

AKTYWNOŚĆ UREAZY W WYBRANYCH GLEBACH POLSKI

Z. Stepniewska^{1,2}, A. Samborska³

¹ Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego PAN, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

² Katolicki Uniwersytet Lubelski, Al. Kraśnicka 102, 20-718 Lublin

³ Katedra Inżynierii i Ochrony Środowiska, Politechnika Lubelska,
ul. Nadbystrzycka 40, 20 – 618 Lublin

Streszczenie. Celem badań było określenie aktywności ureazy na wybranych glebach Polski: bielcowych i brunatnych wytworzonych z piasków i glin, lessów, czarnych ziem i mad rzecznych. Badaniom poddano próbki z poziomu 0-10 cm, które pobrano z Banku Gleb Instytutu Agrofizyki PAN.

Aktywność ureazy zawierała się w przedziale 0,3256 – 1,7896 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. Najniższą aktywność ureazową zanotowano w glebach bielcowych i wynosiła ona 0,33 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. W glebach brunatnych wytworzonych z piasków i lessów aktywność ureazy wahała się w granicach 0,55 - 1,00 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. Najwyższą aktywność stwierdzono w glebach: czarnych ziemiach, madach rzecznych, glebach murszowych i murszowatych 1,43 – 1,79 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$.

W oparciu o analizę statystyczną otrzymanych wyników można stwierdzić, że aktywność ureazowa pozostaje w ścisłym związku z zawartością materii organicznej.

Słowa kluczowe: aktywność ureazy, gleby Polski, materia organiczna gleb

WPROWADZENIE

Ostatecznym miejscem, gdzie zachodzi rozkład mocznika, finalnego produktu metabolizmu białek u zwierząt lądowych jak również człowieka, jest gleba. Szczególnie duże aglomeracje miejskie są znaczącymi producentami mocznika (miasto posiadające 500 tys. mieszkańców wytwarza ok. 15 tys. t mocznika rocznie). Hydrolityczny rozkład mocznika do CO_2 i NH_3 następuje przy aktywnym udziale enzymu ureazy.

Ureaza (3.5.1.5) należy do grupy enzymów z klasy hydrolaz o bardzo wysokiej specyficzności substratowej [Tabatabai M.A, Bremner J.M., 1972]. Jej masa

molekularna waha się w granicach 151 000 – 480 000 Da, zależnie od typu. Obecnie znane są dwa rodzaje ureazy różniące się budową centrum aktywnego i miejscem ich syntezy. Ureaza, która jest produkowana przez rośliny wyższe (*Canavalia ensiformis*) zawiera w centrum aktywnym dwa atomy niklu, natomiast w centrum aktywnym enzymu pochodzenia bakteryjnego (*Sarcina ureae*, *Micrococcus ureae*, *Bacillus paterii*) znajdują się atomy cynku [Lippard S, 1995; Haulinger, 1995]

Enzym ten działa w szerokim zakresie pH: 6-10 [Hoffman and Schmidt 1953; Tabatabai and Bremner, 1972, Kandeler and Gerber 1988, Perez – Mateoz and Gonzales – Carcedo 1988], przy niskiej wartości pH bakterie mocznikowe produkujące ureazę nie rozwijają się prawie wcale. Ponadto badania które przeprowadzono wykazały że jest ona odporna na działanie wysokich jak i niskich temperatur. Całkowitej denaturacji ulega dopiero w temperaturze -20°C i 105°C , stąd też obecna jest ona zarówno w glebach tundry jak i Sahary [Zantua and Bremner 1977; Kissel and Cabrera 1988, Fenn et al. 1992].

Wysokie powinowactwo ureazy względem substratu, spowodowały duże zainteresowanie tym enzymem przy pracach związanych z oczyszczaniem ścieków z nadmiaru mocznika przy użyciu filtru glebowego.

Mocznik trafia do gleby i wód powierzchniowych w postaci odchodów ludzkich i zwierzęcych, jest również wprowadzany jako nawóz sztuczny. Oszacowano, że dzienne średnio zwierzęta produkują 16 g, a człowiek około 13 g mocznika.

Pod wpływem ureazy następuje hydrolityczny rozkład mocznika w komórkach roślin lub bezpośrednio w glebie według równania:



Wytworzony w tej reakcji dwutlenek węgla jest szybko wykorzystywany przez mikroorganizmy do syntezy związków organicznych, zaś jon amonowy jest silnie wiązany przez kompleks sorpcyjny, co zabezpiecza glebę przed stratami azotu w formie kationowej. Wprowadzenie jednak dużej ilości mocznika do gleby np. w miejscu wypasu zwierząt, prowadzi do uwolnienia się znacznych ilości amoniaku do atmosfery i może powodować w konsekwencji jej zanieczyszczenie. Ponadto uwolniony amoniak jest silnie pochłaniany przez wody jezior i strumieni co sprzyja wzrostowi eutrofizacji naturalnych ekosystemów wodnych.

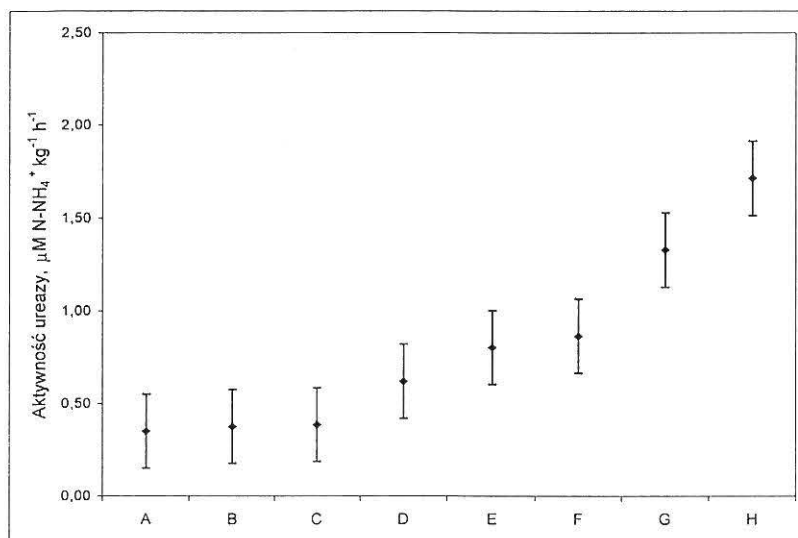
MATERIAŁY I METODY

Badania przeprowadzono na glebach pobranych z poziomu 0–10cm z Banku Gleb Instytutu Agrofizyki PAN w Lublinie. W obrębie każdej z 8 jednostek glebowych do badań wybrano 10 gleb przechowywanych w stanie powietrznie suchym. Charakterystyka materiału glebowego znajduje się w opracowaniu pt. „Bank próbek glebowych reprezentujących gleby mineralne Polski” [Gliński J., Ostrowski J., Stępniewski W., Stępniewska Z., 1991]

Aktywność ureazową (AU) oznaczano metodą Tabatabai i Bremnera (1972) polegającą na wytworzeniu barwnego kompleksu z fenylonitroprusydkiem i podchlorynem sodowym. W tym celu próby glebowe świeżo pobrane z poletek doświadczalnych były odważane do kolbek stożkowych w ilości 1g i następnie po dodaniu buforu cytrynowego o pH 6,7 i 10% mocznika inkubowane w temperaturze 37 °C przez okres 1,5 godziny. Po zakończeniu inkubacji próbki poddawano ekstrakcji 2M KCl. Po przesączeniu i dodaniu fenylonitroprusydku i podchlorynu sodu oznaczano absorbancję barwnego kompleksu przy długości fali 630 nm na spektrofotometrze Shimadzu UV – 1601PC. Aktywność enzymu wyrażono w μM uwolnionego N-NH_4^+ wydzielonego w czasie 1 h w stałej temperaturze przez 1kg gleby.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Gleby poddane badaniom zróżnicowane były pod względem zawartości materii organicznej (0,2-3,5%) i wykazały zróżnicowanie AU zawierające się w przedziale od 0,22 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ w glebach pseudobielicowych do 1,9 $\mu\text{M N-NH}_4 \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$ w glebach mineralnych zaliczanych do murszowych i murszowatych. Wartości średnie AU w obrębie gleb pseudobielicowych wytworzonych z piasków i glin lekkich oraz brunatnych wytworzonych z piasków były praktycznie na tym samym poziomie. W oznaczenia AU w czarnoziemach i glebach brunatnych wytworzonych z lessów notowano wartości ponad dwukrotnie wyższe, zaś w czarnych ziemiach i glebach murszowych i murszowatych wartości te były odpowiednio 3 i 4- krotnie wyższe (Rys 1).

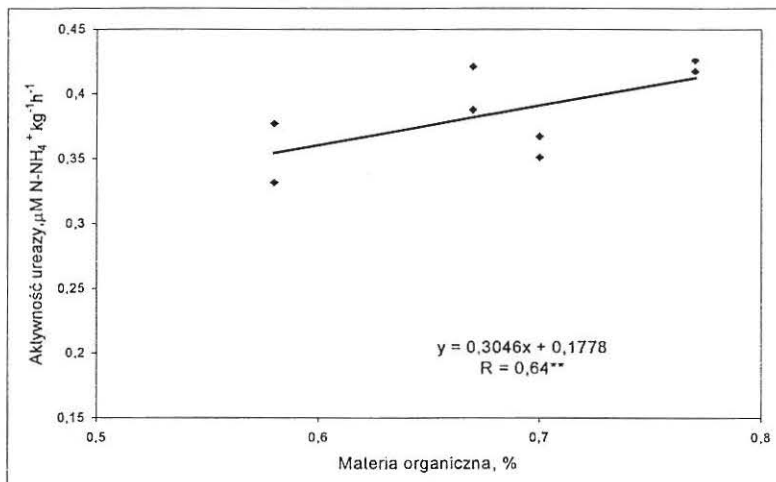


Rys 1. Aktywność ureazy w wybranych glebach Polski. A – gleby pseudobielicowe wytworzone z piasków , B – gleby brunatne wytworzone z piasków , C – gleby pseudobielicowe wytworzone z glin lekkich, D – czarnoziemy , E – gleby brunatne wytworzone z lessów, F – mady lekkie, średnie i ciężkie, G – czarne ziemie, H – gleby murszowe i murszowate.

Fig 1. Urease activity in some Polish soils: A - Cambic Arenosols development from sands, B - Calcaric Cambisols development from sands, C - Cambic Arenosols development from light loam, D - Haplic Phaeozems, E - Calcaric Cambisols development from loess, F - Terric Histosols, G - Mollic Soils, H – Eutric Histosol Soils

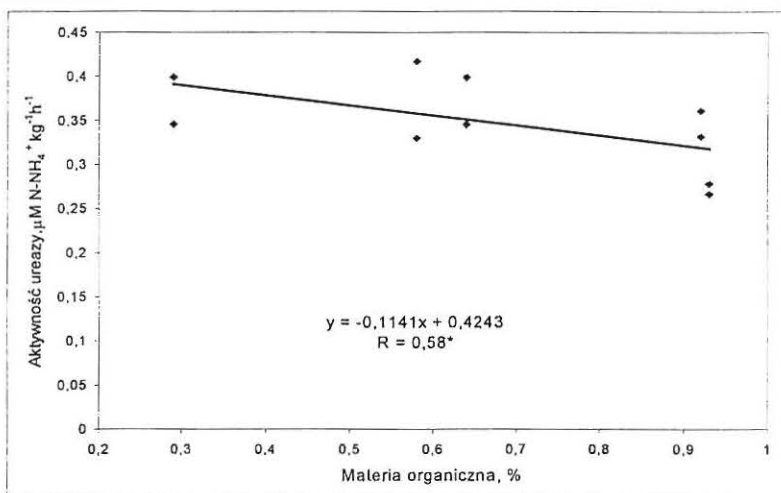
Zróźnicowanie AU w obrębie danej jednostki dało się zauważyć szczególnie w madach oraz glebach pseudobielicowych wytworzonych z glin lekkich, gdzie wartości AU układały się w przedziałach odpowiednio: 0,4–1,2 oraz 0,3–0,48 μM N-NH₄ kg⁻¹h⁻¹. Stwierdzone zróźnicowanie AU znajdowało wytłumaczenie po przedstawieniu zależności AU w funkcji zawartości materii organicznej (Rys.2-9), gdzie wykazano istotną dodatnią korelację w obrębie gleb pseudobielicowych wytworzonych z piasków, glin lekkich, czarnoziemach, brunatnych wytworzonych z lessów, madach lekkich, średnich i ciężkich oraz w glebach murszowych i murszowatych. Zależność ta o charakterze istotnej korelacji ujemnej wystąpiła w czarnych ziemiach i glebach brunatnych wytworzonych z piasków. Stwierdzenie ujemnej korelacji w glebach najbardziej zasobnych w materię organiczną (czarne ziemie) wskazują na obecność innego czynnika, niż sama tylko dostępność węgla

organicznego w tworzeniu AU w testowanych glebach. Zależność AU od zawartości materii organicznej przedstawiona na Rys. 10 łącznie dla wszystkich badanych gleb jest dodatni i istotny przy poziomie istotności 0,01.



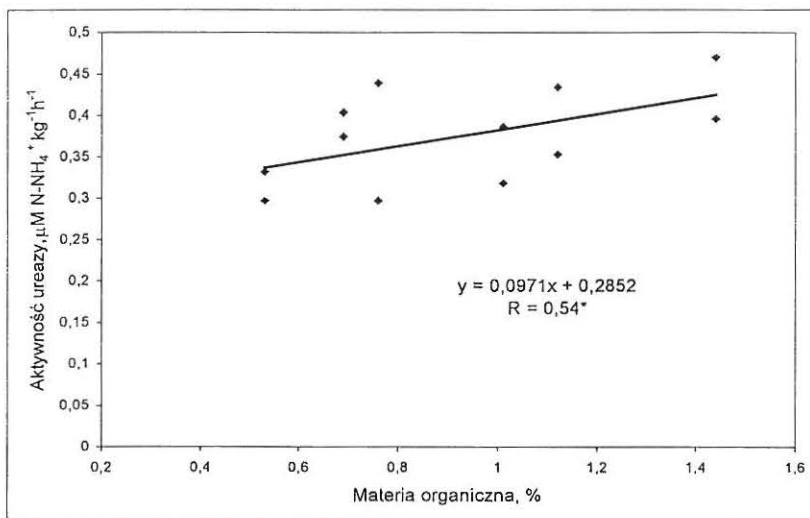
Rys. 2. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w glebach pseudobielicowych wytworzonych z piasków

Fig. 2. The relationship between urease activity and organic matter in Cambic Arenosols development from sands



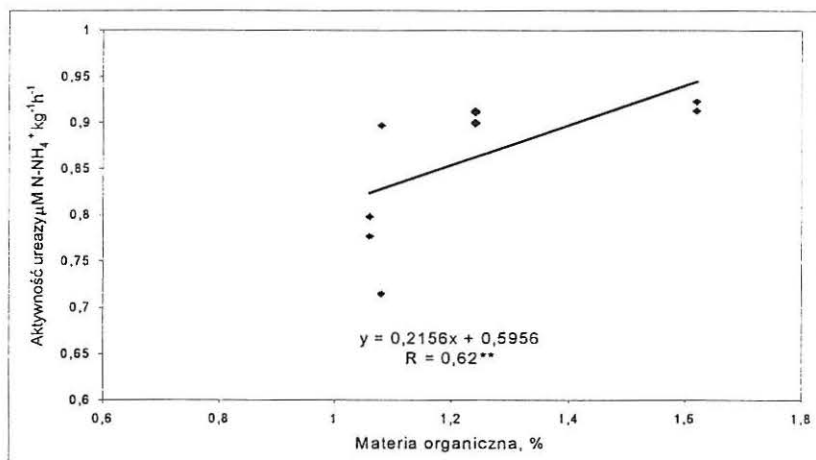
Rys. 3. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w glebach brunatnych wytworzonych z piasków

Fig. 3. The relationship between urease activity and organic matter in Calcaric Cambisols development from sands



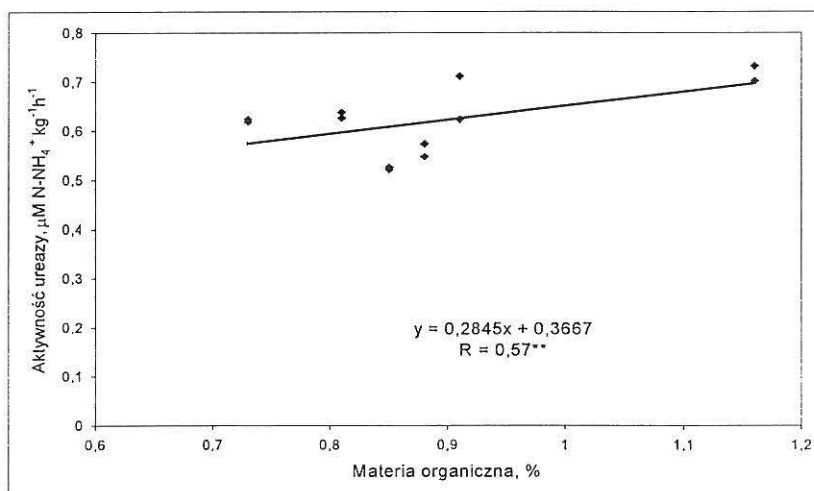
Rys. 4. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w glebach pseudobielicowych wytworzonych z glin lekkich

Fig. 4. The relationship between urease activity and organic matter in Cambic Arenosols development from light loam



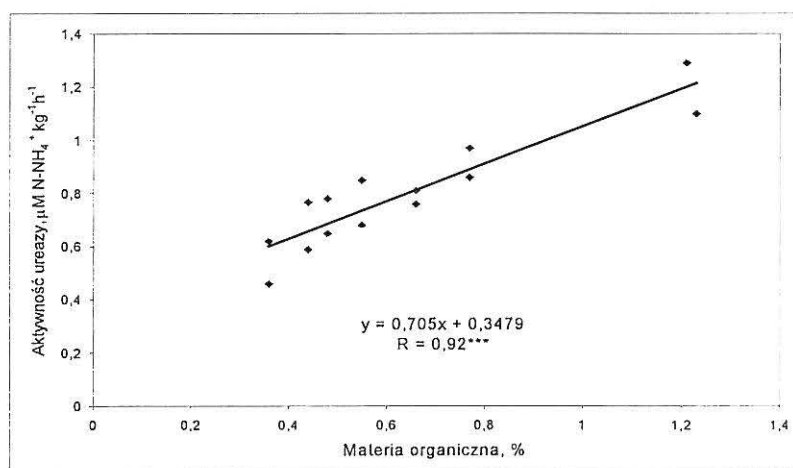
Rys. 5. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w czarnoziemach

Fig. 5. The relationship between urease activity and organic matter in Haplic Phaeozems



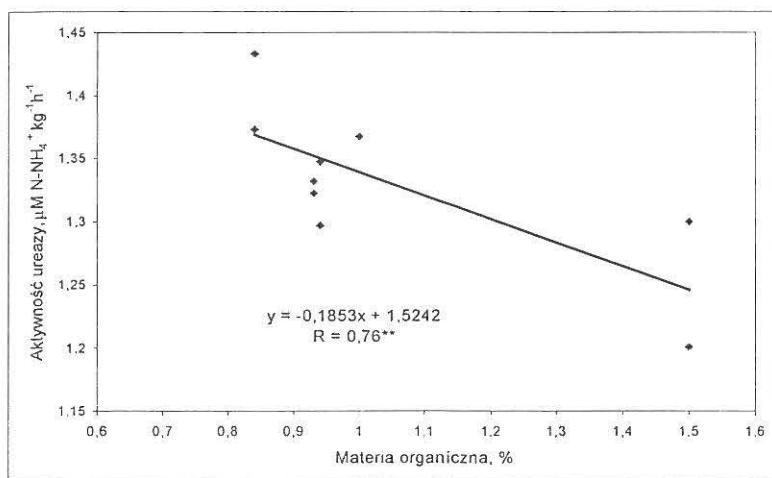
Rys. 6. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w glebach brunatnych wytworzonych z lessów

Fig. 6. The relationship between urease activity and organic matter in Calcaric Cambisols development from loess

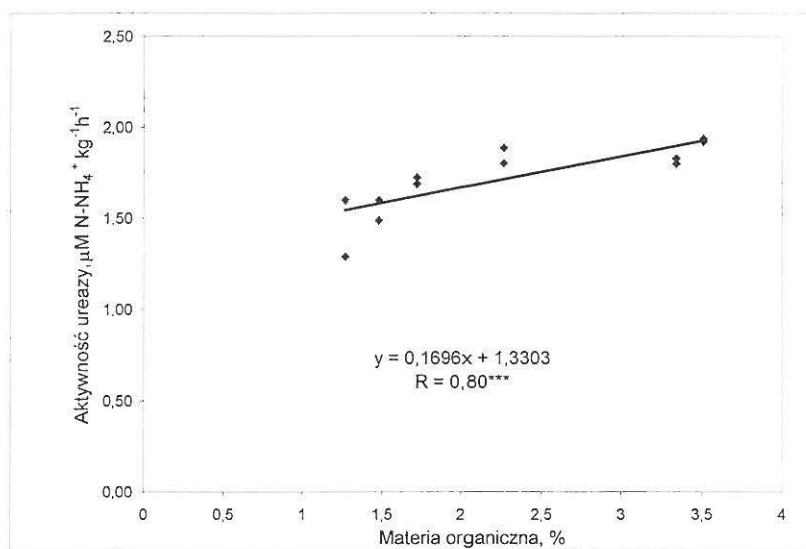


Rys 7. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w madach lekkich, średnich i ciężkich

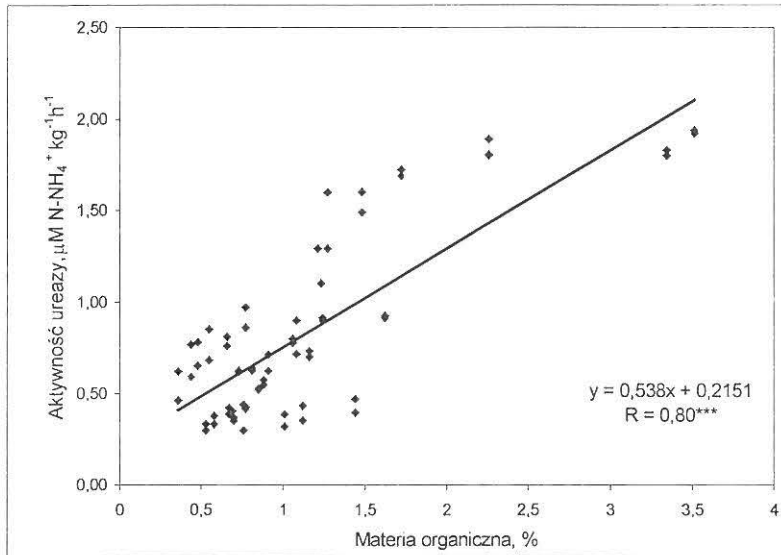
Fig 7. The relationship between urease activity and organic matter in Terric Histosols



Rys. 8. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w czarnych ziemiach
Fig. 8. The relationship between urease activity and organic matter in Mollic Gleysols



Rys. 9. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w glebach murszowych i murszowatych
Fig. 9. The relationship between urease activity and organic matter in Eutric Histosol Soils



Rys. 10. Zależność aktywności ureazy od materii organicznej w łącznie badanych glebach

Fig. 10. The relationship between urease activity and organic matter in all soils under investigation

WNIOSKI

1. Aktywność ureazowa w wybranych glebach Polski zawierała się w szerokich granicach od 0,22 do 1,9 $\mu\text{M N} - \text{NH}_4^+ \text{kg}^{-1}\text{h}^{-1}$.
2. Najniższą aktywność ureazy stwierdzono w glebach pseudobielicowych wytworzonych z glin lekkich i piasków, najwyższą wykazywały gleby murszowe i murszowate.
3. Pomędzy aktywnością ureazową a poziomem materii organicznej stwierdzono korelację istotną pozytywną dla gleb: murszowych i murszowatych, mad lekkich, średnich i ciężkich, gleb brunatnych wytworzone z lessów, czarnoziemów, gleb pseudobielicowych wytworzonych z glin lekkich oraz korelację istotną negatywną dla: czarnych ziem i gleb brunatnych wytworzonych z piasków.
4. Przy zastosowaniu nawożenia mineralnego w postaci mocznika na glebach murszowych i murszowatych oraz czarnych ziemiach należy się liczyć z wysoką emisją amoniaku i małą trwałością użytego nawozu.

5. Z punktu widzenia oczyszczania ścieków zawierających mocznik, największą efektywność filtru glebowego można oczekiwać na glebach bogatych w materię organiczną takich jak gleby murszowe i murszowate.

LITERATURA

1. **Tabatabai M.A., Bremner J.M.:** Assay of urease activity in soil. *Soil. Biol. Biochem* 4: 479-487, 1972.
2. **Lippard J.S.:** At Last – the Crystal Structure of Urease. *Science* vol 268., 993-994, 1995.
3. **Hausinger P., Jabri E., Carr M.B.:** The Crystal Structure of Urease from *Klebsiella aerogenes*. *Science* vol. 268., 1995.
4. **Hoffman E. and Schmidt W.:** Uber das Enzymsystem unserer Kultur boden. II. Urease. *Biochem* 323: 125-127, 1953.
5. **Kandeler E., Gerber H.:** Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6: 68-72, 1988.
6. **Perez –Mateos M., Gonzales- Carcedo S.:** Assay of urease activity in soil columns. *Soil Biol Biochem* 20: 567-572, 1988.
7. **Zantua L.B., Bremner J.M.:** Stability of urease in soils. *Soil. Biol. Biochem* 9: 135-140, 1977
8. **Kissel D.E., Cabrera M.L.:** Factors affecting urease activity. In: *Ammonia Volatilization from Urea Fertilizer Development Center, Muscle Shoals* 53-66, 1988.
9. **Fenn L.B. Tilton J.L., Tatum G.:** Urease activity in two cultivated and non-cultivated arid soils. *Biol. Fertil. Soils* 13: 152-154, 1992.
10. **Gliński J., Ostrowski J., Stępniewski W., Stępniewska Z.:** Bank próbek glebowych reprezentujących gleby mineralne Polski. *Problemy Agrofizyki* 66, 1991.

UREASE ACTIVITY IN SELECTED POLISH SOILS

Summary: The aim of the investigations was to measure activity of urease in different Polish soils such as podzolic and brown developed from sands and loams, brown developed from loess, as well as in black earths and aluvials soils. The measurements were performed on samples taken from 0-10 cm depths.

The urease activity was in the range of 0,3256 – 1,7896 $\mu\text{M N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. The lowest activity was noted in the podzolic soil and was on the level of 0,3256 $\mu\text{M N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. In the brown and lessive soils the urease activity was in the range 0,55-1,00 $\mu\text{M N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$. The highest urease activity were found in black earths, alluvials soils, Eutric Histosol Soils 1,43-1,79 $\mu\text{M N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1}\text{h}^{-1}$.

The results obtained allow to conclude that the urease activity is tightly connected with the organic matter content of the soil.

Keywords: urease activity, Polish soils, soil organic matter.