

**Analiza zasolenia, odczynu oraz aktywność katalazy w glebie na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego w warunkach zróżnicowanego ruchu turystycznego**

Analysis of salinity, pH and catalase activity in soil Ojcowski National Park in conditions of diversified tourism

*Kinga Mudlaff, Katarzyna Staniszevska, Laura Ordon*

*AGH Akademia Górniczo-Hutnicza,  
Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki,  
Katedra Chemii Analitycznej*

**Abstrakt:** Celem przeprowadzonych badań jest analiza jakości gleb w obrębie Ojcowskiego Parku Narodowego. Jednym z najważniejszych enzymów antyoksydacyjnych jest katalaza, która powoduje rozkład cząsteczek nadtlenu wodoru. Najniższą aktywność katalazy wykazano w próbkach pobranych w jaskini. Występowało tam również najwyższe zasolenie gleby oraz najniższe pH. W przypadku innych próbek wartości badanych parametrów były porównywalne.

**Słowa kluczowe:** katalaza, pH, zasolenie, metoda potencjometryczna, gleby.

**Abstract:** The aim of this study is to analyze soil quality in the Ojców National Park. One of the most important antioxidant enzymes is catalase, which breaks down hydrogen peroxide. The lowest catalase activity has been demonstrated in samples taken in the cave. There was also where the highest salinity of the soil and the lowest pH. For other samples were tested parameters were comparable.

**Keywords:** catalase, pH, salinity, potentiometric method, soil.

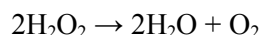
## **WSTĘP**

Zasolenie to sumaryczne stężenie rozpuszczonych soli w glebie. Na całość zasolenia wpływają aniony azotowe, chlorkowe, siarczanowe i boranowe oraz kationy sodu, potasu, amonu, glinu, żelaza. Zasolenie gleby zmienia się w szerokich zakresach: od gleb absolutnie słodkich do solnisk z bardzo wysokim stężeniem lekko rozpuszczalnych soli. Gleba słona to taka, która do głębokości 100 cm ma warstwy zawierające nadmiar soli bardziej rozpuszczalnych w zimnej wodzie niż gips [1].

Odczyn gleby jest sezonową zmienną cechą gleby. Odczynem gleby nazywamy stan odczynu ich roztworów, przy którym stężenie jonów wodorowych jest wyższe od stężenia jonów wodorotlenkowych. Odczyn roztworu glebowego zależy od wielu czynników: występowania soli, kwasów, materiałów ilastych, koloidów oraz działalności organizmów żywych. Odczyn pH jest bardzo ważną cechą gleby. Decyduje on bezpośrednio o możliwości wzrostu roślin, kierunku i szybkości przebiegu procesów biologicznych i fizykochemicznych w glebach, a także o kształtowaniu form

kwasowości. Odczyn glebowy najszybciej ulega zmianom pod wpływem czynników zewnętrznych, takich jak kwaśny opad atmosferyczny czy zanieczyszczenie środowiska.

Jednym z najważniejszych enzymów uczestniczących w obronie organizmów przed negatywnymi skutkami stresu oksydacyjnego jest katalaza, występująca w komórkach ludzkich, zwierzęcych, grzybów i bakterii tlenowych oraz roślin fotosyntetyzujących. Zbudowana jest z czterech identycznych podjednostek o masie cząsteczkowej około 60 kDa. Jednostki zawierają w centrum aktywnym grupę hemową, a także cząsteczkę NADPH. Wykazuje dwie aktywności: katalazową i peroksydazową. Enzymy obecne w glebie mogą pochodzić z roślin i drobnoustrojów. Aktywność katalazy glebowej związana jest z zawartością substancji organicznej i jest do niej proporcjonalna. Rozkłada ona bowiem nadtlenek wodoru do wody i tlenu:



Rozkład nadtlenu wodoru z udziałem katalazy następuje bardzo szybko: w ciągu jednej minuty enzym rozkłada około 6 mln cząsteczek  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Stała szybkości tej reakcji wynosi  $1,7 \cdot 10^{-7} \text{s}^{-1}$ . Zmiana aktywności katalazy, jak i innych enzymów antyoksydacyjnych, mogą być spowodowane różnymi stresorami środowiskowymi, takimi jak: wysoka temperatura, zasolenie, promieniowanie UV, metale ciężkie oraz patogeny [2].

Celem przeprowadzonych badań była analiza aktywności enzymatycznej, odczynu oraz zasolenia gleb wybranych szlaków turystycznych w obrębie Ojcowskiego Parku Narodowego.

## MATERIAŁY I METODYKA BADAŃ

### 2.1. Materiał do badań

Gleba do badań została pobrana jesienią (październik) 2015 roku z sześciu punktów, z głębokości: 0-20cm z Ojcowskiego Parku Narodowego ( $50^{\circ}12'24''\text{N } 19^{\circ}49'45''\text{E}$ ), leżącym w południowej części Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej.



Ryc. 1. Teren Ojcowskiego Parku Narodowego

- Pierwsze stanowisko poboru gleby znajdowało się na samym początku szlaku turystycznego. Gleba została pobrana z pobocza ścieżki. Miejsce poboru ma następujące współrzędne: 50°12'11,04''N 19°49'37,16''E.
- Drugie stanowisko poboru gleby również było usytuowane na szlaku o współrzędnych: 50°12'4,9''N 19°49'3,55''E.
- Trzecie stanowisko znajdowało się w Jaskini Łokietka, gleba została pobrana z miejsca niedostępnego dla turystów.
- Czwarte stanowisko poboru gleby obejmowało obszar Bramy Krakowskiej. Porośnięty jest roślinnością trawiastą.
- Z kolei gleba pobrana ze stanowiska V pochodziła z terenu o współrzędnych 50°11'44,94''N 19°49'48,14''E.
- Stanowisko VI stanowiło „źródło miłości” – miejsce do którego chętnie przychodzą turyści, o współrzędnych geograficznych 50°12'52,06''N, 19°49'47,99''E.

Glebę wysuszono w temperaturze pokojowej i przesiano przez sito o średnicy oczek 2 mm. Wszystkie analizy wykonano w dwóch powtórzeniach. W pracy przedstawiono średnie arytmetyczne analizowanych zmiennych.

## 2.2. Oznaczanie odczynu gleby metodą potencjometryczną

Pomiar pH gleby polega na zmierzeniu różnicy potencjałów ogniwa zbudowanego z dwóch elektrod i elektrolitu w postaci zawiesiny glebowej o stężeniu 2,5 części roztworu (woda destylowana) na 1 część gleby. Przygotowywanie próby odbywało się w temperaturze pokojowej 25°C.

Pomiar odczynu gleby przeprowadza się w zawiesinie wodnej lub w zawiesinie 1 N roztworu KCl, w takiej zależności otrzymujemy niższe bądź wyższe pH. Pomiar przeprowadzony w wodzie daje wyższe pH. Jeśli oznacza się pH w wodzie, wówczas mierzy się stężenie jonów wodorowych roztworu glebowego, zaś w KCl podaje się stężenie jonów wodorowych roztworu glebowego a także stężenie jonów wodorowych wypartych z kompleksu sorpcyjnego KCl.

Tabela 1. Podziały pH gleb oznaczonego w zawiesinie H<sub>2</sub>O i KCl

Odczyn gleby	pH w KCl	pH w H <sub>2</sub> O
Bardzo kwaśny	do 4,5	do 5,0
Kwaśny	4,6-5,5	5,1-6,0
Lekko kwaśny	5,6-6,5	6,1-6,7
Obojętny	6,6-7,2	6,8-7,4
Zasadowy	od 7,3	od 7,5

### 2.3. Oznaczanie zasolenia [EC] (electrical conductivity)

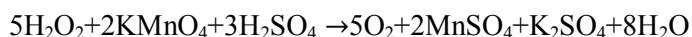
Naważki gleby o masie 10 g wytrząsano w 25 ml wody destylowanej przez 1 godzinę. Następnie oznaczono przewodność za pomocą konduktometru Elmetron. Przewodność to odwrotność oporności właściwej i jest proporcjonalna do stężenia soli w badanym roztworze [4].

Tabela 2. Ocena zasolenia na podstawie przewodności elektrycznej roztworu glebowego

Klasa zasolenia gleby	EC (dS/m)
Niezasolona	0-2
Lekko zasolona	2-4
Średnio zasolona	4-8
Mocno zasolona	8-16
Bardzo mocno zasolona	>16

### 2.3. Oznaczenie aktywności katalazy

Metoda polega na miareczkowaniu w obecności 5 cm<sup>3</sup> 3M kwasu siarkowego, nadmanganianu potasu, 5 cm<sup>3</sup> 0,3% nadtlenku wodoru pozostałego w analizowanej próbce po 20 minutowej inkubacji w 25°C z badaną glebą. Miareczkuje się do uzyskania bladorożowego zabarwienia. Reakcja zachodzi według równania:



### 2.4. Analiza statystyczna

Przeprowadzono jednoczynnikowe analizy wariancji, w układzie całkowicie rozlosowanym. Hipotezę zerową lub alternatywną testowano przy poziomach istotności  $\alpha=0,05$  względnie  $\alpha=0,01$ . Zróżnicowanie średnich obiektowych określono z wykorzystaniem testu NIR. Ocenę współzależności badanych zmiennych wyznaczono w oparciu o współczynnik korelacji Pearsona.

## WYNIKI

### 3.1. Odczyn gleby

Jednoczynnikowa analiza wariancji w oparciu o test F wykazała wysoce istotne zróżnicowanie odczynu gleby badanych stanowisk (tab. 3). Wobec tego przystąpiono do porównania średnich obiektowych z wykorzystaniem testu NIR.

Tabela 3. Analiza wariancji zmienności odczynu gleby ze stanowisk w Ojcowskim Parku Narodowym

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Średni kwadrat	$F_{emp}$	$F_{tab}$	
				$\alpha=0,05$	$\alpha=0,01$
Całkowita	11	-			
Stanowisko	5	0,7237	436,4**	3,20	5,32
Błąd	6	0,0017			

\*\*istotne przy  $\alpha=0,01$

Odczyn gleby w badanych roztworach (stanowisko 1,4-6) był obojętny, czyli pH mieściło się w przedziale od 6,6- 7,2. W roztworze KCl najniższe pH uzyskano w glebie pobranej ze stanowiska 2 – 5,74 (tab. 4). Wskazuje to, iż gleba ta ma odczyn lekko kwaśny. Natomiast gleba pobrana ze stanowiska 3 – Jaskinia Łokietka, wykazała pH powyżej 7,2 co oznacza, że cechuje ją odczyn zasadowy. Najwyższym pH charakteryzowało się stanowisko 3 co wskazuje na jego zasadowy odczyn. Istotne zróżnicowanie wystąpiło ponadto w próbach pobranych na stanowisku 4. Pomiędzy obiektami 1, 5, 6 nie stwierdzono istotnego zróżnicowania. Według przyjętej klasyfikacji wartości odnotowane dla obiektów 1,4,5,6 potwierdziły odczyn obojętny. Tylko na stanowisku 2, którym był aktywnie uczęszczany szlak, stwierdzono wartości ujawniające kwaśny odczyn gleby.

Tabela 4. Odczyn gleby pobranej ze stanowisk na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego

Stanowisko	Powtórzenie	
	I	II
1	7,02	6,98
2	5,72	5,77
3	7,47	7,5
4	7,16	7,22
5	7,00	7,08
6	7,08	7,01
NIR	0,1047	

### 3.2. Przewodność elektrolityczna [EC]

Wystąpiło wysoce istotne zróżnicowanie przewodności elektrolitycznej próbek gleby zebranej na różnych stanowisk na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego (tab. 5).

Tabela 5. Zróżnicowanie źródeł zmienności zasolenia gleby dla poszczególnych stanowisk

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Średni kwadrat	F <sub>emp</sub>	F <sub>tab</sub>	
				α=0,05	α=0,01
Całkowita	11	-			
Stanowisko	5	883194,0	696791,0**	3,20	5,32
Błąd	6	1,3			

\*\*istotne przy α=0,01

Na podstawie testu najmniejszej istotnej różnicy wykazano istotne zróżnicowanie w zasoleniu tylko na stanowisku 3 czyli Jaskinia Łokietka (tab. 6). Najwyższa odnotowana wartość zasolenia [ $>1628$  mS/cm] dla tego stanowiska wpłynęła na brak istotnego zróżnicowania analizowanej zmiennej w pozostałych przypadkach.

Tabela 6. Przeciętne zasolenie gleby [mS/cm] pobranej ze stanowisk na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego

Stanowisko	Powtórzenie	
	I	II
1	0,585	0,581
2	0,097	0,12
3	1634,895	1621,357
4	0,55	0,42
5	0,455	0,495
6	0,425	0,443
NIR	2,895	

### 3.3. Aktywność katalazy

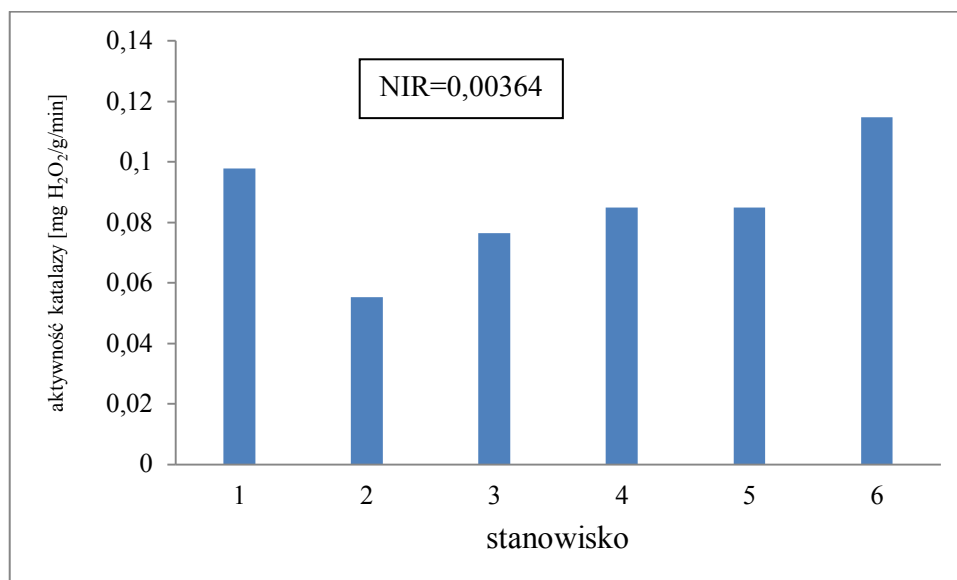
Podobnie jak w przypadku dwóch wcześniej ocenianych parametrów aktywność katalazy z próbek gleby pobranych na różnych stanowiskach ujawniła w analizie wariancji wysoce istotne zróżnicowanie tego źródła zmienności (tab. 7).

Tabela 7. Zróżnicowanie źródeł zmienności aktywności katalazy dla poszczególnych stanowisk

Źródło zmienności	Stopnie swobody	Średni kwadrat	$F_{emp}$	$F_{tab}$	
				$\alpha=0,05$	$\alpha=0,01$
Całkowita	11	-			
Stanowisko	5	0,000812	405,77**	3,20	5,32
Błąd	6	0,000002			

\*\*istotne przy  $\alpha=0,01$

Istotnie najniższą aktywnością katalazy charakteryzowały się próbki pobrane na stanowisku 2, (0,055). Pomiędzy wartościami odnotowanymi dla stanowisk 3, 4, 5 nie stwierdzono istotnego zróżnicowania (ryc. 2). Najwyższą aktywność katalazy charakteryzowała się gleba pobrana ze stanowiska 6 (0,115).



Ryc. 2. Aktywność katalazy [mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g/min] w glebie pobranej ze stanowisk na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego

### 3.4. Analiza zależności ocenianych parametrów

Przeprowadzona analiza zależności liniowej pomiędzy uwzględnionymi w opracowaniu zmiennymi ujawniła dodatnią, wysoką i istotnie zróżnicowaną wartość współczynnika korelacji pomiędzy aktywnością enzymu, a odczynem gleby ( $r=0,584^*$ ) (tab. 8).

Tabela 8. Macierz współczynników korelacji analizowanych parametrów (n=12)

	pH	Katalaza
Zasolenie	0,462	-0,214
pH		0,584

## DYSKUSJA

Enzymy glebowe odgrywają podstawową rolę w katalizowaniu reakcji prowadzących do rozkładu materii organicznej. Często określane są mianem wskaźników biochemicznej i mikrobiologicznej aktywności gleb [7]. Aktywność katalazy jest uzależniona od różnych czynników. Wprowadzenie do gleby np. związków kadmu powoduje istotne zmiany aktywności enzymu – aktywność zmniejsza się wraz z wzrastającą dawką, zarówno w glebie, a także w roślinie [2].

Dzięki przeprowadzonym obserwacjom, wykazano iż poziom aktywności katalazy na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego jest zróżnicowany. Najniższą aktywność stwierdzono w próbie pobranej ze stanowiska 2 – ścieżka uczęszczana przez turystów. Natomiast najwyższą aktywność katalazy cechuje próbę pobraną ze stanowiska 6 (źródło miłości) również stanowiące miejsce dostępne dla turystów.

Pod względem występujących warunków glebowych poszczególne stanowiska były podobne. Generalnie odczyn gleby (za wyjątkiem próby 2) był lekko zasadowy. Tereny położone między skałkami zbudowane są z wapieni ławicowych o różnej grubości ławic, litologicznie zbliżonych do skalistych, różniących się od nich wyraźnym warstwowaniem i obecnością buł krzemienych. Wśród skamieniałości występują ramienionogi i bardzo rzadko amonity. Na tej podstawie można wnioskować o słuszności otrzymanych wyników.

Podstawowym parametrem określającym właściwości chemiczne gleby jest jej odczyn. Pełni rolę jednego z ważniejszych wskaźników zasolenia. Wartość pH jest nie tylko miarą kwasowości, ale również decyduje o przebiegu procesów glebowych [9]. Ponadto ta cecha gleby skorelowana jest z zawartością materii organicznej czy wysyceniem kationami zasadowymi [10]. Przy zbyt niskim pH ujawnia się toksyczność żelaza, manganu i glinu. Z kolei przy wysokim pH cynk, mangan i żelazo przechodzą w formy mało przyswajalne. Kationy są lepiej pobierane w środowisku obojętnym. Natomiast aniony pobierane są szybciej w środowisku lekko kwaśnym. Zdolność do utrzymania stabilnego pH zależy od właściwości buforowych gleby. Gleba na wszystkich stanowiskach charakteryzowała się niskim zasoleniem (0,51- 0,67 mS). Podobne wyniki uzyskali Gajewski i Marcisz [2014]. Wyjątek stanowi gleba pobrana z wnętrza jaskini. Jaskinia jest wyżłobiona przez wodę w wapieniach górnej jury, stąd tak wysokie wartości odczytu wskazują na bardzo wysokie zasolenie tego stanowiska.

Należałoby przeprowadzić kolejne badania, aby mieć pełny wgląd na stan gleby na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego.



## WNIOSKI

1. Wykazano istotne zróżnicowanie ocenianych wskaźników aktywności biochemicznej wybranych stanowisk na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego.
2. Istotnie najniższe zasolenie oraz odczyn kwaśny gleby i najniższą aktywność enzymatyczną wykazano na stanowisku 2, czyli gleby pobranej wprost z uczęszczanego szlaku turystycznego.
3. Najwyższą aktywność katalazy stwierdzono na stanowisku w pobliżu Źródła Miłości, 0,115 mg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/g/min.
4. Istotnie najwyższy poziom zasolenia i zasadowy odczyn gleby odnotowano w próbkach pobranych ze stanowiska w Jaskini Łokietka.
5. Wyznaczone wartości współczynnika korelacji wskazują na istotnie najwyższą zależność pomiędzy odczynem gleby, a aktywnością katalazy ( $r=0,584^*$ ).

## BIBLIOGRAFIA

- [1] Małuszyńska I., Małuszyński M., 2009, *Badanie wpływu zasolenia gleby na wzrost i rozwój wybranych gatunków roślin*, Inżynieria Ekologiczna, 21, 32-39.
- [2] Romanowicz A., Krzepiło A., 2013, *Porównanie aktywności katalazy w różnych organach maliny powtarzającej *Rubus idaeus L.* odmiany Polana oraz w glebie pod jej uprawą, oznaczanej metodą wolumetryczną*, Polish Journal of Argonomy, 15, 49-53.
- [3] Lityński T., Jurkowska H., Gorlach E. (1976). *Analiza chemiczno-rolnicza*, PWN, Warszawa.
- [4] [PN-ISO 11265+AC1.1997] *Oznaczanie przewodności elektrycznej właściwej w glebie*. Warszawa. PKN.
- [5] Allotey D. F. K., Asiamah R. D., Dedzoe C. D., Nyamekye A. L., (2008). *Physico-chemical properties of three salt-affected soils in the lower Volta basin and management strategies for their sustainable utilization*. West African J. of Appl. Ecol., 12(1).
- [6] Johnson J.L., Temple K. L., (1964). *Some variables affecting the measurement of catalase activity in soil*. Soil Sci. Soc. Am. Proc., 28: 207-209.
- [7] Lemanowicz J., Koper J., Igras J., 2004., *Wpływ nawożenia na aktywność fosfatazy i zawartość wybranych frakcji fosforu*. Annales UMCS, Sec. E, 2004, 59, 2, 679–686
- [8] Gajewski Z., Marcisz D., 2014. *Ocena aktualnej kondycji populacji *Cypripedium calceolus* (Orchidaceae) na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego*. Fragm. Florist. Geobot. Polon. 21(1): 3–14.
- [9] Gruba P., Błońska E., Socha J., (2010). *Metodyczne aspekty pomiaru i statystycznej analizy wartości pH gleb*. Roczn. Glebozn., 61(1): 217-118.

[10] Gruba P., Pacanowski P., Mulder J., (2013). *Czynniki kształtujące zróżnicowanie przestrzenne pH gleb leśnych na przykładzie gleb płowych podścielonych margłami*. Sylwan, 157(2): 149-150.