<sub>2</sub>O w funkcji pH (a) oraz dobowy ubytek N<sub>2</sub>O (b) w funkcji pH.

Fig. 32. Daily increase of N<sub>2</sub>O as a function of pH (a) and daily decrease of N<sub>2</sub>O as a function of pH (b).

Ogólnie można powiedzieć, że w badanych glebach maksymalna produkcja podtlenku azotu zachodzi w zakresie pH przypisywanego glebom kwaśnym i lekko kwaśnym, redukcja zaś w zakresie odczynu lekko kwaśnego i obojętnego. Potwierdzają to dane przedstawione na Rys. 32a,b, odzwierciedla-

jące dobową denitryfikację w zależności od wartości pH oraz proces redukcji podtlenku azotu.

Stępniewska [155] badając właściwości oksydoredukcyjne gleb mineralnych Polski stwierdziła, że maksymalne zmiany pH gleby zależały od wartości odczynu w stanie pełnego natlenienia i wynosiły do +1,6 jednostki dla gleb kwaśnych o pH 5 oraz -0,5 jednostki dla gleb o pH powyżej 7,5. W jednej z gleb kwaśnych o pH 5,47 wartość pH po 40 dniowej redukcji wynosiła 6,76.

Jones [77] notował stratę azotanów (znakowanych  $^{15}\text{N}$ ) w glebach gliniastych w postaci  $\text{N}_2$ , do 80% przy pH w granicach 4-6.

W badaniach Broadbenta [35] największe straty azotu azotanowego w piaskach gliniastych wzbogacanych w substancję organiczną, stwierdzono przy pH 6,3.

Payne [120] stwierdził, że denitryfikacja zwykle zachodzi przy pH 7,5 z przewagą wydzielania podtlenku azotu nad emisją  $\text{N}_2$  przez okres 3-4 dni.

Wg tego autora [120] z gleb pylastych po zastosowaniu azotynów szybko uwalniały się przez kilka dni: tlenek i podtlenek azotu przy pH 5, podczas gdy przy pH 7 lub 8,3 początkowym produktem był  $\text{N}_2\text{O}$  a głównym produktem był  $\text{N}_2$ .

W warunkach kiedy ilość  $\text{NO}_3^-$  nie ogranicza nasilenia denitryfikacji potencjalnej, tempo zarówno denitryfikacji jak i nitryfikacji obniża się wraz ze spadkiem pH, z optimum denitryfikacji około 7,5 [109]. Spadek pH zachodzi szczególnie przy stosowaniu mocznika.

Jak wynika z Tabeli 12 wydzielanie podtlenku azotu lepiej koreluje z pH w zakresie jego niższych wartości (lewa strona równań). Najwyższym współczynnikiem korelacji charakteryzują się gleby wytworzone z ilów i pyłów. Nieco słabszą zależność wykazują gleby wytworzone z piasków i glin. Warunki przeprowadzonych badań dały możliwość prześledzenia nie tylko wpływu pH na emisję podtlenku azotu, ale również na proces jego redukcji. W zawiązku z tym, interesujące wydawało się prześledzenie tej zależności dla wyników dotyczących tylko emisji i osobno dla redukcji podtlenku azotu.

**Tabela 12.** Współczynnik korelacji ( $r$ ) pomiędzy kumulatywną zawartością podtlenku azotu ( $\text{mg N-N}_2\text{O kg}^{-1}$ ) i wartością pH

**Table 12.** Values for the correlation coefficient ( $r$ ) obtained between the highest cumulative content of  $\text{N}_2\text{O}$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) in the headspace of gas nitrate content and pH

Rodzaj gleby	Funkcja	Współczynnik korelacji
Wszystkie gleby razem	$y_L = -19,2 + 7,4x$ $y_P = 42,3 - 4,5x$	$r_L = 0,8612^*$ $r_P = -0,586$
Gleby brunatne wytworzone z piasków	$y_L = -18,1 + 6,3x$ $y_P = 26,2 - 2,3x$	$r_L = 0,8555^{**}$ $r_P = -0,607^*$
Gleby brunatne wytworzone z glin	$y_L = -42,6 + 13,5x$ $y_P = 92,6 - 11,9x$	$r_L = 0,7081^*$ $r_P = -0,7677^{**}$
Gleby brunatne wytworzone z ilów i pyłów	$y_L = -42,9 + 12,7x$ $y_P = \exp(19,8 - 2,9x)$	$r_L = 0,8921^{***}$ $r_P = -0,8659^{**}$

\* istotne przy poziomie 0,05.

\*\* istotne przy poziomie 0,01.

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

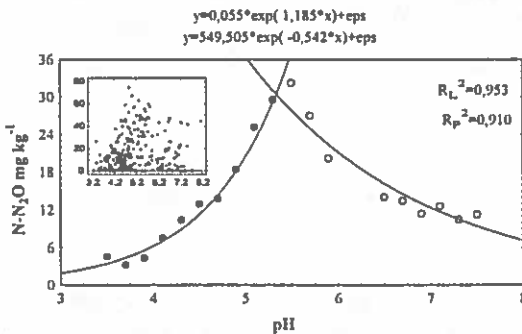
$L^*$  lewa strona wykresu.  $P^*$  prawa strona wykresu.

Analiza statystyczna zawartości  $\text{N}_2\text{O}$  w fazie emisji i pochłaniania ujawniła dwie różniące się funkcje. Na Rys. 33 przedstawiono analizowaną zależność

dla emisji  $\text{N}_2\text{O}$ , w której zaznacza się zakres optymalnego pH.

Zależność tę najlepiej opisują dwie funkcje wykładnicze, o współczynniku determinacji  $R^2 = 0,953$  i  $0,910$ . Natomiast wpływ pH na proces redukcji podtlenku azotu lepiej ilustruje jego dobowy ubytek (Rys. 32b) gdzie wyraźnie zaznaczyła się wartość optymalna pH dla maksymalnej redukcji  $\text{N}_2\text{O}$  w badanych glebach.

Jak widać z przytoczonych danych statystycznych wydzielanie  $\text{N}_2\text{O}$  jest istotnie



**Rys. 33.** Równowagowa ilość  $\text{N}_2\text{O}$  w fazie emisji w powietrzu nad zawiesiną glebową w funkcji pH (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb.

**Fig. 33.** Equilibrium content of  $\text{N}_2\text{O}$  in the phase of emission in the headspace of gas as a function of pH values ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils.

skorelowane z pH badanych gleb. Przy wysokim współczynniku korelacji należy założyć, że pH wywiera istotny wpływ na wszystkie szlaki biochemicznej redukcji azotanów w tym również na proces denitryfikacji. Jest to proces dynamiczny i zmienia się w czasie wraz ze zmieniającymi się warunkami inkubacji, które stanowią wypadkową przemian biochemicznych, zachodzących w warunkach obniżonego potencjału redoks.

Zdaniem Nägele i Conrada [111] istnieje możliwość, że wszystkie enzymy na ogół są wrażliwe na zmiany pH, prowadzące do modyfikacji tempa produkcji i emisji  $N_2O$ .

Na ogół wpływ pH na powstawanie  $N_2O$  trudno jest przypisać jakiemuś szczególnemu procesowi, powodującemu obniżenie produkcji podtlenku azotu zwłaszcza, że chemiczny rozkład produktów pośrednich  $NO_x$  (szczególnie  $NO_2^-$ ) do  $N_2O$  wzmaga się przy niskim pH. Wydaje się, że azotyny ( $NO_2^-$ ) są kluczowym związkiem w warunkach kwaśnych, ponieważ są one produktem pośrednim w biologicznych reakcjach (nitrifikacji i denitryfikacji) jak też i wyjściowym związkiem dla ewentualnych reakcji chemicznych [30, 58, 83, 169].

Błaszczyk i wsp. [23] badając wpływ pH i wysokich stężeń azotanów i azotynów w podłożach syntetycznych na aktywność denitryfikacyjną bakterii stwierdzili, że pełna denitryfikacja azotynów zachodzi w zakresie pH od 5 do 3,9 z optimum pH 4. Spadek pH do 3,8 zupełnie hamuje denitryfikację, podczas gdy przy pH 6 i 7 obserwowano w odplywie obecność azotynów (odpowiednio 24 i 51 mg N/l).

### 3.2.5. Denitryfikacja w zależności od przemian węgla organicznego gleb

Badając poszczególne makroskładniki w glebie takie jak: węgiel, azot, siarkę i fosfor można ogólnie stwierdzić, że węgiel w glebie jest czynnikiem decydującym o stopniu rozwoju wyselekcjonowanych drobnoustrojów oraz o intensywności wywoływanych przez nie procesów. Biomasa mikroorganizmów zwykle koreluje z zawartością węgla organicznego i zwiększa się przez wzbogacenie w przyswajalny węgiel [81, 140, 75].

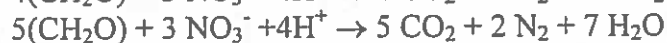
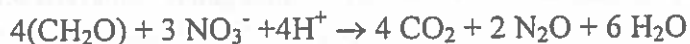
Nie można rozpatrywać przemian azotu bez przemian węgla organicznego. Związki azotu i węgla, kluczowe pierwiastki dla rozwoju organizmów, nie tylko reagują pomiędzy sobą (biologiczna sorpcja azotanów) i są ze sobą

sprężone ale także oddziałują na siebie wzajemnie na wielu ogniwach reakcji np. przy redukcji azotanów [110].

Biologiczna denitryfikacja jest ostatnim etapem w cyklu azotowym, gdzie N jest zwracany do atmosfery. Beztlenowe środowisko i obecność w nim łatwo utleniających związków węglowych są niezbędnymi czynnikami warunkującymi redukcję azotanów, przez uzdolnione w tym kierunku drobnoustroje – głównie bakterie [119]. Liczba bakterii denitryfikujących jest duża i są one zróżnicowane pod względem fizjologicznym. Większość z nich – to heterotrofy wykorzystujące związki organiczne jako źródło węgla i energii. Niektóre drobnoustroje denitryfikujące uzyskują energię przez utlenianie wodoru lub zredukowanych związków siarki – kosztem redukcji azotanów [178].

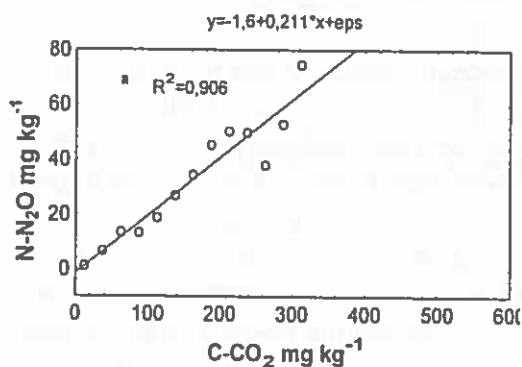
Obecność łatwo utleniających się substancji organicznych i dostępność rozpuszczalnych w wodzie substancji organicznych są ściśle związane z tempem biologicznej denitryfikacji i w konsekwencji z powstawaniem  $N_2O$  w glebie [37].

Równanie chemiczne denitryfikacji z wydzieleniem  $N_2O$  i  $N_2$  [37] mają postać:



W reakcjach tych 1 g przyswajalnego C jest wymagany do produkcji 1,17 g N jako  $N_2O$  i 0,99 g N jako  $N_2$ .

Jak wynika z powyższych reakcji, redukcji azotanu do  $N_2O$ , czy  $N_2$  towarzyszy wydzielanie  $CO_2$ . Wraz z rozwojem warunków redukcyjnych wydajność energetyczna procesów mikrobiologicznych maleje, ponieważ energia biologicznie użyteczna przypadająca na 1 cząsteczkę wydzielonego  $CO_2$  jest znacznie mniejsza, niż w warunkach tlenowych. Substancje organiczne badanych gleb, stanowiły zatem istotny czynnik w procesie redukcji azotanów a co za tym idzie pojemności denitryfikacyjnej badanych gleb. W celu wyjaśnienia tego zagadnienia podjęto próbę znalezienia zależności matematycznych pomiędzy ilością wydzielonego  $CO_2$  a  $N_2O$ , jako produktów wydalanych na zewnątrz komórki w procesie oddychania azotanowego. Analiza statystyczna całości danych, pozwoliła wyróżnić dwa układy punktów, wskazujące na dwa jakościowo różne procesy. Sporządzono więc analizę regresji oddzielnie dla fazy emisji  $N_2O$  i dla fazy jego redukcji. Zależność



Rys. 34a. Równowagowa ilość  $N_2O$  w fazie emisji w powietrzu nad zawiesziną glebową w funkcji zawartości  $CO_2$  (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ).

Fig. 34a. Equilibrium content of  $N_2O$  in the phase of emission in the headspace of gas as a function of  $CO_2$  content ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value).

pierwszą opisuje dodatnia funkcja liniowa, gdzie wydzielanie  $N_2O$  jest silnie skorelowane z wydzielaniem  $CO_2$  (Rys. 34 a). Współczynnik determinacji  $R^2 = 0,906$ .

Burford i Bremner [37] wyznaczyli pojemność denitryfikacyjną 17 powietrznie suchych gleb wzbogaconych w azotany, o zróżnicowanym pH (5,8-7,8), o zróżnicowanym składzie granulometrycznym (2-94% piasku i 1-39% iltu) oraz zawartości materii organicznej (0,3-5,95%). Stwierdzono, że pojemność denitryfikacyjna jest ściśle skorelo-

wana z frakcją węgla rozpuszczalną w wodzie i ulegającą mineralizacji. Zdaniem autorów zasobność gleb w wyżej wymienione frakcje może być dobrym wskaźnikiem przy wyznaczaniu pojemności denitryfikacyjnej gleb.

Wheatley i Williams [175] badając sezonową zmienność denitryfikacji potencjalnej w torfach, stwierdzili w okresie letnim dodatnią korelację denitryfikacji potencjalnej z produkcją  $CO_2$ .

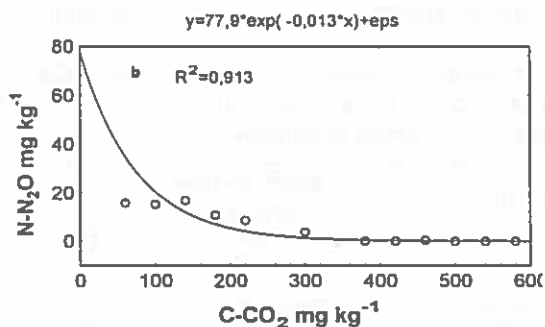
Zależność liniowa wydzielania podtlenku azotu w funkcji  $CO_2$  pozwoliła wyliczyć stosunek molowy  $CO_2:N_2O$  w warunkach przeprowadzonych badań. Wynosił on około 6, co sugeruje, że podtlenek azotu nie był jedynym produktem redukcji azotanów. Potwierdza to nasze stwierdzenia poczynione przy okazji analizy rozkładu azotanów (Rozdział 3.1.3)

Z teoretycznych wyliczeń stechiometrycznych wynika, że stosunek pomiędzy produkcją  $N_2O$  i  $CO_2$  równa się 2 [50] przy  $N_2O$  jako jedynym produkcie denitryfikacji.

Pidello i wsp. [121] badali zdolność gleby do produkcji  $N_2O$  i  $CO_2$  w zmiennych warunkach oksydoredukcyjnych, wywołanych dodatkiem do gleby węgla o różnym stopniu przyswajalności. Stosunek  $CO_2:N_2O$  w badanych glebach był niezmiennie większy od 2 co sugeruje, że denitryfikacja

i produkcja  $\text{CO}_2$  na drodze fermentacji zachodziły równolegle. Stosunek ten był istotnie skorelowany z wartością Eh.

Fakt, że stosunek  $\text{CO}_2:\text{N}_2\text{O}$  jest większy niż 2 może być wytłumaczony przez dodatkową produkcję  $\text{CO}_2$  na drodze fermentacji [124] albo częściową redukcją podtlenku do azotu czy amonu.



Rys. 34b. Równowagowa ilość  $\text{N}_2\text{O}$  w fazie absorpcji w powietrzu nad zawiesiną glebową w funkcji zawartości  $\text{CO}_2$  (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ).

Fig. 34b. Equilibrium content of  $\text{N}_2\text{O}$  in the phase of absorption in the headspace of gas as a function of  $\text{CO}_2$  content ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value).

Zupełnie inny charakter matematyczny wykazuje zależność redukcji  $\text{N}_2\text{O}$  od ilości  $\text{CO}_2$ , gdzie wysokiej emisji dwutlenku węgla (powyżej  $200 \text{ mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  gleby) towarzyszy silna redukcja podtlenku azotu (niekiedy całkowita), wskazująca na wysoką aktywność mikrobiologiczną badanych gleb. Produkcja  $\text{CO}_2$  poniżej  $200 \text{ mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  gleby przebiega między innymi w glebach o mniejszych zdolnościach do redukcji podtlenku azotu. Zależność tę najlepiej

opisuje funkcja wykładnicza z  $R^2=0,913$  (Rys. 34 b).

Analiza przemian materii organicznej w procesie redukcji dysymilacyjnej azotanów w badanych glebach potwierdziła jej istotny wpływ zarówno na produkcję  $\text{N}_2\text{O}$  jak i jego redukcję. Z przytoczonych danych wynika, że analiza stosunku C zmineralizowanego ( $\text{C-CO}_2$ ) do N zdenitryfikowanego ( $\text{N-N}_2\text{O}$ ) bardzo dobrze charakteryzuje potencjalną pojemność denitryfikacyjną badanych gleb, wykazując równocześnie ich zdolności do redukcji podtlenku azotu.

W świetle powyższych stwierdzeń, interesujące wydawało się znalezienie matematycznych zależności pomiędzy stosunkiem  $\text{C-CO}_2:\text{N-N}_2\text{O}$  i produktami gazowymi powstałymi w procesie redukcji azotanów, przy uwzględnieniu również warunków środowiska w jakich zachodził analizowany proces. Analiza wcześniejszych danych dotyczących emisji  $\text{N}_2\text{O}$ , wykazała zasadność rozdzielenia wyników emisji podtlenku azotu od pozostałych

produktów przemian azotanów. Tabele 13 i 14 przedstawiają wyniki analiz statystycznych stosunku C:N zdenitryfikowanego w funkcji analizowanych gazów, potencjału redoks i wartości pH środowiska, oddzielnie dla emisji i redukcji podtlenku azotu.

**Tabela 13.** Współczynnik korelacji (r) pomiędzy C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O w funkcji Eh i pH, aktualnej zawartości NO<sub>3</sub> a także kumulatywnej zawartości CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O w fazie emisji podtlenku azotu

**Table 13.** Values for the correlation coefficient (r) obtained between the ratio of C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O and pH, Eh values and an actual concentration of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and cumulative content of N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) in the headspace of gas in the phase of emission of N<sub>2</sub>O

Rodzaj zależności	Emisja	Współczynnik korelacji	n*
C:N = f (CO <sub>2</sub> )	$y = 162^3 x^{-0,74}$	-0,552***	279
C:N = f (N <sub>2</sub> O)	$y = 1,9^3 x^{-0,59}$	-0,915***	279
C:N = f (NO <sub>3</sub> )	$1/y = 0,37 - 0,002x$	-0,453***	269
C:N = f (Eh)	$y = \exp(-9,99 + 0,056x)$	0,613***	275
C:N = f (pH)	$1/y = -0,16 + 0,065x$	-0,433***	275

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

n liczba powtórzeń.

**Tabela 14.** Współczynnik korelacji (r) pomiędzy C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O w funkcji Eh i pH, aktualnej zawartości NO<sub>3</sub> a także kumulatywnej zawartości CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>O w fazie redukcji podtlenku azotu

**Table 14.** Values for the correlation coefficient (r) obtained between the ratio of C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O and pH and Eh values and an actual concentration of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and cumulative content of N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) in the headspace of gas in the phase of reduction of N<sub>2</sub>O

Rodzaj zależności	Redukcja	Współczynnik korelacji	n*
C:N = f (CO <sub>2</sub> )	$y = \exp(0,68 + 0,016x)$	0,803***	182
C:N = f (N <sub>2</sub> O)	$y = 188^3 x^{-1,18}$	-0,981***	182
C:N = f (NO <sub>3</sub> )	$y = \exp(3,85 - 0,02x)$	-0,392***	100
C:N = f (Eh)	$y = \exp(21,34 - 0,087x)$	-0,558***	166
C:N = f (pH)		zależność nie-istotna	

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

\* n - liczba powtórzeń.

Jak wynika z przytoczonych danych w Tabelach 13 i 14, stosunek C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O wykazuje korelację z analizowanymi parametrami, za wyjątkiem wartości pH w serii analiz dotyczących redukcji podtlenku azotu (gdzie nie stwierdzono zależności pomiędzy analizowanym stosunkiem



a wartością pH). Zwraca uwagę bardzo wysoki współczynnik korelacji pomiędzy stosunkiem C-CO<sub>2</sub>:N-N<sub>2</sub>O a emisją i redukcją podtlenku azotu (odpowiednio  $r=-91$  i  $-0,98$ ). Wysoki współczynnik zależności stwierdzono również w przypadku potencjału redoks.

### 3.2.6. Denitryfikacja w zależności od składu mechanicznego gleb

Przy wyborze gleb w celu oszacowania ich potencjalnej zdolności do emisji N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> a co za tym idzie ich pojemności denitryfikacyjnej, kierowano się kryterium składu mechanicznego, pH i zawartością substancji organicznych, zakładając, że takie zróżnicowanie pozwoli możliwie najpełniej scharakteryzować gleby pod względem badanych właściwości (Tabela 1, 2). W dotychczasowej analizie uzyskanych wyników często powoływano się na skład mechaniczny badanych gleb, doszukując się w nim przyczyny różnic w zachodzących przemianach biochemicznych. Analiza wariancji pozwoliła określić istotność różnic analizowanych parametrów w zależności od skały, z której wytworzyły się badane gleby. Obliczenia statystyczne dotyczyły zarówno wyników sumarycznych z przebiegu całego doświadczenia jak i właściwości wyjściowych badanych gleb. Gleby piaszczyste różniły się istotnie od pozostałych gleb pod względem zawartości wszystkich frakcji. Natomiast gleby wytworzone z glin i pyłów wykazywały zróżnicowanie w zawartości piasku, ładu drobnego i ładu pylastego grubego. Ogólnie można stwierdzić, że wybrane gleby różniły się istotnie między sobą pod względem składu mechanicznego.

Analiza wariancji wykazała istotną różnicę w zawartości substancji organicznych tylko pomiędzy piaskami i pozostałymi glebami, przy średniej zawartości C<sub>org.</sub> dla piasków 0,6%, dla glin 1,3% i 1,4% dla łąków (Tabela 1).

Nie stwierdzono natomiast istotnego zróżnicowania wartości pH pomiędzy glebami wytworzonymi z piasków, glin i łąków i pyłów i to zarówno w odniesieniu do pH wyjściowego jak i pH w przekroju całego doświadczenia. Gleby te wykazywały ogromne zróżnicowanie pH w poszczególnych grupach, wydzielonych zależnie od skały macierzystej, co uniemożliwiło ogólną (sumaryczną) ocenę wpływu składu mechanicznego na wartość pH badanych gleb.

Wykazano natomiast zróżnicowanie wyjściowego potencjału redoks pomiędzy glebami wytworzonymi z glin a glebami wytworzonymi z ilów i pyłów lub glebami wytworzonymi z piasków i żwirów. Inkubacja gleb w warunkach pełnego zalania i znacznie obniżonej zawartości tlenu na starcie inkubacji, istotnie zróżnicowała badane gleby pomiędzy sobą. Średnia wartość Eh z całego okresu inkubacji ułożyła się w następujący szereg malejący: +217 mV, +208 mV i +200 mV, odpowiednio dla gleb wytworzonych z piasków, glin oraz ilów i pyłów.

Analizowane grupy gleb różniły się również pod względem wyjściowej zawartości azotanów. Istotną różnicę stwierdzono pomiędzy glebami pyłowymi i ilowymi traktowanymi łącznie a glinami i piaskami. Średnia wyjściowa zawartość azotanów wynosiła odpowiednio: 37,3; 19,5 i 13,7 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup>.

Przytoczona powyżej analiza statystyczna podstawowych parametrów wyjściowych, jak również wyników uzyskanych w przebiegu całej inkubacji wyraźnie wskazuje, że przyjęte na wstępie kryteria doboru gleb do badań były trafne, ponieważ różniły się one pomiędzy sobą pod względem rodzajów czynników istotnie wpływających na proces produkcji N<sub>2</sub>O i CO<sub>2</sub> w środowisku glebowym.

W świetle powyższych stwierdzeń przeprowadzono analizę statystyczną wydzielania N<sub>2</sub>O w funkcji zawartości poszczególnych frakcji mechanicznych badanych gleb.

Tabela 15. Współczynnik korelacji (r) pomiędzy kumulatywną zawartością podtlenu azotu (mg N-N<sub>2</sub>O kg<sup>-1</sup>) i zawartością frakcji mechanicznych gleb

Table 15. Values for the correlation coefficient (r) obtained between the cumulative content of N<sub>2</sub>O (mg kg<sup>-1</sup>) in the headspace of gas and soil size fractions content

Frakcja gleby	N <sub>2</sub> O = f (frakcji gleby)	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń
Piasek	$y = 19,8 - 0,13x$	-0,272***	n = 472
Pył gruby	$y = 10,1 + 0,23x$	0,184***	n = 472
Pył drobny	$y = 6,9 + 0,55x$	0,362***	n = 472
ił pyłowy gruby	$y = 5,5 + 0,67x$	0,351***	n = 472
ił pyłowy drobny	$1/y = -0,66 + 0,45x$	0,252***	n = 472
ił koloidalny	$1/y = 0,41 + 0,27x$	0,222***	n = 472

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

Jak wynika z danych przytoczonych w Tabeli 15, wszystkie frakcje składu mechanicznego gleby wpływały istotnie na ilość wydzielanego podtlenku azotu. Ilość wydzielanego  $N_2O$  jest odwrotnie proporcjonalna do zawartości frakcji piasku i wprost proporcjonalna do zawartości łu grubego i drobnego oraz łu pyłowego grubego. Natomiast zależność emisji podtlenku azotu od zawartości frakcji najdrobniejszych, to znaczy łu pyłowego drobnego i łu koloidalnego, jest najlepiej opisywana przez funkcję  $1/y = a+bx$ , z możliwą do wyznaczenia, optymalną zawartością obu frakcji, przy której emisja jest najwyższa. Dla obu frakcji jest to zakres od około 3 do 9%.

Gleby wytworzone z piasków emitowały średnio  $18,5 \text{ mg } N_2O-N \cdot \text{kg}^{-1}$  gleby, średnia emisja podtlenku azotu z gleb wytworzonych z glin wynosiła  $41,8 \text{ mg } N_2O-N \cdot \text{kg}^{-1}$  gleby i z gleb wytworzonych z pyłów i łów  $38,9 \text{ mg } N_2O-N \cdot \text{kg}^{-1}$  gleby. Z przytoczonych danych wynika, że gleby cięższe produkowały przeszło dwa razy więcej podtlenku azotu aniżeli gleby lżejsze wytworzone z piasków.

Mc Kenney i wsp. [100] stwierdzili, że emisja  $N_2O$  jest na ogół od 1 do 2 razy wyższa z gleb gliniastych, niż z piaszczystych nawożonych  $NH_4NO_3$ ,  $KNO_3$  lub mocznikiem.

Groffman i Tiedje [70] badając relacje pomiędzy denitryfikacją a wydzielaniem  $CO_2$ , stwierdzili korelacje pomiędzy produkowanymi gazami a porowatością i natlenieniem gleby gliniastej.

Webster i Dowdell [173] stosując  $400 \text{ kg } N \cdot \text{ha}^{-1}$  w postaci  $Ca(NO_3)_2$  na dwóch rodzajach gleb, wykazali, że roczna emisja  $N_2O$  była nieznacznie większa z gleb gliniastych (6 do  $8 \text{ kg } N_2O-N \cdot \text{ha}^{-1}$ ) niż z gleb o składzie glin pylistych, to jest lżejszych i lepiej odprowadzających wodę (4 do  $6 \text{ kg } N_2O-N \cdot \text{ha}^{-1}$ ).

Matson i wsp. [98] zanotowali sześciokrotnie wyższą emisję  $N_2O$  z gleb gliniastych niż z piaszczystych w warunkach lasu tropikalnego.

Skiba i wsp. [146] i Vinther [172] również stwierdzili, że najwyższe tempo emisji  $N_2O$  zaznaczyło się w glebach o dużej zawartości koloidów mineralno-organicznych.

### 3.3. Emisja CO<sub>2</sub> z gleb w warunkach ich pełnego zalania w zależności od czynników na nią wpływających

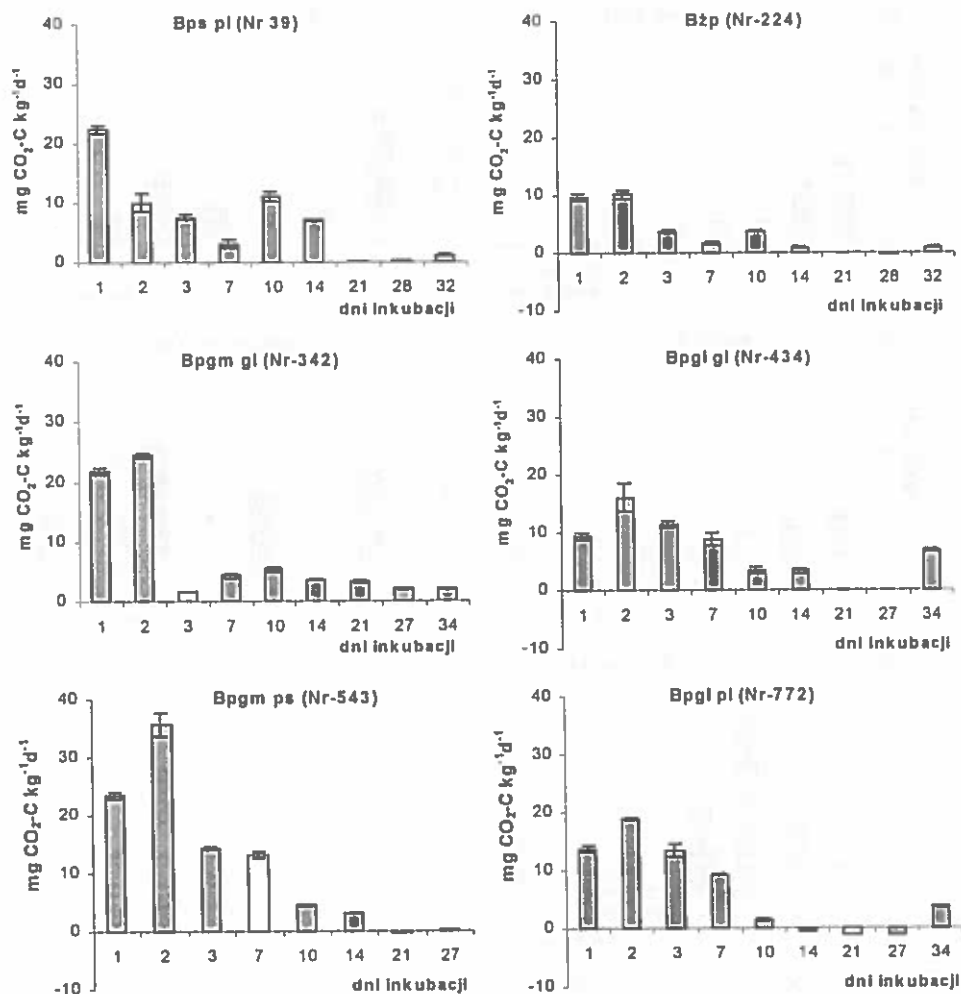
Metabolizm drobnoustrojów heterotroficznych, czyli chemoorganotrofów, do których należy większość drobnoustrojów denitryfikujących, może przebiegać różnymi drogami, ale zawsze jako donatory wodoru wykorzystywane są związki organiczne a uwalniana energia dla potrzeb komórki magazynowana jest w ATP. Chemoorganotrofy mogą przeprowadzać wiele reakcji metabolicznych, do których należy również oddychanie beztlenowe, w których donatorami elektronów (wodoru) są ulegające utlenieniu związki organiczne, natomiast akceptorami elektronów (wodoru) takie związki jak: SO<sub>4</sub>, NO<sub>3</sub> lub CO<sub>2</sub>, natomiast produktami: H<sub>2</sub>S, NO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> lub CH<sub>4</sub> [68].

Analiza dynamiki wydzielania CO<sub>2</sub>, produktu oddychania beztlenowego drobnoustrojów biorących udział w redukcji azotanów wskazuje na duże zróżnicowanie w nasileniu oddychania badanych gleb. Średnia ilość wyemitowanego CO<sub>2</sub> w przekroju całego doświadczenia pozwoliła podzielić badane gleby na trzy grupy istotnie różniące się między sobą:

- gleby, które wyprodukowały od około 40 do 150 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby,
- gleby, które wyprodukowały od około 150 do 200 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby,
- gleby, które wyprodukowały powyżej 200 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby,

W pierwszej grupie znalazły się wszystkie gleby wytworzone z piasków i trzy gleby wytworzone z glin. W drugiej grupie znalazły się pozostałe gleby gliniaste i dwie gleby wytworzone z pyłów. W trzeciej, najaktywniejszej grupie gleb, znalazły się gleby wytworzone z ilów. Analiza wydzielania CO<sub>2</sub> w poszczególnych dniach inkubacji wykazała, że do trzeciego dnia inkubacji włącznie, żadna z gleb nie przekroczyła 300 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby, podczas gdy wydzielanie N<sub>2</sub>O w tym samym okresie wynosiło od 1,5 do 39 mg N<sub>2</sub>O-N·kg<sup>-1</sup> gleby. Biorąc pod uwagę 300-krotnie wyższą aktywność podtlenku azotu w pochłanianiu promieniowania, emisja jego wydaje się stanowić większe zagrożenie dla środowiska naturalnego. Do 21 dnia inkubacji tylko trzy gleby przekroczyły emisję CO<sub>2</sub> powyżej 300 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby, która mogłaby zrównoważyć zaledwie 3 mg emitowanego N<sub>2</sub>O-N·kg<sup>-1</sup> gleby. W przekroju całego doświadczenia poszczególne gleby różniły się istotnie pomiędzy sobą w ilości emitowanego CO<sub>2</sub>.

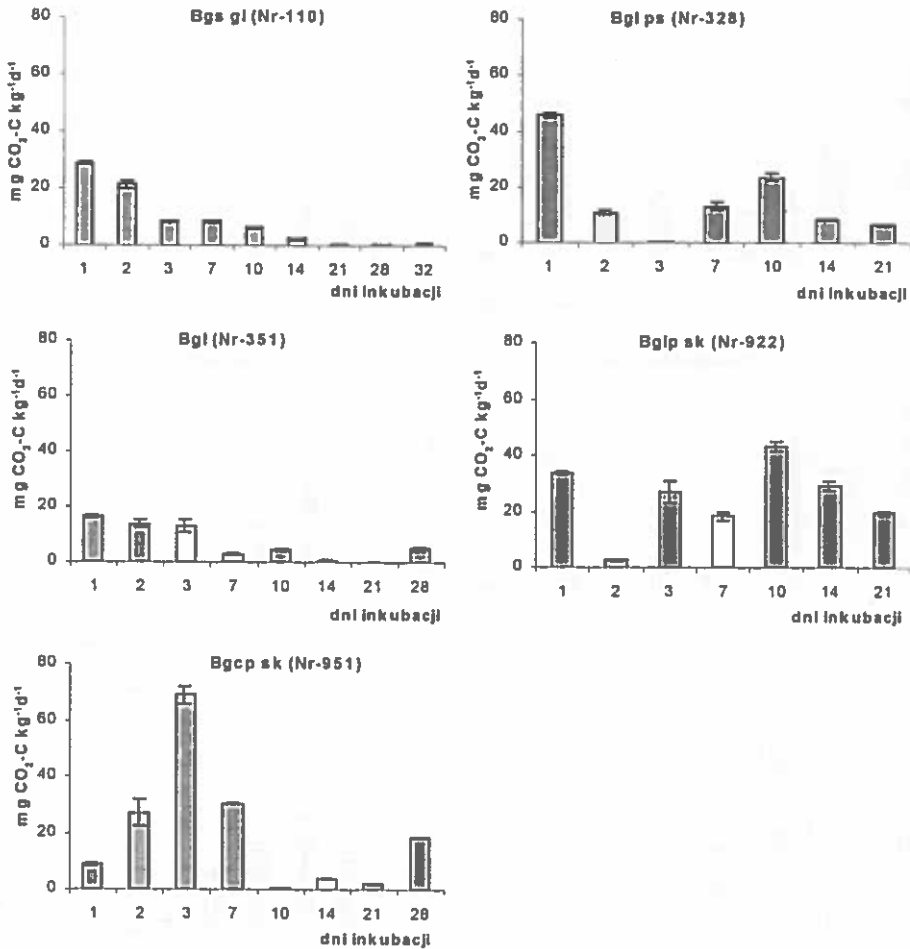
Rysunki 35-37 przedstawiają dobowy przyrost produkcji  $\text{CO}_2$  w glebach wytworzonych z piasków, glin oraz ilów i pyłów z zaznaczonym na biało dniem maksymalnej kumulatywnej zawartości  $\text{N}_2\text{O}$ .



Rys. 35. Dobowa emisja  $\text{CO}_2$  z gleb wytworzonych z piasków w poszczególnych dniach inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości  $\text{N}_2\text{O}$  w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 35. Daily emission of  $\text{CO}_2$  in the soils developed from sand in the individual days of incubation (white posts show the maximum cumulative value of  $\text{N}_2\text{O}$  in the headspace of gas).

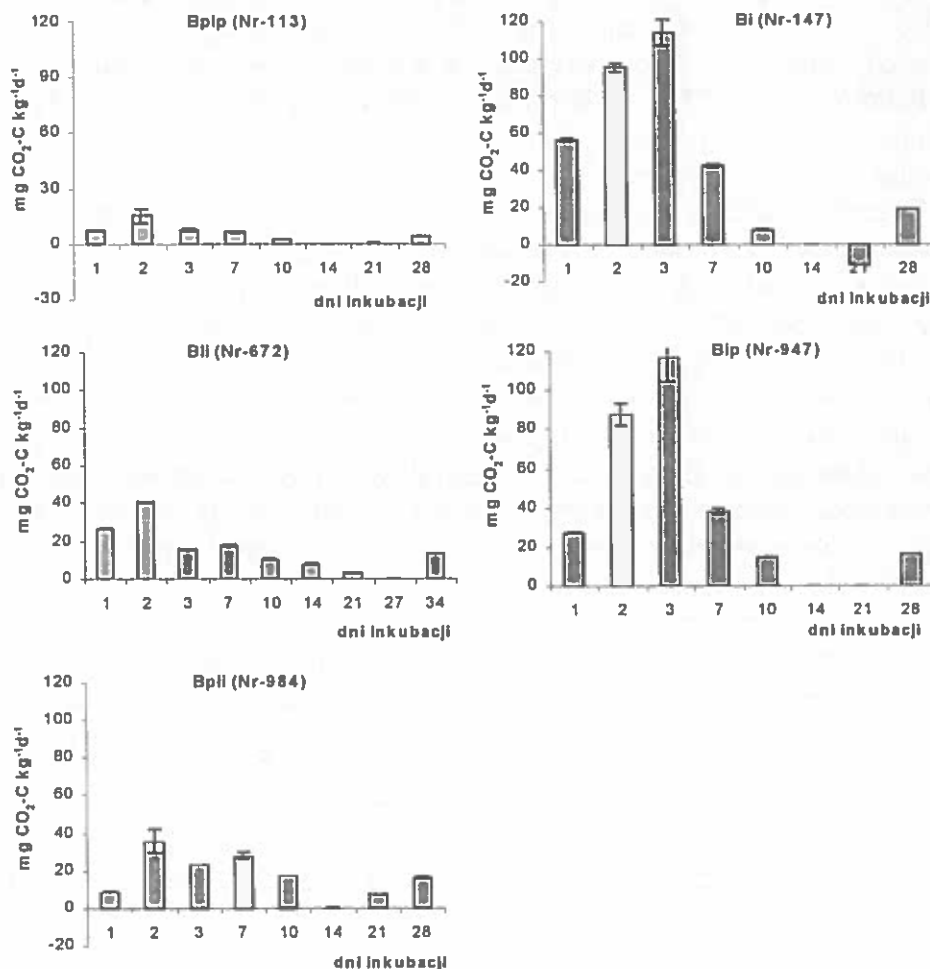
We wszystkie badanych glebach maksimum produkcji dwutlenku węgla przypada na dni od 1 do 3, za wyjątkiem gleby Nr 922-Bglp:sk, w której maksymalna ilość powstałego CO<sub>2</sub> przypada na 10 dzień.



Rys. 36. Dobowa emisja CO<sub>2</sub> z gleb wytworzonych z glin w poszczególnych dniach inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości N<sub>2</sub>O w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 36. Daily emission of CO<sub>2</sub> in the soils developed from loam in the individual days of incubation (white posts show the maximum cumulative value of N<sub>2</sub>O in the headspace of gas).

Drobnoustroje wykorzystywały w tym czasie frakcję substancji organicznych najłatwiej przyswajalną, rozpuszczalną w roztworze glebowym.



Rys. 37. Dobowa emisja CO<sub>2</sub> z gleb wytworzonych z ilów i pyłów w poszczególnych dniach inkubacji (białe słupki oznaczają dzień maksymalnej kumulatywnej zawartości N<sub>2</sub>O w powietrzu nad zawiesiną).

Fig. 37. Daily emission of CO<sub>2</sub> in the soils developed from silt in the individual days of incubation (white posts show the maximum cumulative value of N<sub>2</sub>O in the headspace of gas).

Jest to zjawisko charakterystyczne dla gleb po okresie długotrwałej suszy, kiedy materia organiczna ulega powolnemu utlenianiu i w postaci łatwo przyswajalnej gromadzi się w glebie. Stwierdzenie to, jak wydaje się, może mieć zastosowanie w naszym przypadku, ponieważ gleby wzięte do badań przeszły długi okres przechowywania w warunkach powietrznie suchych.

Pattern i wsp. [115] stwierdzają, że suszenie gleby znacznie zwiększa tempo denitryfikacji poprzez wzrost ilości rozpuszczalnych i łatwo przyswajalnych substancji organicznych.

Znacznie bardziej zróżnicowany jest okres po osiągnięciu maksimum wydzielania CO<sub>2</sub>, po którym wystąpił okres spadku ilości CO<sub>2</sub> wydzielonego w okresie jednej doby. W badanych glebach zawierał się on w przedziale czasowym od 2 do 27 dni, przy czym u większości gleb był on pomiędzy 3 a 14 dniem inkubacji. Intensywność przemian biochemicznych na początku inkubacji spowodowała w większości analizowanych gleb wyczerpanie się substancji organicznych łatwo przyswajalnych, stąd spowolnienie procesów oddechowych i konieczność mineralizacji węgla trudniej dostępnego. Rozpiętość czasowa spadku wydzielania CO<sub>2</sub> wskazuje na różną aktywność mikrobiologiczną badanych gleb, jak również na różnorodność zawartych w nich substancji organicznych.

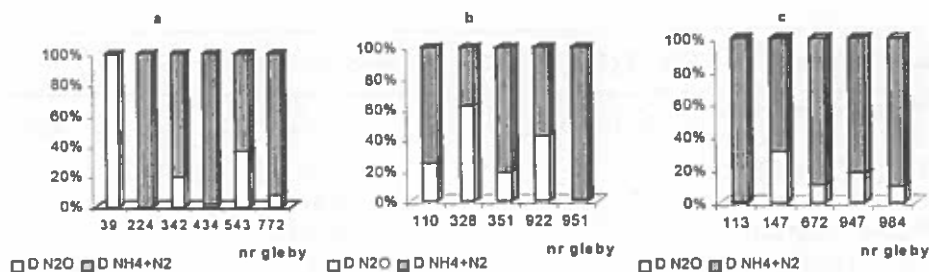
Burford i Bremner [37] badając zdolność denitryfikacyjną gleb stanowiących mieszaninę piasku, gliny i pyłu o pH 5,8 - 7,8 i różnej zawartości substancji organicznych stwierdzili, że zdolność ta zależy nie tylko od całkowitej zawartości substancji organicznych ale także od udziału w nich frakcji rozpuszczalnej w wodzie i węgla ulegającego mineralizacji.

Połowa analizowanych gleb wykazała drugi, wyraźny wzrost produkcji CO<sub>2</sub> przypadający na okres od 7 do 14 dnia inkubacji. Wiąże się on prawdopodobnie z przystosowaniem aparatu enzymatycznego bakterii do rozkładu kolejnych frakcji substancji organicznych, po wyczerpaniu się związków łatwo dostępnych. W grupie tej znalazły się cztery gleby wytworzone z glin, trzy piaszczyste i jedna pylasta. We wszystkich analizowanych glebach w końcowej fazie badań zaobserwowano ponowny - czasami dość znaczny - wzrost produkcji dwutlenku węgla. Mniejszy przyrost ilości dwutlenku węgla w powietrzu nad zawieszoną glebową w warunkach obniżonej wartości Eh mógł być spowodowany rozwojem jednego z chemolitotrofów jakim jest *Micrococcus denitrificans*. Jest on względnym autotrofem i względnym beztlenowcem. Autotroficznie rozwija się w środowisku zawierającym H<sub>2</sub>,



CO<sub>2</sub> i azotany, wykorzystując utlenianie wodoru jako źródło energii a CO<sub>2</sub> jako źródło węgla [85].

Porównanie czasu występowania maksymalnej kumulatywnej zawartości N<sub>2</sub>O (Rys. 1) CO<sub>2</sub> (Rys. 3) wykazało, że w żadnym analizowanym przypadku te dwa maksima nie pokrywają się a największa zawartość podtlenku azotu przypada zawsze po szczycie zawartości CO<sub>2</sub>. Sugerowałoby to przewagę redukcji dysymilacyjnej azotanów do NH<sub>4</sub> nad denitryfikacją w pierwszej fazie inkubacji, co potwierdzałoby nasze wcześniejsze przypuszczenia wynikające z analizy ubytku azotanów. Analiza procentowej zawartości frakcji N<sub>2</sub>O i połączonej frakcji (N<sub>2</sub>+NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) w ilości rozłożonych azotanów po pierwszym dniu inkubacji, wskazuje na zdecydowaną przewagę tej ostatniej nad produkcją podtlenku azotu (Rys. 38).



Rys. 38. Udział N<sub>2</sub>O oraz (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> +N<sub>2</sub>) w puli rozłożonych azotanów w pierwszym dniu inkubacji w glebach wytworzonych z piasków (a), glin (b) oraz ilów i pyłów (c).

Fig. 38. Part of N<sub>2</sub>O and (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+N<sub>2</sub>) in the pool of reduced nitrate at the first day of the incubation in the soils developed from sand (a), loam (b) and silt (c).

### 3.3.1. Emisja CO<sub>2</sub> z gleb w zależności od wyjściowej zawartości węgla organicznego

Obniżona zawartość tlenu w powietrzu nad glebą i pełne ich zalanie, stwarzają specyficzne warunki dla przemian rodzimej materii organicznej analizowanych gleb. Interesujące wydawało się więc, przeanalizowanie wpływu tych wszystkich czynników, które miały istotny wpływ na emisję N<sub>2</sub>O i również na przemiany węgla organicznego.

Analizę statystyczną wpływu wyjściowej zawartości substancji organicznych na produkcję CO<sub>2</sub> w warunkach przeprowadzonego doświadczenia dla

całości wyników przy zróżnicowanych okresach inkubacji, liczonych od momentu zalania, ujęto w Tabeli 16. Jak wynika z przedstawionych wartości, wyjściowa zawartość substancji organicznych miała bardzo istotny wpływ na ilość wyprodukowanego dwutlenku węgla w warunkach redukcyjnych badanych gleb. Pomimo zmieniającego się tempa emisji CO<sub>2</sub> w doświadczalnym okresie, kumulatywna ilość tego gazu pozostawała w ścisłej korelacji z zawartością wyjściową materii organicznej, o czym świadczą wysoki współczynnik korelacji.

Tabela 16. . Współczynnik korelacji (r) pomiędzy kumulatywną zawartością dwutlenku węgla (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) i materią organiczną gleb, przy zróżnicowanych okresach inkubacji Table 16. Values for the correlation coefficient (r) obtained between the cumulative content of CO<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) in the headspace of gas and organic matter content in the different days of incubation

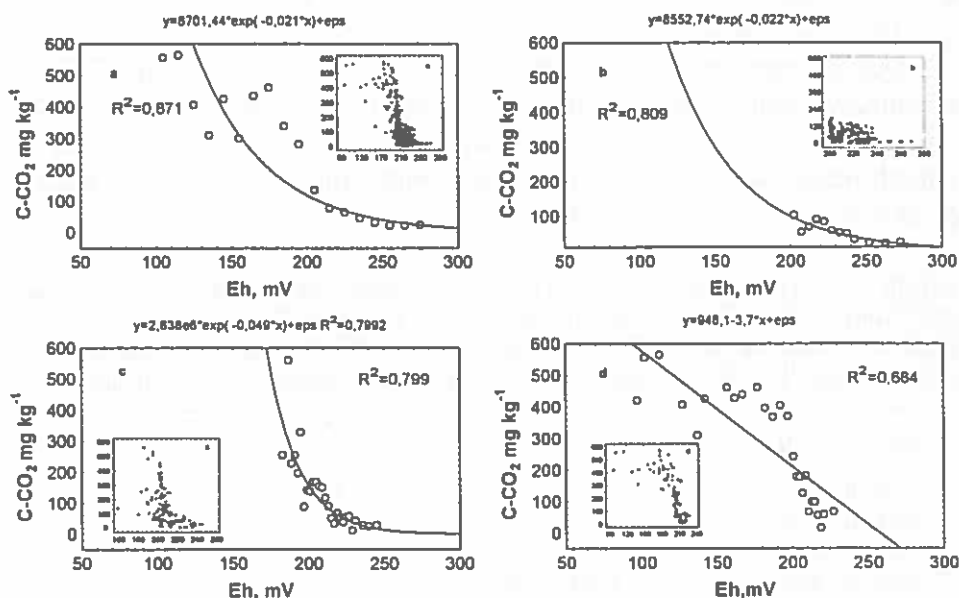
Dzień inkubacji	CO <sub>2</sub> = f (C <sub>org</sub> )	Współczynnik korelacji	Ilość powtórzeń
Wszystkie terminy razem	$y = 26,19 + 100,57x$	0,560***	n = 486
1 dzień inkubacji		zależność nieistotna	
2 dzień inkubacji	$y = 27,39 + 21,36x$	0,449***	n = 55
3 dzień inkubacji	$y = 16^3x^{0,78}$	0,756***	n = 55
7 dzień inkubacji	$y = 59^3x^{0,97}$	0,842***	n = 55
10 dzień inkubacji	$y = 107^3x^1$	0,882***	n = 55
14 dzień inkubacji	$y = 120^3x^{0,97}$	0,824***	n = 55
21 dzień inkubacji	$y = 162^3x^{0,92}$	0,805***	n = 55
Końcowy dzień inkubacji	$y = 234^3x^{1,02}$	0,871***	n = 55

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

### 3.3.2. Emisja CO<sub>2</sub> z gleb w zależności od ich potencjału oksydoredukcyjnego

W glebie zachodzą liczne procesy oksydoredukcyjne, czyli reakcje związane z przenoszeniem elektronów. Źródłem elektronów w glebie jest substancja organiczna, natomiast ich akceptorami są między innymi utlenione związki nieorganiczne. Szybkość spadku wartości Eh i jego minimalna wartość zależą od wielu czynników w tym również od ilości łatwo rozkładalnego substratu organicznego [66]. Tak więc w warunkach zalania gleby,

procesowi rozkładu substancji organicznych, wyrażonego ilością wyprodukowanego dwutlenku węgla, towarzyszył spadek wartości potencjału redoks. Analiza statystyczna wykazała zależność pomiędzy ilością wyemitowanego CO<sub>2</sub> i zmianą potencjału oksydoredukcyjnego w badanych glebach. Dla całości analizowanych wyników zależność tę najlepiej opisuje funkcja wykładnicza o współczynniku determinacji R<sup>2</sup>=0,8713 (Rys. 39 a).



Rys. 39. Równowagowa ilość CO<sub>2</sub> w powietrzu nad zawiesiną glebową we wszystkich glebach (a), w glebach wytworzonych z piasków (b), glin (c) oraz ilów i pyłów (d) w funkcji Eh (wartości średnie y dla wyznaczonych zakresów wartości x). Rysunki wstawione przedstawiają pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

Fig. 39. Equilibrium content of CO<sub>2</sub> in the headspace of gas from all soils (a), in the soils developed from sand (b), loam (c) and silt (d) as a function of Eh (y = mean values for the determined ranges of x value). Insertions show single data from entire time of incubation.

Analiza statystyczna zależności produkcji CO<sub>2</sub> od potencjału redoks w glebach wytworzonych z poszczególnych skał macierzystych wykazała dwie różne w charakterze, zależności matematyczne (liniową i wykładniczą). Produkcję CO<sub>2</sub> z gleb wytworzonych z piasków w zależności od wartości Eh, najlepiej opisuje funkcja wykładnicza, której współczynnik determinacji R<sup>2</sup>=0,809 (Rys. 39 b) w zakresie Eh od około +200 do +275 mV

i emisji CO<sub>2</sub> do około 200 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby. Produkcję CO<sub>2</sub> w glebach wytworzonych z glin w zależności od Eh najlepiej opisuje również funkcja wykładnicza o współczynniku determinacji R<sup>2</sup>=0,799 (Rys. 39 c) w zakresie Eh od około +160 do +245 mV i emisji CO<sub>2</sub> do około 560 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby. Z kolei emisję CO<sub>2</sub> z gleb wytworzonych z iłó w i pyłów w zależności od Eh najlepiej opisuje funkcja liniowa, której współczynnik determinacji R<sup>2</sup>=0,684 (Rys. 39 d) w zakresie Eh od około +100 do +220 mV i emisji CO<sub>2</sub> do około 580 mg CO<sub>2</sub>-C·kg<sup>-1</sup> gleby.

Analizę statystyczną wydzielania CO<sub>2</sub> z badanych gleb w funkcji Eh, przy zróżnicowanych okresach inkubacji, liczonych od momentu zalania, przedstawia Tabela 17. Jak wskazują współczynniki korelacji umieszczone w tej Tabeli, przez cały okres inkubacji, za wyjątkiem pierwszej doby, spadkowi potencjału redoks towarzyszył przyrost ilości CO<sub>2</sub>.

Tabela 17. Współczynnik korelacji (r) pomiędzy kumulatywną zawartością dwutlenku węgla (mg C-CO<sub>2</sub> kg<sup>-1</sup>) i Eh, przy zróżnicowanych okresach inkubacji

Table 17. Values for the correlation coefficient (r) obtained between the cumulative content of CO<sub>2</sub> (mg kg<sup>-1</sup>) in the headspace of gas and Eh in the different days of incubation

Dzień inkubacji	y = a + bx	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń
1 dzień inkubacji		zależność nieistotna	n = 57
2 dzień inkubacji	y = 261 - 0,97x	-0,380**	n = 57
3 dzień inkubacji	y = 585 - 2,35x	-0,431***	n = 57
7 dzień inkubacji	y = 1084 - 4,48x	-0,492***	n = 57
10 dzień inkubacji	y = 1718 - 7,52x	-0,696***	n = 57
14 dzień inkubacji	y = 1481 - 6,34x	-0,657***	n = 57
21 dzień inkubacji	y = 1042 - 4,20x	-0,580***	n = 57
Końcowy dzień inkubacji	y = 981 - 3,76x	-0,585***	n = 57

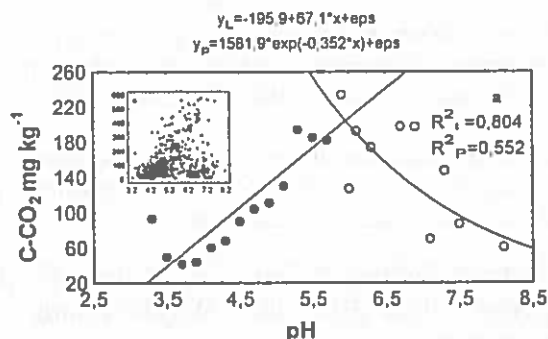
\*\* istotne przy poziomie 0,01.

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

### 3.3.3. Emisja CO<sub>2</sub> z gleb w zależności od ich pH

Aktywność drobnoustrojów glebowych jest ściśle powiązana z odczynem gleby i ma swój wyraz w intensywności wydzielania CO<sub>2</sub>. Mikroorganizmy glebowe żyją w bardzo szerokim zakresie pH, od bardzo silnie kwaśnego do zasadowego, ale każda grupa ma swoje optimum działania, dla wielu bakte-

rii glebowych mieści się ono w granicach odczynu obojętnego. Wcześniej przeprowadzona analiza emisji podtlenu azotu wyraźnie dowiodła, że w warunkach przeprowadzonych badań, optimum denitryfikacji było bardzo zróżnicowane i w większości gleb mieściło się w zakresie odczynu słabo kwaśnego. Interesujące zatem wydawało się przeanalizowanie wpływu pH badanych gleb na ich aktywność respiracyjną w warunkach obniżonego potencjału oksydoredukcyjnego.



Rys. 40a. Równowagowa ilość  $\text{CO}_2$  w powietrzu nad zawieszoną glebową w funkcji pH (wartości średnie  $y$  dla wyznaczonych zakresów wartości  $x$ ). Rysunek wstawiony przedstawia pojedyncze dane z wszystkich gleb i terminów inkubacji.

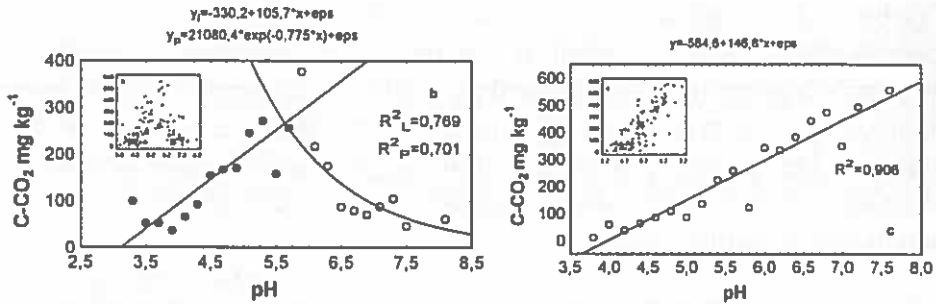
Fig. 40a. Equilibrium content of  $\text{CO}_2$  in the headspace of gas as a function of pH ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertion shows single data from all soils and entire time of incubation.

nych skał macierzystych wykazała ponownie - zróżnicowanie badanych gleb.

I tak w glebach piaszczystych pH nie miało istotnego wpływu na aktywność respiracyjną badanych gleb a zakres pH w przekroju całego okresu badań zawierał się w szerokich granicach od 3,4 do 7,6.

W przypadku gleb wytworzonych z glin rozkład punktów opisują, podobnie jak w przypadku całości wyników, dwie funkcja: liniowa, której  $R^2=0,769$  i funkcja wykładnicza z  $R^2=0,701$ . Optimum pH dla tej skały mieści się w granicach wartości od 5 do 6 (Rys. 40b).

Uzyskane wyniki emisji  $\text{CO}_2$  dla wszystkich dni doświadczenia, poddano analizie statystycznej, która wykazała, że produkcja dwutlenku węgla wzrasta liniowo wraz ze wzrastającą wartością pH do około 6. Współczynnik determinacji dla tej części wykresu  $R^2=0,804$ . Podczas gdy wpływ pH na powstawanie  $\text{CO}_2$  w zakresie wartości od 6 do 8 najlepiej opisuje funkcja wykładnicza z  $R^2=0,552$  (Rys. 40a). Analiza statystyczna opisywanej zależności w glebach wytworzonych z róż-



Rys. 40b,c. Równowagowa ilość CO<sub>2</sub> w powietrzu nad zawiesiną w glebach wytworzonych z glin (b) oraz iłów i pyłów (c) w funkcji pH (wartości średnie y dla wyznaczonych zakresów wartości x). Rysunki wstawione przedstawiają pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

Fig. 40b,c. Equilibrium content of CO<sub>2</sub> in the headspace of gas in the soils developed from loam (b), and silt (c) as a function of pH ( $y$  = mean values for the determined ranges of  $x$  value). Insertions show single data from entire time of incubation.

Bardzo wyraźną natomiast zależność liniową emisji CO<sub>2</sub> od wartości pH wykazały gleby wytworzone z pyłów i iłów (Rys. 40c). Współczynnik determinacji dla tej zależności wynosił 0,906.

### 3.3.4. Emisja CO<sub>2</sub> z gleb w zależności od skały macierzystej

W świetle powyższych stwierdzeń, konieczna była odpowiedź na pytanie czy skała macierzysta, z której wytworzone zostały badane gleby, miała istotny wpływ na ich aktywność respiracyjną.

Średnia ilość wyemitowanego CO<sub>2</sub> w przekroju całego doświadczenia, była istotnie różna i zależała od skały macierzystej z jakiej zbudowane były gleby. Najniższą produkcją CO<sub>2</sub> charakteryzowały się gleby wytworzone z piasków. Średnia ilość dwutlenku węgla wyprodukowanego w tych glebach przez cały okres inkubacji wynosiła około 75 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby. Znacznie wyższą emisję CO<sub>2</sub> stwierdzono w glebach wytworzonych z glin; około 130 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby. Natomiast najwyższą ilość CO<sub>2</sub> wyemitowały gleby iłowe i pylaste, bo około 210 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> gleby.

Tabela 18. Współczynnik korelacji (r) pomiędzy kumulatywną zawartością dwutlenku węgla ( $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) i zawartością frakcji mechanicznych gleb  
 Table 18. Values for the correlation coefficient (r) obtained between the cumulative content of  $\text{CO}_2$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) in the headspace of gas and soil size fractions content

Frakcja gleby	$y = a + bx$	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń
Piasek	$y = 240 - 2,34x$	-0,591***	n = 486
Pył gruby	$y = 55 + 5,02x$	0,497***	n = 486
Pył drobny	$y = 84 + 3,62x$	0,294***	n = 486
Ił pyłowy gruby	$y = 40 + 7,39x$	0,477***	n = 486
Ił pyłowy drobny	$y = 53 + 11,44x$	0,485***	n = 486
Ił koloidalny	$y = 83 + 6,54x$	0,403***	n = 486

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

Przeanalizowano również wpływ poszczególnych frakcji gleby na proces oddychania. Wyniki analizy regresji przedstawione w Tabeli 18, wyraźnie wskazują na wpływ składu mechanicznego na przemiany substancji organicznych w badanych glebach. Szczególnie istotna jest zawartość frakcji piasku, przyrostowi której odpowiada obniżenie wydzielania  $\text{CO}_2$  natomiast przyrostowi frakcji drobniejszych, to jest pyłu i iłu - wzmożenie tego procesu.

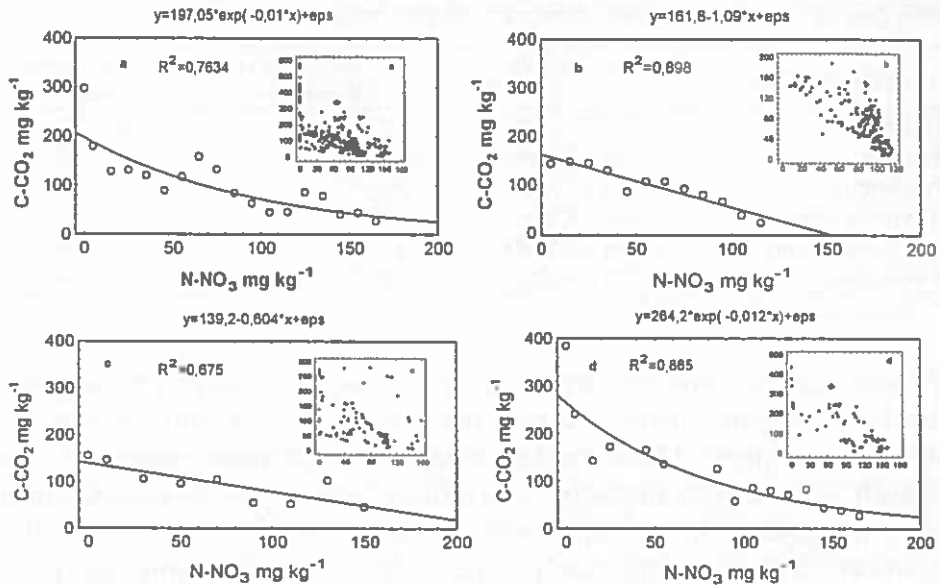
### 3.3.5. Emisja $\text{CO}_2$ z gleb w zależności od zawartości azotanów

Po wyczerpaniu się tlenu lub wyraźnym ograniczeniu jego dostępu w środowisku występowania drobnoustrojów, jednym z czynników istotnie wpływających na procesy biochemiczne w glebie, są azotany jako alternatywne w stosunku do tlenu akceptory elektronów.

Wg Tiedje i wsp. [163] w warunkach beztlenowych, azotany mogą być biologicznie zredukowane do  $\text{N}_2\text{O}$  i  $\text{N}_2$  lub do  $\text{NH}_4^+$ . Czynniki, które kontrolują wybór jednego ze szlaków metabolicznych nie są do końca poznane ale mogą wiązać się z ilością dostępnego węgla i akceptorów elektronów w glebie.

W poprzednich rozdziałach przeprowadzono analizę wpływu  $\text{NO}_3^-$  na procesy redukcji azotanów, szczególnie na proces redukcji dysymilacyjnej w tym również procesu denitryfikacji. Jednym z produktów denitryfikacji - oddychania azotanowego - jest  $\text{CO}_2$ . Rozdział ten jest analizą wpływu za-

wartości azotanów na produkcję dwutlenku węgla w glebach inkubowanych w warunkach zalania gleby.



Rys.41a. Równowagowa ilość CO<sub>2</sub> w powietrzu nad zawiesiną glebową we wszystkich glebach (a), w glebach wytworzonych z piasków (b), glin (c) oraz ilów i pyłów (d) w funkcji aktualnego stężenia NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (wartości średnie y dla wyznaczonych zakresów wartości x). Rysunki wstawione przedstawiają pojedyncze dane z wszystkich terminów inkubacji.

Fig. 39. Equilibrium content of CO<sub>2</sub> in the headspace of gas from all soils (a), in the soils developed from sand (b), loam (c) and silt (d) as a function of an actual concentration of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (y = mean values for the determined ranges of x value). Insertions show single data from entire time of incubation.

Analiza statystyczna otrzymanych wyników dowodzi istotnego wpływu zawartości NO<sub>3</sub><sup>-</sup> na proces oddychania azotanowego. Zależność tę, dla całości uzyskanych wyników, najlepiej opisuje funkcja wykładnicza. Współczynnik determinacji R<sup>2</sup> badanych czynników wynosi 0,763 (Rys. 41a). Wraz z redukcją azotanów przybywało CO<sub>2</sub>. Intensywność tego procesu była różna w zależności między innymi od składu mechanicznego badanych gleb. Rysunki 41b,c,d przedstawiają wydzielanie CO<sub>2</sub> w funkcji NO<sub>3</sub><sup>-</sup> w glebach wytworzonych odpowiednio z piasków, glin oraz pyłów i ilów. Zależność ta okazała się ujemnie liniowo skorelowana w glebach wytwor-



rzonych z piasków oraz glin, której współczynniki determinacji  $R^2$  wynoszą odpowiednio: 0,898 i 0,675. Inny charakter zależności wykazały gleby wytworzone z pyłów i łąk w których wydzielanie  $\text{CO}_2$  w zależności od zawartości  $\text{NO}_3^-$ , najlepiej opisuje funkcja wykładnicza ( $R^2=0,865$ ).

Istotność wpływu jonów azotanowych na proces oddychania badanych gleb potwierdzają wyniki uzyskane z analizy statystycznej przy zróżnicowanych okresach inkubacji, liczonych od momentu zalania. Zależność ta w miarę wyczerpywania się azotanów zmienia charakter funkcji matematycznej. Tabela 19 przedstawia wartości współczynników korelacji przy zróżnicowanych okresach inkubacji liczonych od początku zalania gleby.

Tabela 19. Współczynnik korelacji ( $r$ ) pomiędzy kumulatywną zawartością dwutlenku węgla ( $\text{mg C-CO}_2 \text{ kg}^{-1}$ ) i zawartością azotanów, przy zróżnicowanych okresach inkubacji  
Table 19. Values for the correlation coefficient ( $r$ ) obtained between the cumulative content of  $\text{CO}_2$  ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) in the headspace of gas and nitrate content in the different days of incubation

Dzień inkubacji	$\text{CO}_2 = f(\text{NO}_3)$	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń
1 dzień inkubacji	$y = 10x^{-1,48}$	-0,365**	n = 57
2 dzień inkubacji	$y = -40827\ln(x)+247,14$	-0,581***	n = 54
3 dzień inkubacji		zależność nieistotna	n = 57
7 dzień inkubacji	$y = 190 - 0,97x$	-0,451***	n = 50
10 dzień inkubacji	$y = -48361\ln(x)+293,71$	-0,734***	n = 47
14 dzień inkubacji	$y = -48127\ln(x)+287,25$	-0,771**	n = 37
21 dzień inkubacji	$y = \exp(5,36 - 0,009x)$	-0,660***	n = 41
końcowy dzień inkubacji	$y = \exp(5,68 - 0,011x)$	-0,645***	n = 45

\*\* istotne przy poziomie 0,01.

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

### 3.3.5.1. Stosunek C zmineralizowanego do N – NO<sub>3</sub> zredukowanego

Rozważania dotychczasowe wyraźnie wskazują na istotną zależność pomiędzy redukcją azotanów do N<sub>2</sub>O a ilością powstałego CO<sub>2</sub> w warunkach przeprowadzonych badań.

Analiza zawartości azotanów w roztworze glebowym i równoległe oznaczenie składu powietrza nad powierzchnią zawiesiny glebowej wykazała, że ubytek azotanów był zawsze wyższy aniżeli produkcja N<sub>2</sub>O, co wskazuje również na redukcję dysymilacyjną azotanów - z wydzieleniem jonu amonowego. A zatem azotany mogły być redukowane zarówno do NH<sub>4</sub><sup>+</sup> jak i produktów gazowych typowych dla denitryfikacji - N<sub>2</sub>O i N<sub>2</sub>. Niniejszy rozdział będzie omówieniem stosunku C zmineralizowanego do N zredukowanego w procesie redukcji całej puli azotanów.

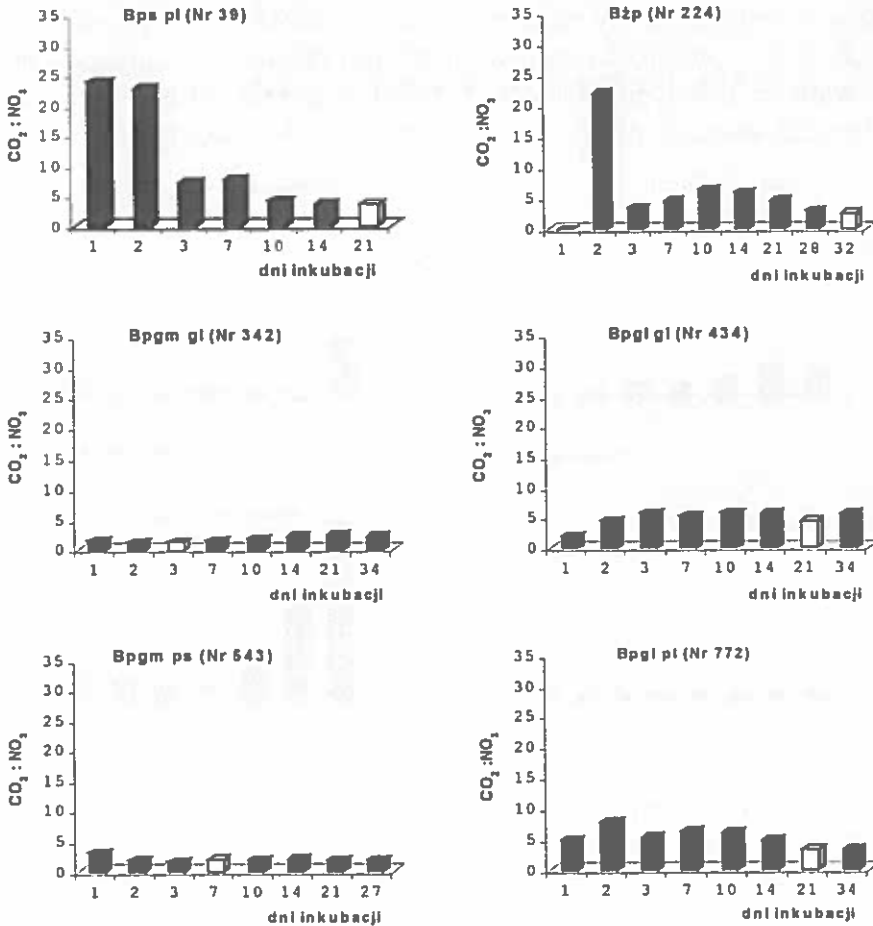
Analiza wariancji stosunku C-CO<sub>2</sub>:N-NO<sub>3</sub> rozłożonego w zależności od skały macierzystej z jakiej powstały analizowane gleby wykazała, że jedynie gleby wytworzone z piasków istotnie różniły się analizowanym stosunkiem węgla zmineralizowanego do azotu zredukowanego, od gleb wytworzonych z glin lub ilów i pyłów. Te ostatnie charakteryzowały się średnim stosunkiem C:N zredukowanego około 3,5, podczas gdy stosunek ten w glebach wytworzonych z piasków wynosił około 7.

Rysunki 42-44 przedstawiają stosunek molowy C-CO<sub>2</sub>:N-NO<sub>3</sub> zredukowanego w glebach w poszczególnych dniach doświadczenia.

Białe słupki oznaczają dzień maksymalnej zawartości N<sub>2</sub>O, czarne – dzień, w którym zawartość azotanu spadła do 0. W niektórych glebach oba te dni pokrywają się, wtedy na rysunku znajduje się tylko słupek jasno szary. Wzrastający stosunek C:N zredukowanego od dnia zerowej zawartości azotanów wynika już tylko ze zwiększającej się ilości produkowanego CO<sub>2</sub>.

Rysunek 42 obrazuje stosunek C-CO<sub>2</sub>:N-NO<sub>3</sub> zredukowanego w glebach wytworzonych z piasków. Jak wykazała wcześniejsza analiza wyników, żadna z gleb piaszczystych nie zredukowała azotanów w 100%. Gleby te natomiast charakteryzuje zróżnicowany stosunek C:N zredukowanego. Najszerszy analizowany stosunek zaobserwowano w glebie Nr 39-Bps pl i 224-Bżp, największy zaś w glebach Nr 342-Bpgm gl i 543-Bpgm ps, w których stosunek ten niewiele przekroczył wartość 2, co mogłoby wskazywać, że znaczna część azotanów została zredukowana w procesie denitryfikacji do

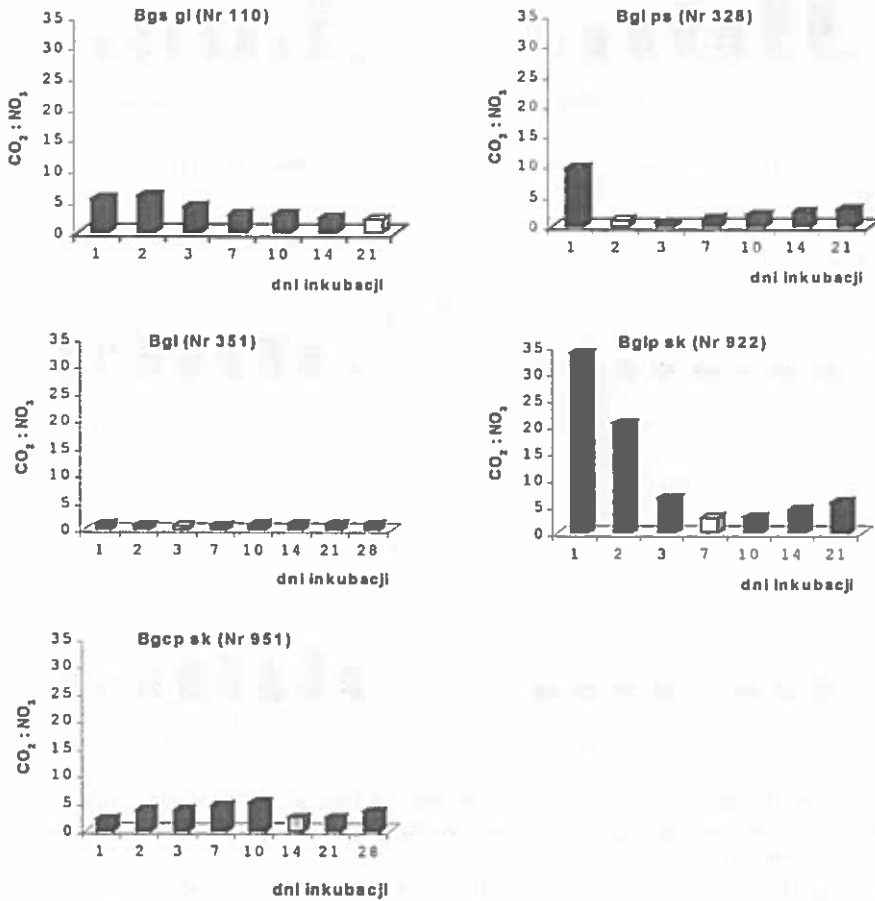
$N_2O$  i  $N_2$ . W pozostałych glebach redukcja azotanów oprócz charakteru denitryfikacyjnego miała również charakter redukcji dysymilacyjnej do  $NH_4$ .



Rys. 42. Dynamika przemian węgla i azotu wyrażona stosunkiem molowym wyemitowanego  $CO_2$  do  $NO_3^-$  rozłożonego w glebach wytworzonych z piasków w poszczególnych dniach inkubacji.

Fig. 42. Dynamics of transformation C and N reflected by the molar ratio of produced  $CO_2$  and decomposed  $NO_3^-$  in the soils developed from sand in the individual days of incubation.

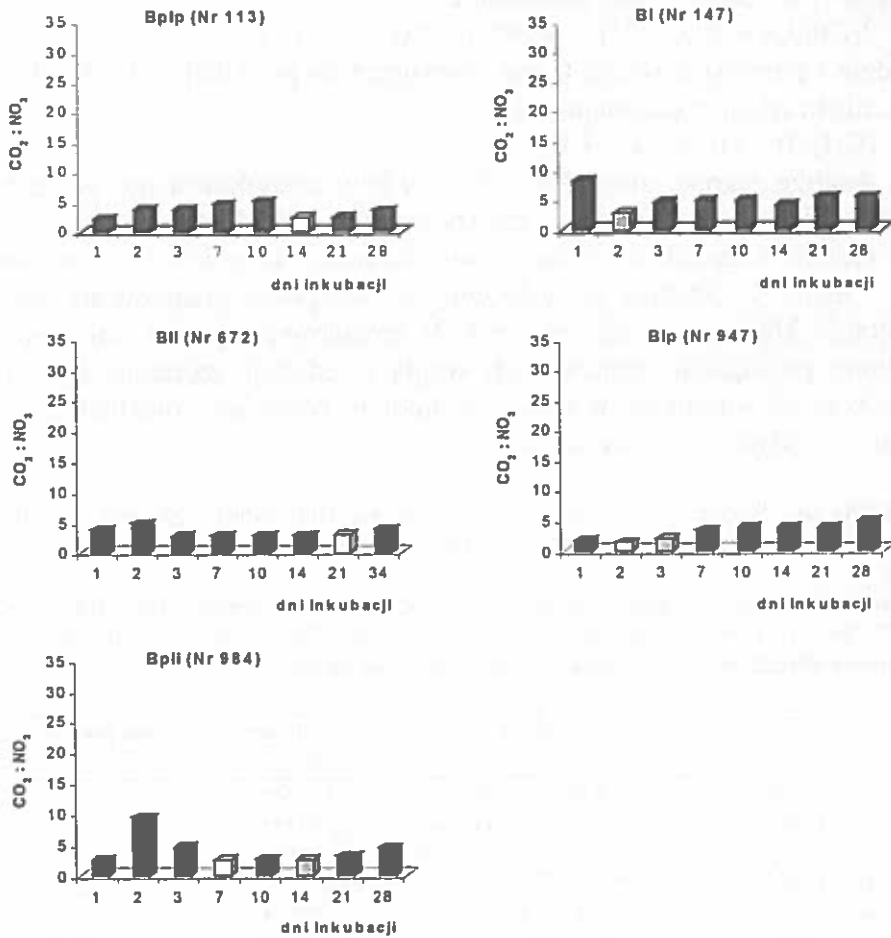
Rysunek 43 przedstawia stosunek  $\text{CO}_2$  do zredukowanego  $\text{NO}_3^-$  w glebach wytworzonych z glin. Wśród tej grupy, tylko jedna gleba nie zredukowała  $\text{NO}_3^-$  całkowicie (Nr 110-Bgs gl). Cztery gleby spośród pięciu analizowanych wykazały mieszany charakter przemian azotanów, w których stosunek C- $\text{CO}_2$ :N- $\text{NO}_3^-$  zredukowanego w niektórych fazach doświadczenia przekraczał wartość 2. Jedynie gleba Nr 351-Bgl wykazała bardzo wąski stosunek C:N zredukowanego poniżej 2 przez cały okres doświadczenia.



Rys. 43. Dynamika przemian węgla i azotu wyrażona stosunkiem molowym wyemitowanego  $\text{CO}_2$  do  $\text{NO}_3^-$  rozłożonego w glebach wytworzonych z glin w poszczególnych dniach inkubacji.

Fig. 43. Dynamics of transformation C and N reflected by the molar ratio of produced  $\text{CO}_2$  and decomposed  $\text{NO}_3^-$  in the soils developed from loam in the individual days of incubation.

Rysunek 44 przedstawia analizowany stosunek  $\text{CO}_2$  do zredukowanego  $\text{NO}_3^-$  w glebach wytworzonych z ilów i pyłów. Przemiany biochemiczne zachodzące w badanych glebach miały podobny charakter do przemian zachodzących w glebach gliniastych z przewagą gleb, w których redukcja  $\text{NO}_3^-$  zachodziła zarówno na drodze denitryfikacji jak i redukcji dysymilacyjnej azotanów do  $\text{NH}_4$ .

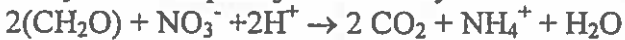


Rys. 44. Dynamika przemian węgla i azotu wyrażona stosunkiem molowym wyemitowanego  $\text{CO}_2$  do  $\text{NO}_3^-$  rozłożonego w glebach wytworzonych z ilów i pyłów w poszczególnych dniach inkubacji.

Fig. 44. Dynamics of transformation C and N reflected by the molar ratio of produced  $\text{CO}_2$  and decomposed  $\text{NO}_3^-$  in the soils developed from silt in the individual days of incubation.

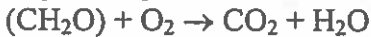
Na podstawie analizowanego stosunku i reakcji omówionych szerzej w rozdziale 3.2.5, w wyniku których powstaje  $N_2O$ , ogólnie można stwierdzić, że źródłem dwutlenku węgla w badanych glebach był nie tylko proces oddychania azotanowego, ale również inne procesy biochemiczne.

Tak więc w warunkach przeprowadzonych badań mogły zachodzić kolejne dwie reakcje z udziałem węgla przyswajalnego. Jedna w warunkach bez-tlenowych lub niepełnej anaerobiozy:



gdzie 1 g przyswajalnego C jest wymagany do produkcji 1,7 g N jako  $NH_4^+$

I druga reakcja z udziałem tlenu:



Analizę regresji stosunku C- $CO_2$ :N- $NO_3$  zredukowanego w funkcji Eh i pH, aktualnej zawartości azotanów oraz ich ubytku -  $\Delta NO_3^-$  a także w funkcji kumulatywnej ilości wydzielonego  $CO_2$  i  $N_2O$ , przedstawiono w Tabeli 20. Analiza ta wykazała, że wszystkie analizowane parametry istotnie korelują ze stosunkiem C:N zredukowanego, innymi słowy wzajemne powiązania mineralizacji węgla i redukcji azotanów były istotnie zależne od warunków w jakich zachodziły przemiany biochemiczne związane z oddychaniem azotanowym.

Tabela 20. . Współczynnik korelacji (r) pomiędzy C- $CO_2$ :N- $NO_3$  i Eh, pH, aktualną zawartością  $NO_3^-$  jego ubytkiem ( $\Delta NO_3^-$ ) a także kumulatywną zawartością  $CO_2$ ,  $N_2O$  ( $mg\ kg^{-1}$ )

Table 20. Values for the correlation coefficient (r) obtained between the ratio of C- $CO_2$ :N- $NO_3$  and pH, Eh values and loss of the concentration of  $NO_3^-$  ( $\Delta NO_3^-$ ), and cumulative content of  $N_2O$  and  $CO_2$  ( $mg\ kg^{-1}$ ) in the headspace of gas

Rodzaj zależności	Funkcja	Współczynnik korelacji	Liczba powtórzeń
C:N = f( $CO_2$ )	$1/y = 0,56 - 0,0006x$	-0,183***	432
C:N = f( $N_2O$ )	$y = \exp(1,23 + 0,015x)$	-0,294***	424
C:N = f( $NO_3^-$ )	$y = \exp(0,43 + 0,0076x)$	0,360***	369
C:N = f( $\Delta NO_3^-$ )	$y = 263x^{-0,41}$	-0,649***	432
C:N = f(Eh)	$y = -21,83 + 0,012x$	0,267***	432
C:N = f(pH)	$y = \exp(2,18 - 0,21x)$	-0,289***	432

\*\*\* istotne przy poziomie 0,001.

Oenena i Veltorof [113] stwierdzili również ujemną korelację stosunku  $CO_2$ : $N_2O$  z wartością pH w badaniach procesu denitryfikacji w gnojowicy.

Paul i Beauchamp [116] stwierdzili w przeprowadzonych badaniach, że jakaś część  $\text{NO}_3^-$  była redukowana do  $\text{NH}_4^+$  poprzez szlak redukcji fermentacyjnej azotanów czyli dysymilacyjną redukcję  $\text{NO}_3^-$  do  $\text{NH}_4^+$ . Proporcje pomiędzy redukcją azotanów na drodze denitryfikacji i fermentacji zależą od aktywności populacji bakterii czynnych w szlakach redukcji denitryfikacyjnej lub fermentacyjnej.

De Catanzaro i wsp. [49] badając proces denitryfikacji w glebie wzbogaconej między innymi lucerną stwierdzili, że mniej niż połowa wniesionego  $\text{NO}_3^-$  była wyemitowana w postaci  $\text{N}_2\text{O}$ . Badania z  $^{15}\text{N}$  wykazały, że połowa azotu w tym wariancie doświadczenia redukowana była do  $\text{NH}_4^+$ , co sugeruje dysymilacyjną redukcję azotanów.

Benckiser [16] stwierdził, że nie zawsze wysokiej zawartości  $\text{N}_2\text{O}$  w glebie towarzyszy wysoka zawartość  $\text{CO}_2$ . Oznacza to, że oprócz dostępności węgla i azotanów inne czynniki kontrolują wydzielanie  $\text{N}_2\text{O}+\text{N}_2$  z miejsca ich produkcji do przestrzeni porów wypełnionych powietrzem i dalej do powierzchni gleby.

Bergstrom i wsp. [17] w pracy swojej dochodzą do wniosku, że istotnymi czynnikami w prognozowaniu produkcji  $\text{N}_2\text{O}$  w warunkach polowych jest zawartość  $\text{NH}_4^+$  w połączeniu z zawartością  $\text{NO}_3^-$ , związków węglowych i ilości  $\text{O}_2$ .

W warunkach polowych w obecności resztek poźniwnych denitryfikacja wzrasta szczególnie w warunkach wysokiej wilgotności i dostatecznej ilości azotanów [10].

Omówiony powyżej stosunek C- $\text{CO}_2$ :N- $\text{NO}_3$ , jak również wcześniej omawiany stosunek azotu wyemitowanego w postaci  $\text{N}_2\text{O}$  i N zredukowanego, wyliczonego z puli zanikających azotanów, dobrze charakteryzują potencjalne zdolności badanych gleb do redukcji azotanów zarówno na drodze denitryfikacji jak i redukcji dysymilacyjnej  $\text{NO}_3^-$  do  $\text{NH}_4$ . A zatem, wyznaczenie pojemności denitryfikacyjnej gleb, jak również analiza redukcji dysymilacyjnej azotanów, z uwzględnieniem wpływu wszystkich czynników analizowanych w niniejszej pracy, mogą być bardzo przydatne w prognozowaniu emisji gazów szklarniowych, jak również strat azotu z punktu widzenia rolniczego.

#### 4. WNIOSKI

1. Przeprowadzone badania nad denitryfikacją - redukcją dysymilacyjną azotanów - w glebach brunatnych dają podstawę do wyznaczenia ich pojemności denitryfikacyjnej, uwzględniającej rozmiary powstałych stąd strat azotu z punktu widzenia praktyki rolniczej i ochrony środowiska naturalnego. Przy tym uzyskany materiał dokumentacyjny pozwala na weryfikację badanej cechy gleby w funkcji wielu analizowanych czynników: rodzaj gleby brunatnej, C-CO<sub>2</sub>, pH, E<sub>h</sub>, N-NO<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O, N<sub>2</sub>.

2. Wykazano, że badane gleby są zarówno emitorami (kumulatywna ilość wydzielonego N<sub>2</sub>O wahała się od 11,4 do 66,5 mg N<sub>2</sub>O-N kg<sup>-1</sup> gleby), jak i reduktorami podtlenu azotu. Dobowy ubytek N<sub>2</sub>O wahał się od 1,3 - 66,5 mg N<sub>2</sub>O-N d<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> gleby (więcej niż dobowe wydzielanie CO<sub>2</sub>-pkt 8).

2.a. Wśród badanych gleb wyróżniono gleby intensywnie generujące i redukujące N<sub>2</sub>O, intensywnie generujące i słabo redukujące N<sub>2</sub>O oraz gleby słabo generujące i słabo redukujące N<sub>2</sub>O. Zakres redukcji N<sub>2</sub>O wahał się od 10 do 100% w zależności od rodzaju gleby i czasu inkubacji.

3. Produkcja i redukcja N<sub>2</sub>O jest istotnie nieliniowo skorelowana z potencjałem redoks. Współczynnik determinacji dla fazy powstawania podtlenu azotu równa się 0,906 i dla fazy jego redukcji 0,966. Analiza powstawania i redukcji podtlenu azotu w funkcji potencjału redoks pozwoliła wyznaczyć wartości graniczne dla produkcji N<sub>2</sub>O (250 mV) i redukcji N<sub>2</sub>O (około 200mV).

3.a. Wykazano, że potencjał redoks był ujemnie skorelowany z wartością pH badanych gleb (dla R<sup>2</sup>=0,685).

3.b. Wraz ze spadkiem zawartości azotanów w zakresie od około 100 do około 10 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup>, potencjał redoks obniżał się od 250 do 190 mV. Wartością graniczną, której towarzyszy wyraźny spadek wartości Eh jest wartość około 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N kg<sup>-1</sup>. Najwyższa dobową redukcja azotanów przypada na wartość Eh w wąskim zakresie pomiędzy 200 a 210 mV.

3.c. Stwierdzono, że istotność wpływu składu granulometrycznego, na wartość Eh zmniejsza się wraz z wielkością cząstek glebowych w zakresie od frakcji iłu koloidalnego do frakcji iłu grubego. Spadek potencjału oksydoredukcyjnego badanych gleb wynosił: w glebach wytworzonych z pia-



sków i glin odpowiednio 32 - 112 i 27 - 111mV, podczas gdy w glebach wytworzonych z pyłów i iłów od 90 do 186 mV.

4. Produkcja i redukcja  $N_2O$  jest istotnie nieliniowo skorelowana z pH badanych gleb. Optimum wydzielania  $N_2O$  w badanych glebach zaobserwowano w bardzo szerokim zakresie pH od 4,5 do 7,27, z przewagą gleb w zakresie pH 4,5 do 5, następnie w zakresie pH od 5 do 6. A zatem, maksymalna produkcja podtlenku azotu zachodzi w zakresie pH przypisywanego glebom kwaśnym i lekko kwaśnym, redukcja zaś w zakresie odczynu lekko kwaśnego i obojętnego. W przebiegu całego doświadczenia zaobserwowano tendencję obniżania się wartości pH gleb zasadowych i obojętnych a wzrost pH gleb silnie kwaśnych i kwaśnych.

5. Badane gleby wykazały zróżnicowaną aktywność w redukcji azotanów; w których redukcja  $NO_3^-$  przebiegała równoległe z redukcją  $N_2O$ , jak i gleby, w których redukcja  $N_2O$  rozpoczynała się po wyczerpaniu azotanów. Redukcja podtlenku azotu zachodziła w szerokim zakresie zawartości azotanów, od 100 mg N- $N_2O$   $kg^{-1}$  gleby do zera.

5.a. Zakres ilości zredukowanych azotanów wahał się od 22 do 100 % w zależności od rodzaju gleby i czasu inkubacji. Średnio gleby wytworzone z piasków zredukowały około 43% całej puli azotanów, gleby wytworzone z glin około 94% i gleby pylasto-ilaste około 76%.

5.b. Potwierdzono hamujący wpływ  $NO_3^-$  na redukcję  $N_2O$ . W warunkach przeprowadzonych badań dobową dynamikę emisji  $N_2O$  znacznie wzrosła przy zawartości azotanów poniżej 100 mg N- $N_2O$   $kg^{-1}$  gleby.

5.c. W warunkach przeprowadzonego doświadczenia istotne znaczenie w procesie redukcji azotanów miało wyjściowe pH badanych gleb. Zawartość azotanów malała liniowo wraz ze wzrastającą wartością pH.

6. Stwierdzono wzrost procentowego udziału  $N_2O$  w puli zredukowanych azotanów w miarę upływu czasu. Czynniki, które w warunkach przeprowadzonych badań decydowały o tym zjawisku jest odczyn środowiska, rodzaj gleby, stopień natlenienia i skład gatunkowy drobnoustrojów.

6.a. Stwierdzono, że stosunek  $N_2O:(N_2+NH_4^+)$  daje pełniejszy obraz przemian jakie towarzyszą wprowadzonym do gleby azotanom, niż analizowanie tylko stosunku  $N_2O:N_2$ .

7. Produkcja i redukcja podtlenku azotu były silnie skorelowane z mineralizacją materii organicznej.

7.a. Wydzielanie  $N_2O$  było silnie liniowo skorelowane z wydzielaniem  $CO_2$  ( $R^2=0,906$ ). Stosunek molowy  $CO_2:N_2O$  wynosił około 6, co sugeruje, że podtlenek azotu nie był jedynym produktem redukcji azotanów.

7.b. Redukcji  $N_2O$  była silnie nieliniowo skorelowana z ilością  $CO_2$  ( $R^2=0,913$ ), gdzie wysokiej emisji dwutlenku węgla (powyżej 200 mg  $C-CO_2 \cdot kg^{-1}$  gleby) towarzyszyła silna redukcja podtlenku azotu (niekiedy do zera), wskazująca na wysoką aktywność mikrobiologiczną badanych gleb.

8. Mineralizacja substancji organicznych przebiegała w badanych glebach z różnym nasileniem w granicach od 1,3 do 23,2 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$  i była istotnie skorelowana z potencjałem redoks, materią organiczną, pH gleby oraz składem mechanicznym gleb.

8.a. Analiza statystyczna wykazała zależność pomiędzy ilością wyemitowanego  $CO_2$  i zmianą potencjału oksydoredukcyjnego w badanych glebach ( $R^2=0,871$ ). Zależność tę opisują następujące zakresy wartości Eh i poziom wydzielanego  $CO_2$  dla piasków, od około +200 do +275 mV i emisji  $CO_2$  do około 200 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby, glin od około +160 do +245 mV i emisji  $CO_2$  do około 560 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby oraz iltów i pyłów od około +100 do +220 mV i emisji  $CO_2$  do około 580 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby.

8.b. Pomimo zmieniającego się tempa emisji  $CO_2$  w doświadczalnym okresie, kumulatywna ilość tego gazu pozostawała w ścisłej korelacji z zawartością wyjściową materii organicznej.

8.c. Produkcja dwutlenku węgla wzrasta liniowo wraz ze wzrastającą wartością pH do około 6 ( $R^2=0,804$ ), tracąc liniowość w zakresie wartości od 6 do 8 ( $R^2=0,552$ ). Nie stwierdzono jedynie istotnego wpływu pH na aktywność respiracyjną w glebach piaszczystych.

8.d. Najniższą produkcją  $CO_2$  charakteryzowały się gleby wytworzone z piasków (średnio około 75 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby, znacznie wyższą gleby wytworzone z glin (średnio około 130 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby) najwyższą - gleby iltowe i pylaste (średnio około 210 mg  $CO_2-C \cdot kg^{-1}$  gleby).

8.e. Stwierdzono wpływ poszczególnych frakcji gleby na proces oddychania. Szczególnie istotna jest zawartość frakcji piasku, przyrostowi której odpowiada obniżenie wydzielania  $CO_2$  natomiast przyrostowi frakcji drobniejszych, to jest pyłu i iltu - wzmożenie tego procesu.

8.f. Analiza statystyczna otrzymanych wyników dowodzi istotnego wpływu zawartości  $NO_3^-$  na proces oddychania badanych gleb. ( $R^2=0,763$ ) Zawartość kumulatywna  $CO_2$  wzrasta liniowo wraz z redukcją azotanów.

9. Wszystkie frakcje składu mechanicznego gleby wpływały istotnie na ilość wydzielanego podtlenku azotu. Ilość wydzielanego  $N_2O$  jest odwrotnie proporcjonalna do zawartości frakcji piasku i wprost proporcjonalna do zawartości iltu grubego i drobnego oraz iltu pyłowego grubego. Wyznaczono optymalną zawartość frakcji iltu pyłowego drobnego i iltu koloidalnego (3 do 9%), przy której emisja  $N_2O$  jest najwyższa.

9.a. Wydaje się więc słuszne stwierdzenie, że wśród badanych gleb, gleby lekkie mogą stanowić najmniejsze zagrożenie środowiska naturalnego człowieka emisją podtlenku azotu.

9.b. Analiza statystyczna ilości wyprodukowanego i zasorbowanego podtlenku azotu wskazuje, że istnieje istotna różnica tylko pomiędzy glebami wytworzonymi z piasku i pozostałymi glebami.

10. Na podstawie przeprowadzonych badań wyznaczono stosunek C zmineralizowanego do N zdenitryfikowanego i C zmineralizowanego do N zredukowanego w procesie redukcji azotanów ( $CO_2:NO_3^-_{zred}$ ). Wartości te określają charakter przemian biochemicznych a zwłaszcza - potencjalną zdolność denitryfikacyjną gleb, wykazując równocześnie ich zdolność do redukcji podtlenku azotu, jak również do redukcji azotanów.

10.a. Stosunek C- $CO_2:N-N_2O$  wykazuje korelację z analizowanymi parametrami, za wyjątkiem wartości pH w fazie redukcji podtlenku azotu. Zwraca uwagę bardzo wysoki współczynnik korelacji pomiędzy stosunkiem C- $CO_2:N-N_2O$  a emisją i redukcją podtlenku azotu (odpowiednio  $r = -0,91$  i  $-0,98$ ). Wysoki współczynnik zależności stwierdzono również w przypadku potencjału redoks.

10.b. Analiza regresji stosunku C- $CO_2:N-NO_3^-$  zredukowanego w funkcji Eh i pH, aktualnej zawartości azotanów oraz ich ubytku -  $\Delta NO_3^-$  a także w funkcji kumulatywnej ilości wydzielonego  $CO_2$  i  $N_2O$ , wykazała, że wszystkie analizowane parametry istotnie korelują ze stosunkiem C:N zredukowanego, innymi słowy wzajemne powiązania mineralizacji węgla i redukcji azotanów były istotnie zależne od warunków w jakich zachodziły przemiany biochemiczne związane z oddychaniem azotanowym.

10.c. Analiza wariancji stosunku C- $CO_2:N-NO_3^-$  rozłożonego w zależności od skały macierzystej z jakiej powstały analizowane gleby wykazała, że jedynie gleby wytworzone z piasków (C:N=3,5) istotnie różniły się od gleb wytworzonych z glin lub iltów i pyłów (C:N=7).

11. Na podstawie analizowanych stosunków węgla podlegającego mineralizacji i przemian azotu azotanowego w wyniku których powstaje  $N_2O$ ,  $N_2$

oraz  $\text{NH}_4^+$  ogólnie można stwierdzić, że źródłem dwutlenku węgla w badanych glebach był nie tylko proces oddychania azotanowego, ale również inne procesy biochemiczne.

12. Uzyskane wyniki badań, przy zastosowaniu wprowadzonej metodyki, powinny być pomocne w opracowaniu sposobów przeciwdziałających niekorzystnym przemianom węgla i azotu w badanych glebach.

## 5. LITERATURA

1. **Abbadie L., Lensi R.:** Carbon and nitrogen mineralization and denitrification in humid savanna of West Africa. *Acta Ecologica*, 11(5), 717-728, 1990.
2. **Abou-Seada M.N.I., Ottow J.G.C.:** Effect of increasing oxygen concentration on total denitrification and nitrous oxide release from soil by different bacteria. *Biol. Fertil. Soils*, 1, 31-38, 1985.
3. **Alexander M.:** Introduction to soil microbiology. Wiley, N.Y., 1977.
4. **Ambus P., Lowrance R.:** Comparison of denitrification in two riparian soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 55, 994-997, 1991.
5. **Amundson R.G., Davidson E.A.:** Carbon dioxide and nitrogenous gases in the soil atmosphere. *J. Geochem. Explor.*, 38, 13-41, 1990.
6. **Arah J.R.M., Smith K.A.:** Factors influencing the fraction of the gaseous products of soil denitrification evolved to the atmosphere as nitrous oxide. In: *Soil and the greenhouse effect. Proc. of the Int. Conf. Soils and the Greenhouse Effect. International Soil Reference and Information Centre (ISRIC).* (Ed Bouwman A.F.). John Wiley and Sons, New York, 475-480, 1990.
7. **Arah J.R.M., Smith K.A., Crichton I.J., Li H.S.:** Nitrous oxide production and denitrification in Scottish arable soils. *J. Soil Sci.*, 42, 351-367, 1991.
8. **Aulakh M.S., Rennie D.A., Paul E.A.:** The effect of various clover management practices on gaseous nitrogen losses and mineral nitrogen accumulation. *Can. J. Soil Sci.*, 63, 593-605, 1983.
9. **Aulakh M.S., Rennie D.A., Paul E.A.:** Gaseous nitrogen losses from soils under zero-till as compared with conventional-till management systems. *J. Environ. Qual.*, 13, 130-136, 1984.
10. **Aulakh M.S., Doran J.W., Mosier A.R.:** Field evaluation of four methods for measuring denitrification. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 55, 1332-1338, 1991.
11. **Aulakh M.S., Doran J.W., Mosier A.R.:** Soil denitrification-significance, measurement, and effects of management. In: *Advances in Soil Science* (Ed B.A. Stewart). Springer, New York, 1-75, 1992.

12. **Bailey L.D., Beauchamp E.G.:** Nitrate reduction, and redox potentials measured with permanently and temporarily placed platinum electrodes in saturated soils. *Can. J. Soil Sci.*, 51, 51, 1971.
13. **Banin A.:** Global budget of  $N_2O$ . The role of soils and their change. *Sci. Total Environ.*, 55, 27-38, 1986.
14. **Barabasz W.:** Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. I. Biogeochemia azotu glebowego. *Post. Mikrobiol.*, XXX(4), 395-409, 1991.
15. **Barabasz W.:** Mikrobiologiczne przemiany azotu glebowego. I. Biotransformacja azotu glebowego. *Post. Mikrobiol.*, XXXI(1), 3-30, 1992.
16. **Benckiser G.:** Relationships between field-measured denitrification losses,  $CO_2$  formation and diffusional constraints. *Soil Biol. Biochem.*, 26(7), 891-899, 1994.
17. **Bergstrom D.W., Tenuta M., Beauchamp E.G.:** Increase in nitrous oxide production in soil induced by ammonium and organic carbon. *Biol. Fertil. Soils.*, 18, 1-6, 1994.
18. **Betlach M.R., Tiedje J.M.:** Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide, and nitrous oxide during bacterial denitrification. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42, 1074-1084, 1981.
19. **Blackmer A.M., Bremner J.M.:** Potential of soil sink for atmospheric nitrous oxide. *Geophys. Res. Lett.*, 3, 739-742, 1976.
20. **Blackmer A.M., Bremner J.M.:** Inhibitory effect of nitrate on reduction of  $N_2O$  to  $N_2$  by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, 10, 187-191, 1978.
21. **Blackmer A.M., Bremner J.M.:** Stimulatory effect of nitrate on reduction of  $N_2O$  to  $N_2$  by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 313-315, 1979.
22. **Blaszczyk M., Mycielski R., Jaworska-Deptuch H., Brzostek K.:** Effect of Various Sources of Organic Carbon and High Nitrite and Nitrate Concentration on the Selection of Denitrifying Bacteria. I. Stationary Cultures. *Acta Microbiologica Polonica*, 29(4), 397-406, 1980.
23. **Blaszczyk M., Przytocka-Jusiak M., Kruszewska U., Mycielski R.:** Denitrification of High Concentration of Nitrites and Nitrates in Synthetic Medium with Different Sources of Organic Carbon I. Acetic Acid. *Acta Microbiologica Polonica*, 30(1), 49-58, 1981.
24. **Blaszczyk M.:** Effect of Various Sources of Organic Carbon and High Nitrite and Nitrate Concentration on the Selection of Denitrifying Bacte-

- ria. II. Continuous Cultures in Packed Bed Reactor. *Acta Microbiologica Polonica*, 32(1), 65-71, 1983.
25. **Błaszczuk M., Galka E., Sakowicz E., Mycielski R.:** Denitrification of High Concentration of Nitrites and Nitrates in Synthetic Medium with Different Sources of Organic Carbon III. Methanol. *Acta Microbiologica Polonica*, 34, 195-206, 1985.
  26. **Błaszczuk M.:** Comparison of Denitrification by *Paracoccus denitrificans*, *Pseudomonas stutzeri* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Acta Microbiologica Polonica*, 41(3/4), 203-210, 1992.
  27. **Błaszczuk M., Jastrzębska E., Mycielski R.:** On the Role of Bacterial Inoculum Growth Conditions on Nitrate Denitrification Pathway. *Acta Microbiologica Polonica*, 44(2), 197-200, 1995.
  28. **Błaszczuk M.:** Denitrifying Sediment Bacteria from Man-made Reservoir of Fertiliser Nitrogen Plant Wastewater (RFNPW). *Acta Microbiologica Polonica*, 46(3), 313-323, 1997.
  29. **Bohn H.L.:** Redox potentials. *Soil Sci.* 112(1), 39-45, 1970.
  30. **Bollag J.M., Drzymala S., Kardas L.T.:** Biological versus chemical nitrite decomposition in soil. *Soil Sci.*, 116, 44-50, 1973.
  31. **Bonin P., Gilewicz, M., Bertrand, J.:** Effects of oxygen on each step of denitrification on *Pseudomonas nautica*. *Can. J. Microbiol.*, 35, 1061-1064, 1989.
  32. **Bouwman A.F.:** Soil and the Greenhouse Effect. John Wiley and Sons. Chichester, 1990a.
  33. **Bouwman A.F.:** Exchange of greenhouse gases between terrestrial ecosystem and the atmosphere 4.5. nitrous oxide In: Soil and the greenhouse effect. Proc. of Int. Conf. Soils and the Greenhouse Effect. International Soil Reference and Information Centre (ISRIC). (Ed A.F. Bouwman). 1990b.
  34. **Bremner J.M.:** Effect of soil processes on the atmospheric concentration of nitrous oxide. In: Nitrogen in the Environment. (Eds D.R. Nielsen & J.G. MacDonald). Academic Press, New York, NY., 1, 477-491, 1978.
  35. **Bremner J.M.:** Sources of nitrous oxide in soils. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 49, 7-16, 1997.
  36. **Broadbent F.E.:** Denitrification in some California soil. *Soil Sci.*, 72, 129-137, 1951.

37. **Buresh R.J., Patrick J.R.:** Nitrate reduction of ammonium in anaerobic soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 913-918, 1978.
38. **Burford J.R., Bremner J.M.:** Relationships between the denitrification capacities of soils and total water soluble and readily decomposable soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 7, 389-394, 1975.
39. **Burton D.L., Beauchamp E.G.:** Denitrification rate relationship with soil parameters in the field. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.*, 16, 539-549, 1985.
40. **Cates R.L., Keeney D.R.:** Nitrous oxide production throughout the year from fertilised manured maize fields. *J. Environ. Qual.*, 16, 443-447, 1987.
41. **Cho C.M., Sakdinan L.:** Mass spectrometric investigation on denitrification. *Can. J. Soil Sci.*, 58, 443-457, 1978.
42. **Cho C.M., Mills J.G.:** Kinetic formulation of the denitrification process in soil. *Can. J. Soil Sci.*, 59, 249-257, 1979.
43. **Christensen S.:** Denitrification in a sandy loam soil as influenced by climatic and soil conditions. *Tidsskr. Planteavl.*, 89, 351-365, 1985.
44. **Cicerone R.J.:** Analysis of sources and sinks of atmospheric nitrous oxide ( $N_2O$ ). *J. Geophys. Res.*, 94, 18265-18271, 1989.
45. **Colbourn P., Harper I.W.:** Denitrification in drained and undrained arable clay soil. *J. Soil Sci.*, 38, 531-540, 1987.
46. **Conrad R., Seiler W., Bunse G.:** Factors influencing the loss of fertiliser nitrogen in the atmosphere as  $N_2O$ . *J. Geophys. Res.*, 88, 6709-6718, 1983.
47. **Daniel R.M., Grey J.:** Nitrate reductase from anaerobically grown *Rhizobium japonicum*. *J. Gen. Microbiol.*, 96, 247, 1976.
48. **Davidson E.A., Swank W.T., Perry T.O.:** Distinguishing between nitrification and denitrification as sources of gaseous nitrogen production in soil. *App. Environ. Microbiol.*, 52, 1280-1286, 1986.
49. **DeCatanzaro J.B., Beauchamp E.G., Drury C.F.:** Denitrification vs dissimilatory nitrate reduction in soil with alfalfa, straw, glucose and sulphide treatments. *Soil Biol. Biochem. Vol.*, 19(5), 583-587, 1987.
50. **Delwiche C.C.:** The nitrogen cycle and nitrous oxide. In: Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. (Ed C.C. Delwiche). John Wiley New York, 1-15, 1981.



51. **Dowdell R.J., Burford J.R., Crees R.:** Losses of nitrous oxide dissolved in drainage water from agricultural land. *Nature*, 278, 342-343, 1979.
52. **Eichner M.J.:** Nitrous oxide emission from fertilized soils: Summary of available data. *J. Environ. Qual.*, 19, 272-280, 1990.
53. **Erich M.S., Bekerie A.:** Activities of denitrifying enzymes in freshly sampled soils. *Soil Sci.*, 138, 25-32, 1984.
54. **Fenchel T., Blackburn T.H.:** *Bacteria and Mineral Cycling*, Academic Press, London, Chapter 5, 1979.
55. **Fillery I.R.P.:** Biological denitrification. In: *Gaseous loss of nitrogen from plant soil systems. Developments in Plant and Soil Sciences* (Eds J.R. Frey and J.R. Simpson) The Hague. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk., 9, 33-64, 1983.
56. **Firestone M.K., Tiedje J.M.:** Temporal change in nitrous oxide and dinitrogen from denitrification following onset of anaerobis. *App. Environ. Microbiol.*, 38, 673-679, 1979.
57. **Firestone M.K., Firestone R.B., Tiedje J.M.:** Nitrous oxide from soil denitrification: Factors controlling its biological production. *Science*, 208, 749-751, 1980.
58. **Firestone M.K.:** Biological denitrification. In: *Nitrogen in agricultural soils.* (Ed F.J. Stevenson) Number 22 in the series agronomy. American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc. Publisher Madison, Wisconsin USA, 289-326, 1982.
59. **Focht D.D.:** The effect of temperature, pH and aeration on production of nitrous oxide and gaseous nitrogen - a zero order kinetic model. *Soil Sci.*, 118, 173-179, 1974.
60. **Fotyma M., Mercik S., Faber A.:** *Chemiczne Podstawy Żyzności Gleb i Nawożenia.* PWRiL, W-wa, 1987.
61. **Freney J.R., Denmead, O.T., Simpson J.R.:** Soil as a source or sink for atmospheric nitrous oxide. *Nature*, 273, 530-532, 1978.
62. **Freney J.R., Simpson J.R., Denmead O.T., Muirhead W.A., Leuning R.:** Transformation and transfer of nitrogen after irrigation a cracking clay soil with a urea solution. *Aust. J. Agric. Res.*, 36, 685-694, 1985.
63. **Freney J.R.:** Emission of nitrous oxide from soils used for agriculture. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 49, 1-6, 1997.

64. **Galsworthy A.M., Burford J.R.:** A system for measuring the rates of evolution of nitrous oxide and nitrogen from incubated soil during denitrification. *J. Soil Sci.*, 29, 537-550, 1978.
65. **Gaskell J.F., Blackmer A.M., Bremner J.M.:** Comparison effect of nitrate, nitrite and nitric oxide on reduction of nitrous oxide to dinitrogen by soil microorganisms. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45, 1124-1127, 1982.
66. **Gliński J., Stępniewski W.:** Soil aeration and its role for plants. CRC Press Inc., 1985.
67. **Gliński J., Stępniewska Z.:** An evaluation of soil resistance to reduction processes. *Polish J. Soil Sci.* X(1-2), 15-19, 1986.
68. **Golebiowska J.:** *Mikrobiologia Rolnicza*. PWRiL. Warszawa, 1986.
69. **Granli T., Bøckman O.:** Nitrous oxide from agriculture. *Norw. J. Agricultural. Sci. Suppl.*, 12, 1994.
70. **Groffman P.M., Tiedje J.M.:** Relationships between denitrification, CO<sub>2</sub> production and air-filled porosity in soils of different texture and drainage. *Soil Biol. Biochem.*, 23, 299-302, 1991.
71. **Grundman G.L., Lensi R., Chalamet A.:** Delayed NH<sub>3</sub> and N<sub>2</sub>O uptake by maize leaves. *New Phytol.*, 124, 259-263, 1993.
72. **Haavisto V. F.:** Effects of heavy rainfall on redox potential and acidity of waterlogged peat. *Can. J. Soil Sci.*, 54(2), 133-135, 1974.
73. **Hansen S., Maehlum J.B., Bakken L.R.:** N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> fluxes in soil influenced by fertilization and tractor traffic. *Soil Biol. Biochem.*, 25(5), 621-630, 1993.
74. **Hao W.M., Scharffe D., Crutzen P.J., Sanhueza E.:** Production of N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> from soils in the tropical savanna during the dry season. *J. Atmosph. Chem.*, 7, 93-105, 1988.
75. **Horn R., Stępniewski W., Włodarczyk T., Walenzik G., Eckhard F.E.W.:** Denitrification rate and microbial distribution within homogeneous model soil aggregates. *Int. Agrophysics*, 8, 65-74, 1994.
76. **IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change).** *Climate Change 1995. The supplementary report to the IPCC Scientific Assessment.* (Ed J.T. Houghton, B.A. Callander & S.K. Varney) Cambridge University Press, Cambridge, 1995.
77. **Jones E.J.:** Loss of elemental nitrogen from soil under anaerobic conditions. *Soil Sci.*, 71, 193-196, 1951.

78. **Klemedtsson L., Svenson B.H., Lindberg T., Rosswall T.:** The use of acetylene inhibition of nitrous oxide reductase in quantifying denitrification in soils. *Swed. J. Agric. Res.*, 7, 179-185, 1977.
79. **Klemedtsson L., Svensson B.H.:** Effects of acid deposition on denitrification and N<sub>2</sub>O emission from forest soils. In: *Critical loads for sulphur and nitrogen*. (Eds J. Nilsson, P. Grennfelt), Miljörapport, Copenhagen, 15, 343-362, 1988.
80. **Klemedtsson L., Svensson B.H., Rosswall T.:** Relationship between soil moisture content and nitrous oxide production during nitrification and denitrification. *Biol. Fertil. Soils*, 6, 106-111, 1988.
81. **Knapp E.B., Elliott L.F., Campbell G.S.:** Microbial respiration and growth during the decomposition of wheat straw. *Soil Biol. Biochem.*, 15, 319-323, 1983.
82. **Knowles R.:** Denitrification. In: *Terrestrial Nitrogen Cycles* (Eds F.E. Clark and T.D. Rosswall). *Ecological Bulletin*, Stockholm, 33, 315-329 1981.
83. **Knowles R.:** Denitrification. *Microbiological Reviews*, 43-70, 1982.
84. **Koskinen W.C., Keeney D.R.:** Effect of pH on the rate of gaseous products of denitrification in a silt loam soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46, 1165-1167, 1982.
85. **Kotelko K., Sedlaczek L., Lachowicz T.M.:** *Biologia bakterii*. PWN, W-wa, 1984.
86. **Kralova M., Masscheleyn P.H., Lindau C.W., Patrick W.H. jr.:** Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redox potential. *Water, Air, Soil Pollut.*, 61, 37-45, 1992.
87. **Kroeze C., Van Faassen H.G., De Ruiter P.C.:** Potential denitrification rates in acid soils under pine forest. *Neth. J. Agric. Sci.*, 37, 345-354, 1989.
88. **Kroeze C.:** Nitrous oxide and global warming. *Sci. Total Environ.*, 143, 1193-209, 1994.
89. **Lensi R., Chalamet A.:** Absorption of nitrous oxide by shoots of maize. *Plant Soil*, 59, 91-98, 1981.
90. **Letey J., Hadas A., Valoras N., Focht D.D.:** Effect of air-filled porosity, nitrate concentration, and time on the ratio of N<sub>2</sub>O/N<sub>2</sub> evolution during denitrification. *J. Environ. Qual.*, 9, 227-231, 1980.

91. **Letey J., Hadas A., Valoras N., Focht D.D.:** Effect of preincubation treatments on the ratio of  $N_2O/N_2$  evolution. *J. Environ. Qual.*, 9, 232-235, 1980.
92. **Letey J., Valoras N., Focht D.D., Ryden J.C.:** Nitrous oxide production and reduction during denitrification as affected by redox potential. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 45, 727-730, 1981.
93. **Li C., Frolking S., Frolking T.A.:** A model nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events; 1. Model structure and sensitivity. *J. Geophys. Res.*, 97, 9759-9776, 1992.
94. **Li C., Frolking S., Frolking T.A.:** A model nitrous oxide evolution from soil driven by rainfall events; 2. Model applications. *J. Geophys. Res.*, 97, 9777-9783, 1992.
95. **Limmer A.W., Steele K.W.:** Denitrification potentials: measurement of seasonal variation using a short-term anaerobic incubation technique. *Soil Biol. Biochem.*, 14, 179-184, 1982.
96. **Malhi S.S., McGill W.B., Nyborg M.:** Nitrate losses in soils: effect of temperature, moisture and substrate concentration. *Soil Biol. Biochem.*, 22, 733-737, 1990.
97. **Masscheleyn P.H., DeLaune R.D., Patrick W.H.:** Methane and nitrous oxide emissions from laboratory measurements of rice soil suspension - effect of soil oxidation-reduction status. *Chemosphere*, 26, 251-260, 1993.
98. **Matson P.A., Vitousek P.M., Livingstone G.P., Swanberg N.A.:** Sources of variation in nitrous oxide flux from Amazonian ecosystems. *J. Geophys. Res.*, 95, 16789-16798, 1990.
99. **McCarty G.W., Bremner J.M.:** Availability of organic carbon for denitrification of nitrate in subsoils. *Biol. Fertil. Soils*, 14, 219-22, 1992.
100. **Mc Kenney D.J., Shuttleworth K.F., Findlay W.I.:** Nitrous oxide evolution rates from fertilized soil: Effects of applied nitrogen. *Can. J. Soil Sci.*, 60, 429-438, 1980.
101. **Mercik S., Moskal S., Stępień W.:** Emisja do atmosfery podtlenku azotu  $N_2O$  z użytków rolniczych w Polsce w aspekcie efektu cieplarnianego. *Rocz. Glebozn.*, 46(1/2), 135-148, 1995.
102. **Minami K., Fukushima S.:** Methods for measuring nitrous oxide flux from water surface and nitrous oxide dissolved in water from agricultural land. *Soil Sci. Plant Nutr.*, Tokyo, 30, 495-502, 1984.

103. **Minami K.:** Emission of nitrous oxide from agro-ecosystem. *JARQ, Japan Agricul. Res. Quarterly*, 21, 21-27, 1987.
104. **Minami K., Ohsawa A.:** Emission of nitrous oxide dissolved in drainage water from agricultural land. In: *Soil and the greenhouse effect.* (Ed A.F. Bouwman ). John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 503-509, 1990.
105. **Mosier A.R., Hutchinson B.R.:** Nitrous oxide emission from cropped field. *J. Environ. Qual.*, 10, 169-173, 1981.
106. **Mulvaney R.L., Kurtz L.T.:** Evolution of dinitrogen and nitrous oxide from nitrogen-15 fertilized soil cores subjected to wetting and drying cycles. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, 596-602, 1984.
107. **Murakami T.N., Kumazowa K.:** The effects of soil conditions and nitrogen form on nitrous oxide evolution by denitrification. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 33, 35-42, 1987.
108. **Murray R.E., Parsons L.L., Scott Smith M.:** Kinetics of nitrate utilization by mixed populations of denitrifying bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 717-721, 1989.
109. **Müller M.M, Subderman V., Skujins J.:** Denitrification in low pH Spodosols and peats determined with the acetylene inhibition method. *App. Environ. Microbiol.*, 40, 235-239, 1980.
110. **Myśków W.:** Procesy zachodzące przy przemianach związków azotowych w glebie. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa. Puławy, 1975.
111. **Nägele W., Conrad R.:** Influence of pH on the release of NO and N<sub>2</sub>O from fertilized and unfertilized soil. *Biol. Fertil. Soils*, 10, 139-144, 1990.
112. **Nugroho S.G., Kuwatsuka S.:** Concurrent observation of several processes of nitrogen metabolism in soil amended with organic materials. 2. Effect of farmyard manure on ammonification, nitrification, denitrification and N<sub>2</sub>-fixation at different levels of soil moisture. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 38 593-600, 1992.
113. **Oenena O., Veltorof G.L.:** Denitrification in nitric-acid-treated cattle slurry during storage. *Neth. J. Agric Sci.*, 41, 63-80, 1993.
114. **Parkin T.B., Tiedje J.M.:** Application of soil core method to investigate the effect of oxygen concentration on denitrification. *Soil Biol. Biochem.*, 16, 331-334, 1984.

115. **Pattern D.K., Bremner J.M., Blackmer A.M.:** Effects of drying and air-dry storage of soils on their capacity for denitrification of nitrite. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 67-70, 1980.
116. **Paul J.W., Beauchamp E.G.:** Denitrification and fermentation in plant-residue-amended soil. *Biol. Fertil. Soils.*, 7, 303-309, 1989.
117. **Paul E.A., Clark F.E.:** *Soil Microbiology and Biochemistry.* Academic Press New York, 1996.
118. **Pawlson D.S., Saffigna P.G., Kragt-Cottar M.:** Denitrification at sub-optimal temperatures in soils from different climatic zones. *Soil Biol. Biochem.*, 20, 719-723, 1988.
119. **Payne W.J.:** Reduction of nitrous oxides by microorganisms. *Bacteriol. Rev.*, 37, 409-452, 1973.
120. **Payne W.J.:** *Denitrification.* John Wiley, New York, 1981.
121. **Pidello A., Menéndez L., Perotti E.B.R.:** Saccharidic compounds as soil redox effectors and their influence on potential  $N_2O$  production. *Biol. Fertil. Soils.*, 23, 173-176, 1996.
122. **Ponnamperuma F.N., Martinez E., Loy T.:** Influence of redox potential and partial pressure of carbon dioxide on pH values and the suspension effect of flooded soils. *Soil Sci.*, 101, 421-431, 1966.
123. **Ponnamperuma F.N.:** The chemistry of submerged soils. *Adv. Agron.*, 24, 29, 1972.
124. **Reddy K.R., Rao P.S.C., Jessup R.E.:** The effect of carbon mineralization on denitrification kinetics in mineral and inorganic soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46, 62-68, 1982.
125. **Robertson G.P., Vitousek P.M., Matson P.A., Tiedje J.M.:** Denitrification in a clear cut Loblolly pine plantation in the southeastern US. *Plant Soil*, 97, 119-129, 1987.
126. **Robertson L.A., Kuenen J.G.:** Physiological and ecological aspects of aerobic denitrification a link with heterotrophic nitrification?. In: *Denitrification in soil and sediment* (Eds N.P. Revsbech, J. Sorensen). Plenum press, New York, 91-104, 1990.
127. **Robertson L.A., Kuenen J.G.:** Physiology of nitrifying and denitrifying bacteria. In: *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides, and halomethanes.* (Eds J.E. Rogers, W.B. Whitman). American Society for Microbiology, Washington D.C., 189-235, 1991.

128. **Rolston D.E., Hoffman D.L., Toy D.W.:** Field measurement of denitrification: I. Flux of  $N_2$  and  $N_2O$ . *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 863-869, 1978.
129. **Rolston D.E.:** Nitrous oxide and nitrogen gas production in fertilizer loss. In: *Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide.* (Ed C.C. Delwiche). John Wiley, New York, 127-149, 1981.
130. **Rolston D.E., Sharpley D.W., Toy D.W.:** Field measurement of denitrification: 3. Rates during irrigation cycles. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 46, 289-296, 1982.
131. **Rosswall T.:** Microbiological nitrous-oxide production: Implications for the global nitrogen cycle. *Biogeochem. Ancient Mod. Environ.*, 4, 267-278, 1979.
132. **Ryden J.C., Lund L.J.:** Nitrous oxide evolution from irrigated land. *J. Environ. Qual.*, 9, 387-393, 1980.
133. **Ryden J.C.:** Nitrous oxides exchange between a grassland soil and the atmosphere. *Nature*, 292, 235-237, 1981.
134. **Ryden J.C.:** Denitrification loss from a grassland in the field receiving different rates of nitrogen as ammonium nitrate. *J. Soil Sci.*, 34, 355-365, 1983.
135. **Sahrawat K.L., Keeney D.R.:** Nitrous oxide emission from soils In: *Advances in soil science* (Ed B.A Stewart). Springer-Verlag, New York, 4, 103-148, 1986.
136. **Samson M.I., Buresh R.J., De Datta S.K.:** Evolution and soil entrapment of nitrogen gases formed by denitrification in flooded soil. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 36, 299-307, 1990.
137. **Schönwiese C.D.:** *Klimat i człowiek. Prószyński i S-ka*; 111, 1997.
138. **Schmidt J., Seiler W., Conrad R.:** Emission of nitrous oxide from temperature forest soils into the atmosphere. *J. Atmosph. Chem.*, 6, 95-115, 1988.
139. **Schlesinger W.H.:** *Biogeochemistry an Analysis of Global Change.* Academic Press, 1997.
140. **Schnürer J., Clarholm M., Rosswall T.:** Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different matter contents. *Soil Biol. Biochem.*, 17, 611-618, 1985.
141. **Scholefield D., Hawkins J.M.B., Jackson S.M.:** Use of a flowing helium atmosphere incubation technique to measure the effects of deni-

- trification controls applied to intact cores of a clay soil. *Soil Biol. Biochem.* 29(9-10), 1337-1344, 1997.
142. **Schuster M., Conrad R.:** Metabolism of nitric oxide and nitrous oxide during nitrification and denitrification in soil at different incubation conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 101, 133-143, 1992.
  143. **Segel I.:** *Biochemical calculations*, 2nd edn., John Wiley and Sons, New York, 1976.
  144. **Shepherd M.F., Baryetti S., Hastie D.R.:** The production of atmospheric  $\text{NO}_x$  and  $\text{N}_2\text{O}$  from a fertilized agricultural soil. *Atmos. Environm. Part A - General Topics*, 25, 1961-1969, 1991.
  145. **Silvola J., Martikainen P., Nykänen H.:** A mobile automatic gas chromatography system to measure  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$  and  $\text{N}_2\text{O}$  fluxes from soil in the field. *Suo*, 43, 263-266, 1992.
  146. **Skiba U., Hargreaves K.H., Fowler D., Smith K.A.:** Fluxes of nitric and nitrous oxide from agricultural soils in a cool temperate climate. *Atmos. Environ.*, 26A, 2477-2488, 1992.
  147. **Skiba U., Smith K.A., Fowler D.:** Nitrification and denitrification as a sources of nitric oxide and nitrous oxide in a sandy loam soil. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 1527-1536 1993.
  148. **Smirnov P.M., Kidin V.V., Pedishyus:** Loss of nitrogen by denitrification. *Biol. Bull. Acad. Sci. USSR*, 6, 450-459, 1979.
  149. **Smith C.J., Wright M.F., Patrick W.H. jr.:** The effect of soil redox potential and pH on the redaction and production of nitrous oxide. *J. Environm. Qual.*, 12, 186-188, 1983.
  150. **SooHoo C.K., Hollocher T.C.:** Loss of nitrous oxide reductase in *Pseudomonas aeruginosa* cultured under  $\text{N}_2\text{O}$  as determined by rocket immuno-electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56, 3591-3592, 1990.
  151. **Sprent J.I.:** The process of the nitrogen cycle. In: *The ecology of nitrogen cycle*. Cambridge University. Press Cambridge, 23-61, 1987.
  152. **Stanford G., Vanderpol R.A., Dzienia S.:** Denitrification rates in relation to total and extractable soil carbon. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39, 284-289, 1975.
  153. **Starr J.L., Parlange J.V.:** Nonlinear denitrification kinetics with continous flow in soil columns. *Soil Sci.Soc.Am.Proc.*, 39, 875-880, 1975.



154. **Stępniewska Z.:** Zmiany potencjału redoks, odczynu oraz zredukowanych form manganu i żelaza glebach o zróżnicowanym natlenieniu i wilgotności. Praca doktorska. Zakład Agrofizyki PAN, Lublin, 1979.
155. **Stępniewska Z.:** Właściwości oksydoredukcyjne gleb mineralnych Polski. *Problemy Agrofizyki*, 56, 1988.
156. **Stouthamer A.H.:** *Adv. Microb. Physiol.*, 14, 315, 1976.
157. **Stouthamer A.H.:** Dissimilatory reduction of oxidized nitrogen compounds. In: *Biology of anaerobic microorganisms* (Ed. A.J.B. Zehnder). John Wiley & Sons Ltd., New York, NY., 245-303, 1988.
158. **Tate III R.L.:** Process control in soil. In: *Soil Microbiology* (Eds Robert L., Tate III). John Wiley & Sons inc. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1995.
159. **Terry R.E., Tate R.L.:** The effect of nitrate on nitrous oxide reduction in organic soils and sediments. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 44, 744-746, 1980.
160. **Terry R.E., Tate R.L., Duxbury J.M.:** The effect of flooding on nitrous oxide emission from an organic soil. *Soil Sci.*, 132, 228-232, 1981.
161. **Tiedje J.M.:** Use of nitrogen-13 and nitrogen-15 in studies on the dissimilatory fate of nitrate. In: *Genetic engineering of symbiotic nitrogen fixation and conservation of fixed nitrogen* (Eds J.M. Lyons et al.). Plenum Press, New York, 481-497, 1981.
162. **Tiedje J.M.:** Denitrification. In *Methods of soil analysis, Part 2. Chemical and microbiological Properties* (Ed A.L. Page). Madison, USA, 1011-1026, 1982.
163. **Tiedje J.M., Sextone A.J., Myrold D.D., Robinson J.A.:** Denitrification: ecological niches, competition and survival. *Antonie von Leeuwenhoek*, 48, 569-583, 1982.
164. **Tiedje J.M.:** Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. In: *Biology of anaerobic microorganisms* (Ed A.J.B. Zehner) John Wiley, New York, USA, 179-244, 1988.
165. **Umarov M.M.:** Biotic sources of nitrous oxide in the context of the global budget of nitrous oxide. In: *Soils and the greenhouse effect* (Ed A.F. Bouwman) John Wiley and Sons Ltd., Chichester, 263-268, 1990.
166. **Umarov M.M., Stepanow A.L.:** Microbial formation and consumption of N<sub>2</sub>O in soil. Abstracts, 2nd session, 11th International Symposium on Environmental Biogeochemistry, Salamanca, 1993.

167. **Van Cleemput O., Patrick W.H.:** Nitrate and nitrite reduction in flooded, gamma-irradiated soil under controlled pH and redox potential conditions. *Soil Biol. Biochem.*, 6, 85-88, 1974.
168. **Van Cleemput O., Patrick W.H., McLehemy R.C.:** Nitrite decomposition in flooded soil under different pH and redox potential conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 40, 55-60, 1976.
169. **Van Cleemput O., Baert L.:** Nitrate: a key compound in N losses processes under acid conditions. *Plant Soil*, 76, 233-241, 1984.
170. **Van Cleemput O., Abboud S., Baert L.:** Denitrification and interaction between its intermediate compounds. In: *Nitrogen efficiency in agricultural soils* (Eds D.S. Jenkinsen and K.A. Smith). Elsevier Applied Science, London, 302-311, 1988.
171. **Vinther F.P.:** Total denitrification and the ratio between  $N_2O$  and  $N_2$  during the growth of spring barley. *Plant Soil*, 76, 227-232, 1984.
172. **Vinther F.P.:** Measured and simulated denitrification activity in a cropped sandy and loamy soil. *Biol. Fertil. Soils*, 14, 43-48, 1992.
173. **Webster C.P., Dowdell R.J.:** Nitrous oxide emission from permanent grass swards. *J. Sci. Food Agric.*, 33, 227-230, 1982.
174. **Weier K.L., Doran J.W., Power J.F., Walters D.T.:** Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon and nitrite. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 57, 66-72, 1993.
175. **Wheatley R.E., Williams B.L.:** Seasonal changes in rates of potential denitrification in poorly-drained redeemed blanket peat. *Soil Biol. Biochem.*, 21(3), 355-360, 1989.
176. **Wilhelm E., Battino R., Wilcock R.J.:** Low-pressure solubility of gases in liquid water. *Chem.Rev.*, 77, 219-262, 1977.
177. **Zumft W.G., Kroneck P.M.H.:** Metabolism of nitrous oxide. In: *Denitrification in soil and sediment* (Eds N.P. Revsbech and J. Sorensen). Plenum Press, New York, 37-55, 1990.
178. **Zumft W.G.:** The denitrifying procariotes. In: *The Procariotes*. (Eds) Springer Verlag, Inc., 554-582, 1992.

## SUMMARY

### N<sub>2</sub>O EMISSIONS AND ABSORPTION AGAINST A BACKGROUND OF CO<sub>2</sub> IN EUTRIC CAMBISOL UNDER DIFFERENT OXIDATION-REDUCTION CONDITIONS.

Nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emission and absorption and carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) emission from Eutric Cambisol were measured after treatment soils with NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N in laboratory incubation experiments. Incubation experiments were designed to investigate the influence of variables such as oxidation-reduction conditions, pH, organic matter content and granulometric composition on denitrification capacity of investigated soils. Results showed that these soils were emitters (cumulative production N<sub>2</sub>O ranged from 11.4 to 66.5 mg N<sub>2</sub>O-N kg<sup>-1</sup> of soil) as well as reducers (daily sink of N<sub>2</sub>O ranged from 1.3 to 66.5 mg N<sub>2</sub>O-N d<sup>-1</sup> kg<sup>-1</sup> of soil). The range of reduction of N<sub>2</sub>O under investigation conditions was from 10 to 100% depending on the kind of soil and time of incubation. Production and reduction of N<sub>2</sub>O were non-linearly correlated with redox potential (R<sup>2</sup>=0.906 and R<sup>2</sup>=0.966, respectively). The boundary value of redox potential for emission of nitrous oxide was 250 mV and for absorption of N<sub>2</sub>O was about 200 mV. Redox potential showed a negative correlation with pH value (R<sup>2</sup>=0.685). Eh value decreased with decreasing of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N<sup>o</sup> in the range from about 10 to 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N<sup>o</sup> kg<sup>-1</sup> of soil. The highest daily reduction of nitrate was observed in the narrow range of Eh value (200 – 210 mV). The boundary nitrate concentration resulted in distinct drop of redox potential was about 100 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N<sup>o</sup> kg<sup>-1</sup>. Under investigated conditions the maximum emission of N<sub>2</sub>O was observed at pH range between 4.5-6, but maximum absorption of nitrous oxide occurred at pH about 5.5 to about 7. Differences in the dissimilative reduction of nitrate were observed in the investigated soils. Absorption of N<sub>2</sub>O occurred simultaneously with the reduction of nitrate and after depletion of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> during the course of the experiment. The range of reduced nitrate fluctuated from 22 to 100% depending on the kind of soil and time of incubation. Denitrification rate and sink of nitrous oxide showed high correlation with mineralization of organic matter (R<sup>2</sup>=0.906 and R<sup>2</sup>=0.913, respectively). Daily emission of CO<sub>2</sub> ranged from 1.3 to 23.2 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> and was correlated with redox potential (R<sup>2</sup>=0.871), organic matter content (R<sup>2</sup>=0.314), and pH (R<sup>2</sup>=0.804). Differences in release of CO<sub>2</sub> were

noticed in the investigated soils. The lowest cumulative amount of carbon dioxide was found in soils developed from sand (mean 75 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup>). Higher emission was observed in soils developed from loam (mean 130 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup>) and the highest amount of carbon dioxide was obtained in soils developed from silt (mean 210 mg CO<sub>2</sub>-C kg<sup>-1</sup>). Relationship between carbon (as CO<sub>2</sub>) and nitrogen (as N<sub>2</sub>O) flux reflected by the C/N ratio in the headspace air and relationship between carbon (as CO<sub>2</sub> flux) and nitrogen (as NO<sub>3</sub><sup>-</sup> reduced) were calculated. These two ratios describe the character of biochemical processes in the soils particularly their denitrification capacity as well as their ability to sink of nitrous oxide and nitrate reduction.

**Key words:** denitrification capacity, N<sub>2</sub>O and CO<sub>2</sub> emission, N<sub>2</sub>O absorption, redox potential, nitrate reduction.

**Teresa Włodarczyk**

Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego PAN

ul. Doświadczalna 4, P.O. Box 201, 20-290 Lublin 27

tel. (81) 7445061

e-mail: [teresa@demeter.ipan.lublin.pl](mailto:teresa@demeter.ipan.lublin.pl)