

ZAWARTOŚĆ FRAKCJI FOSFORU I AKTYWNOŚĆ FOSFATAZY W GLEBIE INKUBOWANEJ

Marzena Gibczyńska, Leokadia Lewandowska

Katedra Chemii Ogólnej, Akademia Rolnicza w Szczecinie

Wstęp

Aktywność biologiczna gleby – działalność metaboliczna drobnoustrojów glebowych – warunkująca żyzność gleby; jest określana między innymi poprzez ustalenie aktywności enzymów. Fosfatazy odgrywają podstawową rolę w obiegu fosforu w ekosystemach [SCHNEIDER i in. 2001]. Zawartość fosforu ogółem w glebach zlokalizowanych na terenie województwa zachodniopomorskiego wahała się od 232 do 923 mg P·kg⁻¹ gleby, a udział fosforu organicznego stanowił do 40% [GIB CZYŃSKA, LEWANDOWSKA 2004]. Kwaśna fosfataza katalizuje hydrolizę estrowego wiązania C-O-P w organicznych związkach fosforu obecnych w glebie i uwalnia przyswajalne dla roślin aniony: H₂PO₄⁻ oraz HPO₄²⁻ w związku z tym aktywność fosfatazy może być stosowana jako wskaźnik do określania stopnia mineralizacji organicznych związków fosforu [KUCHARSKI 1997; YADAV, TARAFDAR 2001]. DENG, TABATABAI [1997] wskazują, że w badanych glebach o pH od 4,1 do 6,5 ogólnie aktywność fosfatazy kwaśnej była większa niż zasadowej. W złożonym środowisku glebowym aktywność enzymów jest zależna od właściwości fizykochemicznych gleb: uziarnienia, temperatury, wilgotności, struktury, odczynu, kompleksu sorpcyjnego, zawartości materii organicznej i składu mineralnego [OLSZOWSKA 2002].

KOPER [1996] podaje, że aktywność fosfatazy kwaśnej skorelowana jest z zawartością fosforu związków organicznych oraz fosforu przyswajalnego w glebie. W glebie zachodzą procesy przemiany fosforu organicznego w nieorganiczny i odwrotnie. Fosforany mogą łączyć się z cząstkami organicznymi, takimi jak substancje humusowe, przez zastąpienie jonów hydroksylowych w grupach peryferyjnych, a fosfor uwalniany w warunkach rozkładu szczątków organicznych łączy się z metalami tworząc wtórne minerały [MUSIEROWICZ, UGGLA 1956]. Wzajemny stosunek fosforu w postaci organicznej i nieorganicznej może zmieniać się wraz z upływem czasu. Czas jak i warunki przechowywania próbek glebowych mogą wpływać na zmianę proporcji pomiędzy zawartością frakcji fosforu w glebie jak również zmianę aktywności fosfataz glebowych.

Celem przeprowadzonych badań była próba określenia zależności, między zmianami aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej, oraz zawartości fosforu ogółem, nieorganicznego i organicznego w glebach inkubowanych w zróżnicowanej temperaturze i wilgotności.

Materiał i metody badań

Badania laboratoryjne przeprowadzono na próbach gleby pobranej z ornego poziomu próchniczego (0–30 cm) Rolniczego Zakładu Doświadczalnego w Lipnikach. Użyta do badań gleba charakteryzowała się składem granulometrycznym piasku słabogliniastego o zawartości węgla organicznego $12 \text{ g C} \cdot \text{kg}^{-1}$ oraz odczytnie oznaczonym jako pH w H_2O 6,1.

Części ziemiste pobranego materiału glebowego, po doprowadzeniu do stanu powietrznie suchego, dokładnie wymieszano, umieszczono w szczelnych pojemnikach. Wilgotność drugiej części materiału glebowego doprowadzono do stanu odpowiadającego 60% maksymalnej pojemności wodnej i po wymieszaniu również umieszczono w szczelnych pojemnikach. Tak przygotowane próbki materiału glebowego o masie $0,5 \text{ kg}$ inkubowano w trzech temperaturach: $+20^\circ\text{C}$, $+7^\circ\text{C}$ i -20°C . Wilgotność i temperatura była utrzymywana na stałym poziomie. Pomiar zawartości frakcji fosforu w glebie oraz aktywności fosfatasy kwaśniej i zasadowej wykonywano w następujących terminach: 0, 7, 14 i 35 dniu doświadczenia. Każdorazowo przed wykonaniem analiz laboratoryjnych przerywano inkubację kolejnej próbki doprowadzając ją do temperatury $+20^\circ\text{C}$. Oznaczenia wykonywano w trzech powtórzeniach.

Zawartość fosforu ogółem (P og.), fosforu nieorganicznego (P nieorg.) i fosforu związków organicznych (P org.) w glebach oznaczono metodą OLSENA i DEANA [1965] stosując ekstrakcję stężonym HCl próbek gleby niemineralizowanych i mineralizowanych w temp. 240°C . Ilość fosforu, w ekstraktach oznaczano kolorymetrycznie, stosując mieszaninę molibdenianu amonu i metawanadanu amonu. Aktywność obydwu fosfatyz oznaczano według metody TABATABAI i BREMNERA [1969] oraz EIVAZI i TABATABAI [1977], stosując jako substrat fosforan p-nitrofenolu. Istotność różnic pomiędzy poszczególnymi wartościami oznaczeń oceniano na poziomie $\alpha = 0,05$. Do obliczenia odchyłek standardowych i współczynników korelacji zastosowano program STATISTICA 6.1.

Wyniki i dyskusja

Fosforu ogólnego w glebie świeżej, jak i powietrznie suchej, było $685,3 \text{ mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby, fosforu nieorganicznego oznaczono w ilości $561,0 \text{ mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ a fosforu organicznego $124,3 \text{ mg P} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby. Fosfor organiczny stanowił 18,1% całkowitej zawartości fosforu w glebie użytej do doświadczenia, a fosfor nieorganiczny był dominującą formą fosforu ogólnego w analizowanej glebie. Wyniki analiz gleby wykazały, że doprowadzenie jej do stanu powietrznie suchego nie wpłynęło na zmianę zawartości w niej badanych frakcji fosforu (tab. 1).

Przeprowadzona inkubacja gleby powietrznie suchej, nie wykazała zmian zawartości w niej fosforu ogółem, fosforu nieorganicznego i fosforu organicznego, w tych warunkach związki fosforu okazały się stabilne. Różnice jakie odnotowano nie przekroczyły przedziałów istotności.

Podczas inkubacji gleby w stanie odpowiadającym 60% maksymalnej pojemności wodnej odnotowano istotne zmiany w rozdziale fosforu glebowego pomiędzy poszczególnymi frakcjami. W miarę upływu czasu inkubacji, stwierdzono zmniejszenie się zawartości fosforu organicznego i wzrost ilości fosforu nieorganicznego (tab. 1).

Tabela 1; Table 1

Zmiany zawartości fosforu ogólnego, nieorganicznego i organicznego w glebie
The change total, inorganic and organic phosphorus content in soil

Tempera- tura Temperature (°C)	Czas inkubacji Time of incubation (dni; days)	Gleba powietrznie sucha Air dried soil			Gleba wilgotna Moist soil		
		P og. total P	P nieorg. inorg. P	P org. organic P	P og. total P	P nieorg. inorg. P	P org. organic P
		mg P·kg ⁻¹ gleby; soil					
+20°C	0	685,3	561,0	124,3	685,3	561,0	124,3
	7	681,6	548,3	133,3	705,0	563,3	141,6
	14	691,6	595,0	96,6	691,6	580,0	111,6
	35	693,6	565,3	128,3	705,0	598,3	106,6
+7°C	0	685,3	561,0	124,3	685,3	561,0	124,3
	7	676,6	581,6	95,0	681,6	580,0	101,6
	14	650,0	553,3	96,6	670,0	570,0	100,0
	35	656,6	551,6	105,0	676,6	588,3	88,3
-20°C	0	685,3	561,0	124,3	685,3	561,0	124,3
	7	660,0	548,3	101,6	683,3	580,0	103,3
	14	651,0	566,6	84,3	671,6	583,3	88,3
	35	653,3	566,0	87,3	686,6	598,3	88,3
NRI _{0,05} ; LSD _{0,05} I x II		31,0	22,25	24,31	20,28	20,21	24,02
II x I		32,7	15,08	22,90	18,00	20,78	21,11
Temperatura inkubacji; Temperature of incubation (°C)							
+20°C		688,0	567,4	120,6	696,7	575,6	121,0
+7°C		667,1	561,9	105,2	678,4	574,8	103,5
-20°C		662,4	560,5	99,4	681,7	580,6	101,0
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05} I		27,10	8,74	19,13	16,06	15,40	23,33
Czas inkubacji; Time of incubation (dni; days)							
0		685,3	561,0	124,3	685,3	561,0	124,3
7		672,7	559,4	110,0	690,0	574,4	115,5
14		664,2	571,6	92,5	677,7	577,7	100,0
35		667,8	561,1	106,8	689,4	595,0	94,4
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05} II		25,37	20,18	29,18	16,23	10,66	17,34

Analiza statystyczna wykazała ujemną istotną korelację między zmianami zawartości fosforu nieorganicznego i fosforu występującego w połączeniach organicznych. Współczynniki korelacji obliczone dla każdej z temperatur inkubacji były w granicach od $r = -0,82$ do $-0,91$. Po zakończeniu inkubacji, udział fosforu organicznego w jego ogólnej ilości w glebie zmniejszył się z 18 do około 15%.

W glebie użytej do doświadczenia, aktywność fosfatazy kwaśnej była wyższa niż zasadowej, co wydaje się być uzasadnione lekko kwaśnym odczynem gleby (tab. 2).

Otrzymane wyniki stanowią potwierdzenie informacji przedstawianych w literaturze przedmiotu [DENG, TABATABAI 1997]. W glebie świeżej aktywność fosfa-

tazy kwaśnej wynosiła 973,0 $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. $\cdot\text{h}^{-1}$, a zasadowej 43,8 $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. $\cdot\text{h}^{-1}$. W glebie powietrznie suchej nastąpiło obniżenie aktywności fosfatyz: kwaśnej do poziomu 262,9, a zasadowej do 18,6 $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. $\cdot\text{h}^{-1}$ (tab. 2).

Tabela 2; Table 2

Zmiany aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej w glebie
The change acid and alkaline phosphatase activity in soil

Temperatura Temperature (°C)	Czas inkubacji Time of incubation (dni; days)	Gleba powietrznie sucha Air dried soil		Gleba wilgotna Moist soil	
		fosfataza kwaśna acid phosphatase	fosfataza zasadowa alkaline phosphatase	fosfataza kwaśna acid phosphatase	fosfataza zasadowa alkaline phosphatase
		$\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot\text{h}^{-1}$; $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ DM soil $\cdot\text{h}^{-1}$			
+20°C	0	262,9	18,6	452,5	10,3
	7	265,4	9,2	437,7	3,8
	14	257,8	32,8	408,6	18,5
	35	305,2	1,5	317,8	20,4
+7°C	0	262,9	18,6	452,5	10,3
	7	269,1	7,6	477,5	20,5
	14	304,6	12,9	412,6	6,4
	35	307,1	5,8	424,9	46,6
-20°C	0	262,9	18,6	452,5	10,3
	7	297,4	18,0	454,6	17,3
	14	271,2	8,6	397,8	20,7
	35	261,0	0,0	348,2	8,3
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05} I x II		20,15	15,70	51,84	9,56
II x I		19,22	15,19	47,29	8,83
Temperatura inkubacji; Temperature of incubation (°C)					
+20°C		272,8	15,5	404,1	13,3
+7°C		285,9	11,2	441,9	20,9
-20°C		273,1	11,3	413,3	14,1
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05} I		14,5	8,95	34,55	4,54
Czas inkubacji; Time of incubation (dni; days)					
0		262,9	18,6	452,5	10,3
7		277,3	11,6	456,6	13,9
14		277,9	18,1	406,2	15,2
35		285,4	2,4	363,6	25,1
NIR _{0,05} ; LSD _{0,05} II		24,03	17,92	38,09	5,24

Inkubacja gleby powietrznie suchej w warunkach doświadczenia, nie spowodowała istotnych zmian aktywności obydwu fosfatyz (tab. 2).

Wilgotność gleby stanowiąca 60% maksymalnej pojemności wodnej zwiększyła aktywność fosfatazy kwaśnej do 454,5 $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot\text{h}^{-1}$. Natomiast aktywność fosfatazy zasadowej była 10,3 $\mu\text{g NP}\cdot\text{g}^{-1}$ s.m. gleby $\cdot\text{h}^{-1}$. Inkubowanie

gleby wilgotnej spowodowało sukcesywne zmniejszanie się aktywności fosfatazy kwaśnej w miarę upływu czasu. Po 35. dniach inkubacji gleby średnia aktywność tego enzymu w glebie stanowiła 80% wielkości wyjściowej. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzono dodatnią korelację między średnim spadkiem aktywności fosfatazy kwaśnej a obniżeniem się zawartości fosforu organicznego w inkubowanej glebie wilgotnej (wsp. korelacji = 0,93). Uzyskane wyniki znajdują potwierdzenie w literaturze przedmiotu [KOPER 1996]. Odnośnie fosfatazy zasadowej nie stwierdzono jednokierunkowych, istotnych zmian jej aktywności podczas inkubacji gleby wilgotnej (tab. 2).

Wnioski

1. Nie stwierdzono istotnych zmian zawartości fosforu ogółem, fosforu nieorganicznego i fosforu organicznego oraz aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej podczas inkubacji gleby w stanie powietrznie suchym.
2. Otrzymano ujemną istotną korelację między zmniejszeniem się zawartości fosforu organicznego a wzrostem ilości fosforu występującego w połączeniach nieorganicznych w miarę upływu czasu inkubacji gleby wilgotnej.
3. Inkubowanie gleby wilgotnej spowodowało sukcesywne zmniejszanie się aktywności fosfatazy kwaśnej.
4. Nie stwierdzono jednokierunkowych, istotnych zmian aktywności fosfatazy zasadowej podczas inkubacji gleby wilgotnej.

Literatura

- DENG S.P., TABATABAI M.A. 1997. *Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphatases and arylsulfatase*. Biol. Fert. Soils 24(2): 141–146.
- EIVAZI F., TABATABAI M.A. 1977. *Phosphatases in soil*. Soil Biol. Biochem. 9: 167–172.
- GIBZYŃSKA M., LEWANDOWSKA L. 2004. *Zależność między aktywnością fosfatazy a zawartością różnych frakcji fosforu w glebach różniących się zawartością próchnicy*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 501: 127–133.
- KOPER J. 1996. *Zmiany zawartości fosforu związków organicznych i jego frakcji w glebie wywołane wieloletnim nawożeniem organicznym*. Rozprawy 75 ATR Bydgoszcz.
- KUCHARSKI J. 1997. *Relacje między aktywnością enzymów a żyznością gleby*, w: *Drobnoustroje w środowisku – występowanie, aktywność i znaczenie*. Red. W. Barabasz, AR Kraków: 327–347.
- MUSIEROWICZ A., UGLIA II. 1956. *Gleboznawstwo leśne*: 250 ss.
- OLSEN S.R., DEAN L.A. 1965. *Methods of soil analysis*. Part II, Black C.A. (Ed.) Madison, Wisconsin USA: 1035–1049.
- OLSZOWSKA G. 2002. *Wpływ pożaru w nadleśnictwie Rudy Raciborskie na aktywność enzymatyczną gleb*. Roczn. Glebozn. LIII(3/4): 97–104.

SCHNEIDER K., TURRION M.B., GRIERSON P.F., GALLARDO J.F. 2001. *Phosphatase activity, microbial phosphorus, and fine root growth in forest soils in the Sierra de Gata, western central Spain*. Biol. Fertil. Soils 34: 151–155.

TABATABAI M.A., BREMNER J.M. 1969. *Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity*. Soil Biol. Biochem. 1: 301–307.

YADAV R.S., TARAFDAR J.C. 2001. *Influence of organic and inorganic phosphorus supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants* Biol. Fertil. Soils 34: 140–143.

Słowa kluczowe: fosfor organiczny, fosfor nieorganiczny, fosfor ogółem, aktywność fosfatazy, inkubacja gleby

Streszczenie

Określono zależności między zmianami aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej oraz zawartości fosforu ogółem, nieorganicznego i organicznego w glebach inkubowanych w zróżnicowanej temperaturze i wilgotności.

Próbki materiału glebowego inkubowano w trzech temperaturach: +20°C, +7°C i -20°C. Pomiar zawartości frakcji fosforu w glebie oraz aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej wykonywano w następujących terminach: 0, 7, 14 i 35 dniu doświadczenia. Nie stwierdzono istotnych zmian zawartości fosforu ogółem, fosforu nieorganicznego i fosforu organicznego oraz aktywności fosfatazy kwaśnej i zasadowej podczas inkubacji gleby powietrznie suchej. Otrzymano ujemną istotną korelację między zmniejszeniem się zawartości fosforu organicznego a wzrostem ilości fosforu występującego w połączeniach nieorganicznych w miarę upływu czasu inkubacji gleby wilgotnej. Po 35 dniach inkubacji średnia aktywność fosfatazy kwaśnej w glebie stanowiła 80% wielkości wyjściowej. Nie stwierdzono jednokierunkowych, istotnych zmian aktywności fosfatazy zasadowej podczas inkubacji gleby wilgotnej.

CONTENT OF PHOSPHORUS FRACTIONS AND PHOSPHATASE ACTIVITY IN INCUBATED SOIL

Marzena Gibczyńska, Leokadia Lewandowska

General Chemistry Department, Agricultural University, Szczecin

Key words: organic phosphorus, inorganic phosphorus, total phosphorus, activity of phosphatase, incubation of soil

Summary

The determination of relationship between acid and alkaline phosphatase activity and total phosphorus content, as well as inorganic and organic phosphorus content in incubated soil with differentiated temperature and humidity were evaluated. Soil samples were incubated at the temperature +20°C, +7°C and -20°C. During the experiment, with the air dried soil samples no important chan-

ges of total phosphorus content, as well as inorganic and organic phosphorus content, acid and alkaline phosphatase activity were found. In moist soil samples significant negative correlation between the diminution of organic phosphorus content and increase of phosphorus in inorganic compounds were determined. Soil moist samples incubation was accompanied by successive decrease of acid phosphatase activity. No one-direction important changes of alkaline phosphatase activity during the incubation of moist soil were found.

Dr hab. Marzena **Gibczyńska**, prof. nadzw. AR
Katedra Chemii Ogólnej
Akademia Rolnicza
ul. Słowackiego 17
71-434 SZCZECIN
e-mail: margi@px.pl.