

THE IMPACT OF FERTILIZING AGENTS ON THE ENZYMATIC ACTIVITY OF SOILS

Summary

In terms of improving the biological conditions of the edaphic environment, the assessment of fertilizing agents is significant in order to obtain the best quality crops from cultivated plants. The fertilizing agents applied (E M, PRP Sol, Rosahumus, UG max) stimulated the activity of dehydrogenases, urease and protease in the studied soils. Among the tested agents, Rosahumus had the most favourable impact on the enzymatic activity of the soils.

Key words: soils, edaphic environment, biological conditions, fertilizing agents, enzymatic activity

WPŁYW PREPARATÓW UŻYŹNIAJĄCYCH NA AKTYWNOŚĆ ENZYMATYCZNĄ GLEB

Streszczenie

Ocena preparatów użyźniających w aspekcie poprawy warunków biologicznych środowiska edaficznego ma istotne znaczenie z punktu widzenia uzyskania jak najwyższych i jakościowo najlepszych plonów roślin uprawnych. Zastosowane preparaty użyźniające (EM, PRP Sol, Rosahumus, UG max) stymulowały aktywność dehydrogenaz, ureazy oraz proteazy w badanych glebach. Spośród testowanych preparatów najkorzystniej na aktywność enzymatyczną gleb działał preparat Rosahumus.

Słowa kluczowe: gleby, środowisko edaficzne, warunki biologiczne, preparaty użyźniające, aktywność enzymów

1. Wstęp

Klasyczne metody poprawy żyzności gleb wymagają długiego okresu stosowania, są pracochłonne i energochłonne. Ponadto we współczesnym rolnictwie brakuje dostatecznej ilości nawozów naturalnych, które mogłyby wyrównać deficyt związków próchnicznych i zapobiec degradacji gleb. Kluczowa rola mikroorganizmów w kształtowaniu żyzności gleby [20, 32] spowodowała wzrost zainteresowania badaniami ukierunkowanymi na wykorzystanie różnych grup pożytecznych drobnoustrojów w praktyce rolniczej. W efekcie tych badań opracowano i wdrożono do produkcji wiele biopreparatów, tzw. użyźniaczy glebowych [19]. Sprzeczne wyniki badań oraz kontrowersje narastające wokół skuteczności biopreparatów stosowanych w uprawie roślin [9, 19, 27] mogą być spowodowane zróżnicowanymi warunkami glebowo-klimatycznymi, biosorpcją (aspekt czasowy), a także ich jakością, w tym stabilnością [35]. Należy podkreślić, że stosowanie tych preparatów ma duże znaczenie proekologiczne i jest zgodne z ideą zrównoważonego rozwoju. Prawne i finansowe wspieranie rolnictwa zrównoważonego, stosującego metody produkcji nienaruszające równowagi przyrodniczej, m.in. poprzez lepsze wykorzystanie potencjału biologicznego gleb, jest głównym kierunkiem wdrażania i realizacji Europejskiego Modelu Rolnictwa [23]. Dlatego też ocena wpływu preparatów użyźniających w różnych rodzajach gleb na stan biologiczny środowiska edaficznego może przyczynić się do weryfikacji bardzo kontrowersyjnych opinii w tym zakresie [4].

Wszystkie przemiany pierwiastków biogennych zachodzące w glebie stymulowane są przez enzymy warunkujące ich przejście w formy dostępne dla roślin. Procesy te odgrywają ważną strukturalną i funkcjonalną rolę w dynamice cyklu odżywczego roślin i mogą w istotny sposób wpływać na ich wzrost i rozwój [5, 18]. Monitoring pedosfery z wy-

korzystaniem metod opartych na testach enzymatycznych pozwala na kompleksową ocenę zmian, jakie zachodzą w środowisku glebowym pod wpływem różnych metod poprawy żyzności gleby [1, 8, 9, 30].

Celem pracy była ocena wpływu wybranych preparatów użyźniających na zmiany aktywności enzymatycznej gleb. Badania w tym zakresie realizowano w ramach projektu badawczego nr N N305298940 finansowanego ze środków MNiSW. Niniejsze opracowanie obejmuje badania przeprowadzone w 2012 roku tj. w pierwszym roku po zastosowaniu preparatów użyźniających.

2. Materiał i metody

Badania przeprowadzono, w oparciu o statyczne doświadczenia polowe, na dwóch glebach: glebie bielcowej wytworzonej z piasku luźnego oraz glebie brunatnej wytworzonej z gliny zwykłej. W schematach modelowych doświadczeń polowych, założonych metodą bloków losowych, uwzględniono następujące obiekty:

1. Kontrolny I - pełna dawka NPK (bez preparatów),
2. Kontrolny I + EM-A,
3. Kontrolny I + PRP Sol,
4. Kontrolny I + Rosahumus,
5. Kontrolny I + UGmax,
6. Kontrolny II - 75% dawki N + 50% dawki PK (bez preparatów),
7. Kontrolny II + EM-A,
8. Kontrolny II + PRP Sol,
9. Kontrolny II + Rosahumus,
10. Kontrolny II + UGmax,
11. Kontrolny III - 75% dawki N, bez PK (bez preparatów),
12. Kontrolny III + EM-A,
13. Kontrolny III + PRP Sol,
14. Kontrolny III + Rosahumus,

15. Kontrolny III + UGmax.

Każdy obiekt o powierzchni 450 m² (do zbioru) składa się z 3 powtórzeń (poletek). Zastosowana przed siewem pszenżyta pełna dawka NPK, ustalona na podstawie zasobności gleby i prognozowanych plonów, wynosiła po 70 kg·ha⁻¹: N, P i K. Preparaty użyźniające zastosowano w zalecanej przez producenta dawce, w okresie późniejszym na pociętą słomę zbóż, przed jej zmieszaniem z glebą agregatem podorywkowym. W pierwszych dwóch latach prowadzenia badań zaplanowano, na obydwu glebach, zasiew pszenżyta, zaś w trzecim uprawę ziemniaka. Takie następstwo roślin powinno skutkować w kolejnych latach badań, wzrostem żyzności gleb (przyorywana słoma + stosowane preparaty), co pozwoli na uzyskanie w trzecim roku badań zadowalających plonów ziemniaka – rośliny o większych wymaganiach pokarmowych niż pszenżyto. Z kolei duży odsetek zbóż w proponowanym zmianowaniu wynika z bardzo wysokiego ich udziału w strukturze zasiewów w Polsce (około 75%). Autorzy projektu chcą bowiem uzyskać miarodajne wyniki pozwalające na ich praktyczne wykorzystanie w krajowych realiach.

Próbki gleby do analiz enzymatycznych pobrano po zbiorze pszenżyta, w 2012 roku, tj. w pierwszym roku doświadczenia, z każdego poletka, z głębokości 0-20 cm. W próbkach glebowych oznaczono aktywność 5 enzymów: dehydrogenaz [31], fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej [28], ureazy [40] oraz proteazy [15]. Enzymy te odgrywają istotną rolę w przekształcaniu organicznych związków węgla: dehydrogenazy, związków azotu: ureaza i proteazy oraz związków fosforu: fosfatazy. Wszystkie oznaczenia wykonywano w 3 powtórzeniach.

3. Wyniki i dyskusja

Zastosowane systemy nawożenia, obejmujące zróżnicowane dawki NPK oraz preparaty użyźniające, były decy-

dującym czynnikiem kształtującym aktywność enzymatyczną badanych gleb. Natężenie obserwowanych zmian zależnie było od systemu nawożenia, rodzaju gleby oraz indywidualnych właściwości enzymu (tab. 1-4).

We wszystkich obiektach badawczych aktywność analizowanych enzymów w glebie piaszczystej była wyraźnie mniejsza niż w glebie gliniastej. Każdy typ gleby cechuje charakterystyczny skład specyficznych enzymów i właściwy sobie poziom aktywności enzymatycznej. Różnice w kształtowaniu się aktywności enzymatycznej w różnych glebach spowodowane są głównie tym, że każdy typ gleby zależnie od jej pochodzenia i warunków rozwojowych jest odmienny pod względem zawartości materii organicznej, składu granulometrycznego i aktywności mikroorganizmów, a w konsekwencji procesów biochemicznych [7, 8, 34]. Na skład granulometryczny, jako ważny element aktywności enzymów wskazują także badania Renella i in. [24] oraz Singha i Kumara [25]. W warunkach prowadzonego eksperymentu polowego aktywność dehydrogenaz, ureazy i proteazy w glebie piaszczystej była około 1,5-2-krotnie niższa niż w glebie gliniastej (tab. 1, 3 i 4). Podobne tendencje stwierdzono w przypadku badanych fosfatyz, ale różnice te były znacząco mniejsze niż dla pozostałych enzymów (tab. 2). Uzyskane wyniki korespondują z rezultatami uzyskanymi, m.in. przez Hofmana i in. [10] i Wyszczkowską i in. [37, 38]. Natomiast z badań Singha i Kumara [25] wynika, że aktywność fosfatazy kwaśnej, fosfatazy alkalicznej i ureazy była wyższa w glebach piaszczystych niż w gliniastych, co autorzy tłumaczą złyimi właściwościami fizycznymi badanych gleb gliniastych.

Wpływ systemu nawożenia na aktywność badanych enzymów glebowych zależał od rodzaju enzymu. Wiąże się to zarówno z indywidualnymi właściwościami enzymów, ich odpornością na środowiskowe czynniki stresowe, jak i z zawartością w glebie specyficznych substratów dla reakcji enzymatycznych [3, 6, 33].

Tab. 1. Aktywność dehydrogenaz (w cm³ H₂·kg⁻¹·d⁻¹)
Table 1. Dehydrogenases activity (Dh –in cm³ H₂·kg⁻¹·d⁻¹)

Obiekty / Objects	Preparaty / Agents	Gleby / Soils	
		Piaszczysta / Sands	Gliniasta / Clays
Kontrolny I (pełna dawka NPK) Control I (full dose NPK)	bez preparatów / without agents	21,8	41,1
	EM-A	25,7	46,9
	PRP Sol	22,9	43,2
	Rosahumus	33,4	52,1
	UGmax	22,7	52,6
	\bar{x}	25,3	47,2
Kontrolny II (75% N + 50% PK) Control II (75% N + 50% PK)	bez preparatów / without agents	21,3	36,6
	EM-A	22,5	44,5
	PRP Sol	24,8	53,4
	Rosahumus	27,5	53,8
	UGmax	23,4	37,8
	\bar{x}	23,9	45,2
Kontrolny III (75% N, bez PK) Control III (75% N, without PK)	bez preparatów / without agents	14,4	26,6
	EM-A	17,9	37,2
	PRP Sol	23,8	61,4
	Rosahumus	25,1	51,9
	UGmax	22,9	36,7
	\bar{x}	20,8	42,7

Tab. 2. Fk – aktywność fosfatazy kwaśnej i Fa – aktywność fosfatazy alkalicznej (w mmol PNP·kg⁻¹·h⁻¹)
 Table 2. Fk – acid phosphatase activity and Fa – alkaline phosphatase activity (in mmol PNP·kg⁻¹·h⁻¹)

Obiekty / Objects	Preparaty / Agents	Gleby / Soils			
		Piaszczysta / Sands		Gliniasta / Clays	
		Fk	Fa	Fk	Fa
Kontrolny I (pełna dawka NPK) Control I (full dose NPK)	bez preparatów / without agents	12,8	8,7	13,5	9,0
	EM-A	11,7	7,4	13,2	9,1
	PRP Sol	11,2	7,2	12,3	8,8
	Rosahumus	14,1	9,4	15,6	10,5
	UGmax	11,8	7,8	13,3	8,9
	\bar{x}	12,3	8,1	13,5	9,2
Kontrolny II (75% N + 50% PK) Control II (75% N + 50% PK)	bez preparatów / without agents	14,2	9,2	15,7	10,6
	EM-A	11,5	7,4	12,6	8,5
	PRP Sol	11,6	7,6	13,3	8,8
	Rosahumus	13,7	8,9	15,3	10,3
	UGmax	10,1	6,4	11,9	8,1
	\bar{x}	12,2	7,9	13,7	9,2
Kontrolny III (75% N, bez PK) Control III (75% N, without PK)	bez preparatów / without agents	14,2	9,5	15,6	10,5
	EM-A	13,2	8,9	14,6	9,9
	PRP Sol	12,9	8,6	14,7	9,8
	Rosahumus	13,8	9,1	15,1	10,2
	UGmax	11,7	7,7	13,1	8,8
	\bar{x}	13,1	8,7	14,6	9,8

Z danych zamieszczonych w tab. 1, 3 i 4 wynika, że w obydwu glebach pełna dawka NPK wpływała korzystnie na aktywność dehydrogenaz, ureazy i proteazy. Efekt ten, co oczywiste, najwyraźniej zaznaczył się na poletkach bez preparatów użyźniających. Aktywność tych enzymów na obiektach „Kontrolny III” (75% dawki N, bez PK) była około 1,5-2-krotnie mniejsza niż w warunkach zastosowania pełnej dawki nawożenia mineralnego („Kontrolny I”). Wiele badań [14, 16, 17, 21, 36, 39] dowodzi, że aktywność enzymów glebowych jest dodatnio skorelowana z zasobnością gleb w składniki pokarmowe. Przeciwnie tendencje stwierdzono w przypadku aktywności fosfatazy kwaśnej i alkalicznej. Dostarczenie nawozów do gleby może spowodować wzrost aktywności mikrobiologicznej gleby,

a jednocześnie obniżyć aktywność niektórych enzymów. Nadmiar nieorganicznego fosforu w glebie hamuje syntezę fosfatów [2, 12]. Nahas i in. [22], badając relacje między aktywnością kwaśnej i alkalicznej fosfatazy a zawartością różnych form fosforu (całkowitego, organicznego i przyswajalnego) stwierdzili dodatnie korelacje wyłącznie w przypadku całkowitego fosforu i materii organicznej.

Zastosowane preparaty użyźniające stymulowały aktywność dehydrogenaz, ureazy oraz proteazy w obydwu badanych glebach (tab. 1, 3 i 4). W przypadku aktywności fosfatazy kwaśnej i fosfatazy alkalicznej efekt stymulacji zaznaczył się wyłącznie w warunkach aplikacji preparatu Rosahumus, i to tylko w obiekcie z pełną dawką nawożenia mineralnego – obiekt „Kontrolny I” (tab. 2).

Tab. 3. Aktywność ureazy (w mg N-NH₄⁺·kg⁻¹·h⁻¹)
 Table 3. Urease activity (in mg N-NH₄⁺·kg⁻¹·h⁻¹)

Obiekty / Objects	Preparaty / Agents	Gleby/ Soils	
		Piaszczysta / Sands	Gliniasta / Clays
Kontrolny I (pełna dawka NPK) Control I (full dose NPK)	bez preparatów / without agents	20,5	40,4
	EM-A	22,3	42,3
	PRP Sol	24,8	45,4
	Rosahumus	26,3	52,2
	UGmax	23,2	48,3
	\bar{x}	23,4	45,7
Kontrolny II (75% N + 50% PK) Control II (75% N + 50% PK)	bez preparatów / without agents	19,8	38,6
	EM-A	21,9	40,1
	PRP Sol	23,7	44,6
	Rosahumus	25,5	54,4
	UGmax	20,6	44,3
	\bar{x}	22,3	44,4
Kontrolny III (75% N, bez PK) Control III (75% N, without PK)	bez preparatów / without agents	9,7	18,3
	EM-A	14,8	26,2
	PRP Sol	20,1	41,6
	Rosahumus	24,3	45,1
	UGmax	19,2	28,8
	\bar{x}	17,6	32,0

Tab. 4. Aktywność proteazy (w mg tyrozyny·g⁻¹·h⁻¹)
 Table 4. Protease activity (in mg tyrosine·kg⁻¹·h⁻¹)

Obiekty / Objects	Preparaty / Agents	Gleby / Soils	
		Piaszczysta / Sands	Gliniasta / Clays
Kontrolny I (pełna dawka NPK) <i>Control I (full dose NPK)</i>	bez preparatów / without agents	7,3	10,8
	EM-A	8,1	12,2
	PRP Sol	9,4	13,8
	Rosahumus	10,5	15,9
	UGmax	7,9	11,7
	\bar{x}	8,6	12,8
Kontrolny II (75% N + 50% PK) <i>Control II (75% N + 50% PK)</i>	bez preparatów / without agents	7,4	11,2
	EM-A	8,1	11,8
	PRP Sol	8,6	12,9
	Rosahumus	8,7	13,3
	UGmax	7,9	11,8
	\bar{x}	8,1	12,2
Kontrolny III (75% N, bez PK) <i>Control III (75% N, without PK)</i>	bez preparatów / without agents	4,9	7,3
	EM-A	8,7	12,9
	PRP Sol	7,5	11,2
	Rosahumus	8,8	12,6
	UGmax	7,2	10,8
	\bar{x}	7,4	10,9

Zdaniem wielu autorów [7, 11, 29], fosfatazy mają zdolność hydrolizowania związków fosforu organicznego w ilościach przewyższających zapotrzebowanie roślin na fosfor, a czynnikiem ograniczającym ich aktywność w glebie jest dostępność fosforu organicznego ulegającego hydrolizie.

W badanych glebach aktywność fosfatazy kwaśnej była około 1,5-krotnie większa niż fosfatazy alkalicznej (tab. 2). Kwaśna fosfataza jest enzymem o małej specyficzności substratowej, mającym zdolność hydrolizowania wielu połączeń fosforanowych o zróżnicowanej budowie cząsteczki [41].

Uzyskane w pierwszym roku doświadczenia wyniki wskazują, że spośród testowanych preparatów najkorzystniej na aktywność enzymatyczną badanych gleb działa preparat Rosahumus. Korzystny wpływ tego preparatu na aktywność enzymatyczną gleb wykazano także w innych badaniach [13, 26]. Oddziaływanie pozostałych preparatów użyźniających (EM, PRP Sol i UGmax) na właściwości biochemiczne analizowanych gleb było mniej wyraźne, a w przypadku badanych fosfatyz, wręcz niekorzystne (tab. 1-4). Martyniuk i Księżak [19] podkreślają, że w warunkach polowych trudno jest uzyskać pozytywne efekty stosowania preparatów mikrobiologicznych, głównie ze względu na skomplikowane interakcje między organizmami glebowymi oraz oddziaływanie bardzo zmiennych warunków pogodowych i abiotycznych właściwości gleb na rozwój mikroorganizmów glebowych. Liczebność mikroorganizmów wprowadzanych do gleby jest zwykle zredukowana do poziomu naturalnego. Każda gleba w warunkach naturalnych zasiedlona jest przez drobnoustroje, które przystosowały się do życia w danej glebie i skolonizowały w niej wszystkie dostępne i umożliwiającej egzystencję nisze ekologiczne [4, 35]. W przypadku tych środków bardzo ważną jest rzetelność w procesie ich wytwarzania i dobra jakość (czystość) produktu końcowego [19].

4. Wnioski

1. Zastosowane preparaty użyźniające stymulowały aktywność dehydrogenaz, ureazy oraz proteazy w obydwu badanych glebach. W przypadku aktywności fosfatazy kwa-

szej i fosfatazy alkalicznej efekt stymulacji zaznaczył się wyłącznie w przypadku aplikacji preparatu Rosahumus, i to tylko w obiekcie z pełną dawką nawożenia mineralnego.

2. W warunkach prowadzonego eksperymentu polowego aktywność dehydrogenaz, ureazy i proteazy w glebie piaszczystej była kilkakrotnie niższa niż w glebie gliniastej. Podobne tendencje stwierdzono w przypadku badanych fosfatyz, ale różnice te były znacząco mniejsze niż dla pozostałych enzymów.

3. Uzyskane w pierwszym roku doświadczenia wyniki wskazują, że spośród testowanych preparatów najkorzystniej na aktywność enzymatyczną badanych gleb działa preparat Rosahumus. Oddziaływanie pozostałych preparatów użyźniających (EM, PRP Sol, UGmax) na właściwości biochemiczne analizowanych gleb było mniej wyraźne, a w przypadku fosfatyz, wręcz niekorzystne.

4. Kontynuacja badań w zakresie wpływu preparatów użyźniających na właściwości biologiczne różnych typów i rodzajów gleb pozwoli na weryfikację bardzo kontrowersyjnych opinii na temat ich skuteczności w warunkach polowych oraz celowości ich stosowania w praktyce rolniczej.

5. Bibliografia

- [1] Bandick A.K. and Dick R.P.: Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.*, 1999, 31, 1471-1479.
- [2] Bielińska E.J., Mocek-Płóćiniak A.: Fosfatazy w środowisku glebowym. Monografia, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2009. ISBN 978-83-7160-554-3.
- [3] Bielińska E.J., Pranagal J.: Enzymatic activity of soil contaminated with triazine herbicides. *Polish J. of Environ. Stud.*, 2007, 16, 2, 295-300.
- [4] Condor A.F., Perez P.G., Lokare Ch.: Effective Microorganisms; Myth or reality *Rev. Peru. Biol.*, 2006, 14(2), 315-320.
- [5] Dahm H., Wrótniak-Drzewiecka W., Pauter A.: Microbial biofertilizers. In: *Physical, chemical and biological properties in soils*. Red.: L.W. Szajdak, A.K. Karabanow, Prodrak, Poznań, 2010, 537-547.
- [6] Dick R.P.: Soils enzyme activities as indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment. *Spe-*

- cial Pub. 35, Soil Sci. Soc. Am. Inc., Madison, WI, eds. Doran J.W., Coleman D.C., Bezdicek D.F., Steward B.A., 1994, 107-124.
- [7] Domżał H., Bielińska E.J. (red.): Ocena przeobrażeń środowiska glebowego i stabilności ekosystemów leśnych w obszarze oddziaływania Zakładów Azotowych „Puławy” S.A. Acta Agrophysica 145, Rozprawy i Monografie 2007 (2), 79-90.
- [8] Gianfreda L., Bollag J.M.: Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. Soil Biochemistry. Stotzky G., Bollag J.M. (red.) Marcel Dekker, New York 9: 1996, 123-135.
- [9] Higa T.: Rewolucja w ochronie naszej planety. Fundacja - Rozwój SGGW, Warszawa, 2003.
- [10] Hofman J., Dusek L., Klanova J., Bezchlebova J., Holoubek I.: Monitoring microbial biomass and respiration in different soils from Czech Republic – a summary of results. Envir. Internat., 2004, 30, 19-30.
- [11] Januszek K.: Aktywność enzymatyczna wybranych gleb leśnych Polski południowej w świetle badań polowych i laboratoryjnych. Zesz. Nauk. AR w Krakowie, Rozprawy, 1999, 250.
- [12] Kieliszewska-Rokicka B.: Enzymy glebowe i ich znaczenie w badaniach aktywności mikrobiologicznej gleby. Drobnoustroje środowiska glebowego. Red. H. Dahm, A. Pokojska-Burdziej, UMK Toruń, 2001, 37-47.
- [13] Kołodziej B., Sugier D., Bielińska E.J.: The effect of leonardite application and various plantation modalities on yielding and quality of roseroot (*Rhodiola rosea* L.) and soil enzymatic activity. Journal of Geochemical Exploration, j.gexplo. 014, 2012, 12-19.
- [14] Kucharski J., Wyszowska J., Borowik A.: Aktywność ureazy w glebie nawożonej obornikiem i kompostem. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln., 2009, 537, 217-225.
- [15] Ladd N., Butler J.H.A.: Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. Soil Biol. Biochem., 1972, 4, 19-30.
- [16] Li F., Yu J., Nong M., Kang S., Zhang J.: Partial root-zone irrigation enhanced soil enzyme activities and water use of maize under different ratios of inorganic to organic nitrogen fertilizers. Agricult. Water Manag., 97, p. 925-934, 2010.
- [17] Mandal A., Patra A.K., Singh D., Swarup A., Mastro R.E.: Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages. Biores. Techn. 2007, 98, 3585-3592.
- [18] Margesin R., Zimmerbauer A., Schinner F.: Monitoring of bioremediation by soil biological activities. Chemosphere 2000, 40, 339-346.
- [19] Martyniuk S., Książak J.: Ocena pseudomikrobiologicznych biopreparatów stosowanych w uprawie roślin. Pol. J. Agron., 2011, 6, 27-33.
- [20] Maurel M., Ricard J.: The evolution of catalytic function. Phys. Life Rev., 2006, 3, 56-64.
- [21] Mijangos I., Perez R., Albizu I., Garbisu C.: Effect of fertilization and tillage on soil biological parameters. Enz. Microb. Techn., 2006, 40, 100-106.
- [22] Nahas E., Centurion J.F., Assis L.C.: Efeito das características químicas dos solos sobre os microorganismos solubilizadores de fosfato e produtores de fosfatases. Revista Brasileira do Ciéncia do Solo 1994, 18, 1, 49-53.
- [23] Piekut K., Pawluśkiewicz B.: Rolnicze podstawy kształtowania środowiska. Wyd. SGGW, Warszawa, 2005.
- [24] Renella G., Landi L., Valeri F., Nannipieri P.: Microbial and hydrolase activity after release of low molecular weight organic compounds by a model root surface in a clayey and sandy soil. Appl. Soil Ecol., 2007, 36, 124-129.
- [25] Shingh D.K., Kumar S.: Nitrate reductase arginine deaminase, urease and dehydrogenase activities in natural soil (ridges with forest) and in cotton soil after acetamiprid treatments. Chemosphere, 2008, 71, 412-418.
- [26] Sugier D., Kołodziej B., Bielińska E.J.: The effect of leonardite application on *Arnica montana* L. yielding and chosen chemical properties and enzymatic activity of the soil. Journal of Geochemical Exploration, j.gexplo. 013, 2012, 34-41.
- [27] Sulewska H., Szymańska G., Pecio A.: Ocena efektów stosowania użyźniacza glebowego UGmax w uprawie kukurydzy na ziarno i kiszonkę. J. Res. Appl. Agric. Engng, 2009, Vol. 55(4), 120-125.
- [28] Tabatabai M.A., Bremner J.M.: Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. Soil Biol. Biochem., 1969, 1, 301-307.
- [29] Tarafdar J.C., Rao A.V.: Effect of manures and fertilizers on dehydrogenase and phosphatase in the rhizosphere of arid crops. J. Soil Sci., 1990, 23, 2, 189-193.
- [30] Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S. and Burns R.G.: Comparison of microbial number and enzymatic activities in surface soils and subsoil using various techniques. Soil Biol. Biochem., 2002, 34(3), 387-401.
- [31] Thalmann A.: Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Landwirtsch. Forsch., 1968, 21, 249-258.
- [32] Tian Y., Zhang X., Liu J., Chen Q and Gao L.: Microbial properties of rhizosphere soils as affected by rotation, grafting, and soil sterilization in intensive vegetable production systems. Scient. Horticult., 2009, 123, 139-147.
- [33] Trasar-Cepeda C., Leirós C., Gil-Sotres F., Seoane S.: Towards a biochemical quality index for soils: An expression relating several biological and biochemical properties. Biol. Fertil. Soils, 1998, 26, 100-106.
- [34] Truu M., Truu J., Ivask M.: Soil microbiological and biochemical properties for assessing the effect of agricultural management practices in Estonian cultivated soils. Europ. J. Soil Biol., 2008, 44, 231-237.
- [35] Van Vliet P.C.J., Bloem J., de Goede R.G.M.: Microbial diversity, nitrogen loss and grass production after addition of Effective Microorganisms (EM) to slurry manure. Appl. Soil Ecol., 2006, 32(2), 188-198.
- [36] Wyszowska J., Kucharski J., Boros E.: Właściwości biochemiczne gleby zanieczyszczonej nikiem, nawożonej celulozą i siarczanem amonu. Ekol. Tech., 2008, 5, 242-247.
- [37] Wyszowska J., Kucharski M., Kucharski J., Borowik A.: Activity of dehydrogenases, catalase and urease in copper polluted soil. J. Elementol., 2009, 14(3), 605-617.
- [38] Wyszowska J., Kucharski M., Kucharski J.: Activity of β -glucosidase, arylsulfatase and phosphatase in soil contaminated with copper. J. Elementol., 2010, 15(1), 213-226.
- [39] Xu W., Wang S.: Water and plant-mediated responses of soil respiration to topography, fire and nitrogen in a semiarid grassland in northern China. Soil Biol. Biochem., 2008, 40, 679-687.
- [40] Zantua M.I., Bremner J.M.: Comparison of methods of assaying urease activity in soils. Soil Biol. Biochem., 1975, 7, 291-295.
- [41] Żyła K., Kujawski M.: Enzymatyczna defitynizacja żywności i pasz przez fosfatazy grzybni odpadowej *Aspergillus Niger* „Z”. Przem. Ferm. Owoc.-Warz., 1989, 10, 9-11.