

## Zawartość i dystrybucja fosforu oraz aktywność fosfatyz w leśnych glebach rdzawych w obszarze długoletniego oddziaływania Zakładów Azotowych Anwil we Włocławku

Phosphorus content and distribution and the activity of phosphatases in Arenosols in forest affected by long-term exposure to the effects of the Nitrogen Works Anwil in Włocławek

Joanna Lemanowicz

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Zakład Biochemii, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

Tel. +48 52 3749555, e-mail: jl09@interia.pl

**Abstract.** This paper presents the results of research examining the soil content of total and available phosphorus ( $P_{E-R}$ ) taking the activity of alkaline and acid phosphatase into consideration. For this study three soil profiles were sampled in Arenosols at a distance of 0.8 km, 2.0 km and 2.5 km from the Nitrogen Works Anwil SA as well as a control profile in the Tuchola Forest. The soils' reaction ranged from acidic to very acidic. The humus content in the surface horizons of the sampled profiles was average (1.26 – 2.61%). The lowest  $P_{E-R}$  content was found in the profile sampled closest (0.8 km) to the Nitrogen Works. The Distribution Index (DI) calculated for available phosphorus pointed towards moderate accumulation, while at the same time the availability index (IM) confirmed low availability especially in profile I. The activity of alkaline and acid phosphatase, which are the enzymes responsible for the phosphorus transformation in the soil, varied depending on the distance from the Nitrogen Works. Inhibition of alkaline phosphomonoesterases and stimulation of the acid esterases, which were both connected to the examined soil reaction, were observed. The activity of phosphatases as well as total and available phosphorus content were decreasing steeply along the soil profiles. Furthermore, a significant correlation between  $C_{org}$  and the activity of alkaline and acid phosphatase ( $r=0.94$ ,  $p<0.05$  and  $r=0.67$ ,  $p<0.05$ , respectively) as well as between the content of  $P_{E-R}$  and the activity of alkaline phosphatase ( $r=0.67$ ,  $p<0.05$ ) was recorded. The results suggest a need for further research and monitoring of Arenosols in the forest affected by the Nitrogen Works.

**Keywords:** forest soil, enzymes, phosphorus

### 1. Wstęp

Gwałtowny rozwój przemysłu na świecie jest jedną z głównych przyczyn niekorzystnych zmian ekologicznych zachodzących w środowisku. Zmiany te następują z reguły w stosunku wprost proporcjonalnym do rozwoju przemysłu. Powoduje to konieczność oceny stopnia degradacji środowiska, a w szczególności terenów zlokalizowanych w pobliżu zakładów przemysłowych (Bielińska, Ligęza 2010). W otoczeniu dużych emiterów las i gleba są systemem filtrującym i buforującym emisję pyłów i gazów. W przypadku przekroczenia pojemności akumulacyjnej roślin i gleb dochodzi do degradacji ekosystemu (Kowalkowski, Kopron 2006). Parametry fizykochemiczne i biologiczne gleb relatywnie szybko reagują na antropogeniczne zmiany środowiska, w tym emisje przemysłowe (Koper et al. 2008; Telesiński et al. 2010).

Skażenie gleb w pobliżu zakładów, składowanie odpadów oraz zanieczyszczenie powietrza prowadzą do zmian w dostępności składników pokarmowych, których jony mogą migrować w głąb profilu glebowego (Shang et al. 2012), powodując m.in. eutrofizację wód. Do diagnozy stanu zanieczyszczenia gleb stosuje się m.in. metody biologiczne (Hinojosa et al. 2008; Bartkowiak, Lemanowicz 2014). Głównie wykorzystuje się pomiary aktywności enzymów, takich jak: dehydrogenazy, fosfatazy, ureazy, proteazy (Kucharski et al. 2011; Januszek et al. 2014), gdyż są one bardzo wrażliwe na naturalne i antropogeniczne zmiany środowiska oraz wskazują na poziom żyzności gleby.

Celem pracy było określenie wpływu długoletniego oddziaływania Zakładów Azotowych na właściwości fizykochemiczne leśnej gleby rdzawej na tle jej aktywności fosfatyzowej.

Wpłynęło: 4.08.2014 r., zrecenzowano: 9.12.2014 r., zaakceptowano: 12.02.2015 r.

## 2. Materiał i metody

### Teren badań

Zakłady Azotowe ANWIL SA, istniejące od 1966 roku, są w kraju jednym z największych producentów nawozów azotowych, produkujących m.in. saletrę amonową i saletrzak. Produkują również suspensyjny polichlorek winylu, wyroby chemiczne dla przemysłu przetwórczego różnych branż oraz środki produkcji dla rolnictwa. Zakłady zlokalizowane są we Włocławku (52°41'55"N, 18°58'09"E), w województwie kujawsko-pomorskim, w Krainie Wielkopolsko-Pomorskiej. W lasach w pobliżu zakładu dominuje sosna zwyczajna (*Pinus sylvestris* L.) porastająca siedlisko boru mieszanego świeżego (BMśw). W runie przeważają szczawik zajęczy (*Xalis acetosella*), płonnik strojny (*Polytrichum attenuatum*), orlica pospolita (*Pteridium aquilinum*).

Do realizacji badań pobrano w czerwcu 2010 roku próbki gleby z poziomów mineralnych trzech profili glebowych z terenu przyległego do Zakładów Azotowych Anwil SA w strefie ich oddziaływania. Badane profile leśnej gleby rdzawej (należące do rzędu: rdzawoziemnych *R*, typu: rdzawe *RW*, podtypu rdzawe typowe *RWt*) (Komisja V Genezy, Klasyfikacji i Kartografii Gleb PTG. 2011) oddalone były od zakładu, kolejno: profil I (poziom *A*, *Bv*, *C*) – ok. 0,8 km w kierunku zachodnio-północnym; profil II (poziom *A*, *ABv*, *Cl*, *C2*) – ok. 2 km na zachód; profil III (poziom *A*, *ABv*, *BvC*, *C*) – ok. 2,5 km od prawego brzegu Wisły w kierunku wschodnim. Profil kontrolny leśnej gleby rdzawej (poziom *A*, *ABv*, *BvC*, *C*), położony poza zasięgiem oddziaływania emisji, pobrano na siedlisku boru mieszanego świeżego (BMśw) w miejscowości Szumiąca w Borach Tucholskich.

### Analizy chemiczne gleb

W powietrznym suchych próbkach glebowych o naruszonej strukturze, przygotowanych zgodnie z normą PN-ISO 11464 (1999), oznaczono wybrane właściwości fizykochemiczne: węgiel organiczny ( $C_{org}$ ) za pomocą analizatora TOCN FORMACTS™ firmy Skalar – wyniki przeliczono na próchnicę, azot ogółem ( $N_{og}$ ) metodą Kjeldahla (PN-ISO 11261, 2002), pH potencjometrycznie w 1M KCl (PN-ISO-10390, 1997), fosfor ogółem ( $P_{og}$ ) metodą Mehta et al. (1954), fosfor przyswajalny ( $P_{E-R}$ ) metodą Egnera-Riehma – DL (PN-R-04023, 1996), aktywność fosfatazy alkalicznej (AIP) [E.C. 3.1.3.1] i kwaśnej (AcP) [E.C. 3.1.3.2] według Tabatabai, Bremner (1969). Na podstawie uzyskanych wyników badań aktywności fosfatazy alkalicznej i kwaśnej obliczono enzymatyczny wskaźnik poziomu pH gleby ( $AIP/AcP$ ) (Dick et al. 2000). Do oceny dostępności fosforu wykorzystano wskaźnik ruchliwości (*IM*), który wyraża procentowy udział fosforu przyswajalnego w jego całkowitej zawartości. Dystrybucję badanych pierwiastków w profilach glebowych opisano stosując wskaźnik dystrybucji (*DI*) (Kobierski et al. 2011) jako stosunek zawartości pierwiastka w poziomie solum do zawartości pierwiastka w skale macierzystej, gdzie:  $DI < 1$  cha-

rakteryzuje brak antropogenicznego oddziaływania;  $1 \leq DI \leq 3$  – oznacza umiarkowaną akumulację,  $3 \leq DI \leq 6$  – znaczną akumulację,  $DI > 6$  – bardzo wysoką akumulację.

W pracy przedstawiono średnie arytmetyczne uzyskanych wyników z trzech powtórzeń. Wyniki pod względem badanych cech poddano analizie korelacji prostej ( $p < 0,05$ ), która określa stopień zależności pomiędzy poszczególnymi cechami. Analizę korelacji wykonano w programie Statistica 10.

## 3. Wyniki i dyskusja

Na podstawie przeprowadzonej analizy granulometrycznej stwierdzono, że były to gleby o składzie mechanicznym piasków luźnych i słabogliniastych (Polskie Towarzystwo Gleboznawcze. 2009). Zawartość frakcji iłowej ( $\phi < 0,002$  mm) wahała się w przedziale 1–9% (tab. 1). Dominującą frakcją była frakcja piasku o średnicy od 0,05 do 2,0 mm. Kwasowość wymienna mieściła się w zakresie 4,09–5,41 jednostek pH, natomiast w punkcie kontrolnym 4,25–5,11 (tab. 1), co wskazuje na kwaśny i bardzo kwaśny odczyn gleby. Według Bielińskiej i in. (2009) zakwaszenie gleb w pobliżu zakładu związane było z długotrwałą emisją azotową. Zwiększona emisja azotu do gleb leśnych powoduje uwalnianie protonów  $H^+$ , które nie jest równoważone ich wiązaniem podczas mineralizacji materiału roślinnego. Przyczynia się to do wtórnych skutków zakwaszenia gleb.

Zawartość węgla związków organicznych w badanych profilach glebowych, będących pod wpływem oddziaływania zakładu, kształtowała się w przedziale 0,48–19,7 g/kg, natomiast w glebie pobranej w Borach Tucholskich 0,63–16,2 g/kg. We wszystkich profilach stwierdzono więcej Corg w poziomach powierzchniowych, które charakteryzowały się średnią i dużą zawartością próchnicy (1,26–2,61%) (tab. 1). Według Mocka i Owczarzaka (2010) zawartość próchnicy w glebach Polski jest mała (w województwie kujawsko-pomorskim szacuje się ją na poziomie 1,85%). Zawartość azotu ogółem wynosiła od 0,05 do 1,25 g/kg. Wyliczony wskaźnik dystrybucji dla tego składnika pokarmowego ( $DI > 6$ ) wskazuje na wyraźną tendencję do bardzo wysokiej akumulacji w poziomach powierzchniowych badanych profili glebowych (będących w pobliżu oddziaływania zakładu), co jest związane z wpływem antropogenicznym (tab. 3). W poziomie A (0–20 cm) profilu pobranego z miejsca kontrolnego wskaźnik dystrybucji wyniósł  $DI=19$ . Jednak głównym źródłem azotu w glebie kontrolnej mogły być liście drzew i obumarła roślinność, ulegające procesom mineralizacji, co wzbogaca ją w składniki odżywcze. Wartość stosunku węgla do azotu (C:N) była największa w poziomach powierzchniowych (10,96–12,63, profili II–IV) i zmniejszała się w głąb profilu glebowego. Na podstawie Siuty (1995) wartość stosunku C:N kształtująca się w zakresie 10:1 – 17:1 oznacza glebę słabo zdegradowaną. Jak podają Brogowski i Chojnicki (2013), materia organiczna dostająca się do gleb leśnych w zdecydowanej większości podlega procesowi mineralizacji, natomiast mniejsza jej część procesowi humifikacji, którego produktem jest próchnica. Według Kowalkowskiego i Kopron (2006)

wąski zakres wartości stosunku C:N wskazuje na nadmierną atmosferyczną depozycję azotu i siarki oraz pyłów dymnicowych bogatych w łatwo rozpuszczalne związki Ca, Mg, K, S. W poziomach powierzchniowych najmniejszą wartość C:N stwierdzono w glebie profilu I (9,37).

Zawartość fosforu ogółem w glebie określa tylko stopień jej zasobności i nie świadczy o możliwości pobierania tego pierwiastka przez rośliny. Zawartość  $P_{og}$  w profilach

glebowych objętych oddziaływaniem zakładu mieściła się w zakresie 0,250–0,380 g/kg (tab. 2), natomiast w odkrywcce kontrolnej zawartość była większa (0,308–0,412 g/kg). Wartość wskaźnika dystrybucji ( $DI$ ) dla  $P_{og}$  wskazuje na jego pedogeniczne nagromadzenie.

Zawartość fosforu przyswajalnego dla roślin w warstwach powierzchniowych badanych profili kształtowała się w przedziale bardzo niskim, tj. 9,15–19,58 mg/kg (tab. 2). W po-

**Tabela 1. Fizykochemiczne właściwości leśnej gleby rdzawej**

Table 1. Physicochemical properties of a rusty soils

Nr profilu Profile No	Głębokość Depth cm	Poziom Horizon	$C_{org}$ g/kg	Próchnica Humus %	$N_{og}$ g/kg	pH KCl	C:N	Fracje / Fractions %			Symbol*
								0,05–2,0	0,002–0,05	<0,002	
I 0,8 km	0–15	A	7,31	1,26	0,78	4,46	9,37	87	12	1	ps
	15–72	Bv	4,09	0,71	0,41	4,99	10,0	90	9	1	ps
	72–100	C	0,72	0,12	0,12	4,09	6,00	97	2	1	pl
II 2 km	0–15	A	13,74	2,37	1,25	4,72	10,99	86	11	3	ps
	15–39	ABv	5,65	0,97	0,51	4,98	11,08	93	6	1	pl
	39–87	C1	0,38	0,07	0,05	4,97	7,60	84	12	4	ps
	87–100	C2	0,37	0,06	0,05	4,97	7,40	91	6	3	pl
III 2,5 km	0–4	A	15,1	2,61	1,20	4,39	12,63	87	6	7	ps
	4–18	ABv	9,05	1,56	0,75	4,93	12,07	97	2	1	pl
	18–60	Bv	3,09	0,53	0,31	5,17	9,97	95	3	2	pl
	60–150	C	0,40	0,07	0,05	5,41	8,00	97	2	1	pl
IV Kontrola Control	0–20	A	12,5	2,16	1,14	5,11	10,96	88	3	9	ps
	20–50	ABv	3,80	0,66	0,37	5,13	10,27	95	0	5	pl
	50–100	BvC	0,53	0,09	0,07	4,25	7,57	94	1	5	pl
	100–130	C	0,49	0,08	0,06	4,31	8,17	98	1	1	pl

\*pl – piasek luźny / S – sand, ps – piasek słabogliniasty / S – sand

**Tabela 2. Zawartość fosforu ogółem ( $P_{og}$ ) i przyswajalnego ( $P_{E-R}$ ), aktywność fosfatazy alkalicznej (AIP) i kwaśnej (AcP) oraz wskaźnik ruchliwości ( $IM$ ) i enzymatyczny wskaźnik poziomu pH ( $AIP/AcP$ )**

Table 2. The content of total ( $P_{og}$ ) and available phosphorus ( $P_{E-R}$ ), the activity of alkaline (AIP) and acid (AcP) phosphatase, mobility index ( $IM$ ) and enzymatic soil pH index ( $AIP/AcP$ )

Nr Profilu Profile No	Głębokość Depth [cm]	Poziom Horizon	$P_{og}$ g/kg	$P_{E-R}$ mg/kg	$IM$ %	AIP	AcP	$AIP/AcP$
						mM pNP/kg/h		
I 0,8 km	0–15	A	0,281	9,156	3,25	1,445	12,87	0,11
	15–72	Bv	0,315	10,51	3,33	0,647	3,882	0,17
	72–100	C	0,259	6,233	2,40	0,310	0,670	0,46
II 2 km	0–15	A	0,314	11,89	3,78	1,581	6,578	0,24
	15–39	ABv	0,273	10,87	3,98	0,805	2,020	0,40
	39–87	C1	0,320	9,16	2,86	0,453	0,748	0,61
	87–100	C2	0,292	6,88	2,35	0,256	0,498	0,51
III 2,5 km	0–4	A	0,250	19,58	7,83	2,243	6,463	0,35
	4–18	ABv	0,258	14,73	5,71	0,913	1,783	0,51
	18–60	Bv	0,380	12,45	3,27	0,446	1,610	0,28
	60–150	C	0,268	7,239	2,70	0,223	0,546	0,41
IV Kontrola Control	0–20	A	0,412	19,44	4,72	1,438	7,131	0,20
	20–50	ABv	0,308	15,41	5,00	0,719	2,308	0,31
	50–100	BvC	0,316	15,39	4,87	0,561	1,905	0,29
	100–130	C	0,321	8,53	2,65	0,179	0,776	0,23

ziomie 0–20 cm pobranym w Borach Tucholskich zawartość ta wynosiła 19,44 mg/kg, podobnie jak w punkcie III oddalonym o 2,5 km od emitora. Za krytyczną wartość dla roślin można uznać zawartość przyswajalnego fosforu około 30 mg/kg gleby. Najmniejszą akumulację  $P_{E-R}$  (6,233–10,51 mg/kg) stwierdzono w profilu usytuowanym najbliżej Zakładów Azotowych Anwil, było to związane z bardzo kwaśnym odczynem gleby, gdyż pierwiastek ten jest szczególnie wrażliwy na jego zmiany. Przy niskim pH część fosforu tworzy trudno rozpuszczalne związki z jonami Fe, Al i Mn, powodując wyłączenie tego pierwiastka z obiegu biologicznego. Jednocześnie przy braku nawożenia, niska zawartość fosforu przyswajalnego jest intensywnie pobierana przez rośliny, przez co w glebie pozostają niewielkie ilości  $P_{E-R}$ . Do oceny dostępności fosforu wykorzystano wskaźnik ruchliwości (*IM*). Najmniejsze wartości *IM* uzyskano w glebie profilu I (3,25–2,40), co wiązało się z małą zawartością  $P_{E-R}$ , potwierdzone analizą korelacji ( $r=0,91$ ;  $p<0,05$ ), natomiast w profilu III wartość *IM* była największa (2,7–7,82).

Wartość wskaźnika dystrybucji (*DI*) fosforu przyswajalnego w glebie profilu I mieściła się w zakresie od 1,469 do 1,686, profilu II od 1,332 do 1,728, profilu III od 1,721 do 2,705, natomiast profilu pobranego z Borów Tucholskich w zakresie 1,805–2,280 (tab. 3), co wskazuje na jego umiarkowaną akumulację.

Zawartość fosforu przyswajalnego wyraźnie malała w głąb każdego z badanych profili glebowych, co należy wiązać z niewielką mobilnością fosforu w glebie (Miletic et al. 2012). Jak wykazały badania Łabaz i Bogacz (2011) ujemna korelacja zawartości  $P_2O_5$  z głębokością pobierania próbek glebowych ( $r=-0,52$ ) również wskazała na niski stopień wymywania tego pierwiastka do głębszych warstw gleby.

Testy enzymatyczne pozwalają na ocenę zarówno wpływu czynników naturalnych, jak i antropopresji na funkcjonowanie ekosystemów (Olszowska 2009; Bartkowiak, Lemanowicz 2014; Januszek et al. 2014). Aktywność fosfatazy alkalicznej i kwaśnej zmieniała się w zależności od oddalenia badanych

profilu od emitora. W profilu glebowym pobranym w odległości ok. 0,8 m od zakładu stwierdzono inhibicję aktywności fosfatazy alkalicznej (0,310–1,445 mM pNP/kg/h), natomiast aktywność fosfatazy kwaśnej była najwyższa (0,670–12,87 mM pNP/kg/h) (tab. 3). Miało to związek z bardzo kwaśnym odczynem gleby. Wyższa aktywność fosfatazy kwaśnej wynika z faktu, że fosfomonoestery są enzymami najbardziej wrażliwymi na zmiany odczynu gleby, optimum pH dla aktywności fosfatazy alkalicznej wynosi 9,0–11,0, a dla fosfatazy kwaśnej 4,0–6,5 (Wittman et al. 2004; Lemanowicz 2013). Aktywność AIP w glebie kontrolnej kształtowała się w zakresie 0,179–1,438 mM pNP/kg/h, kwaśnej 0,776–7,131 mM pNP/kg/h. Wysoki potencjał fosforolityczny gleb w uprawach sosnowych wykazali wcześniej Bielińska i in. (2009). Badania Mocek-Płociniak (2009) również potwierdziły zależność między aktywnością enzymów (dehydrogenazą, fosfatazą, ureazą i proteazą) a odległością od Huty Miedzi w Legnicy. Wysoka inaktywacja enzymatyczna gleb w punktach leżących w pobliżu Huty Miedzi została połączona z największym zanieczyszczeniem środowiska metalami ciężkimi. Korzystne zmiany badanych parametrów gleby ( $C_{org}$ ,  $P_{E-R}$ , AIP) wraz ze wzrostem odległości od Zakładów Azotowych są przejawem zdolności gleby do samoregulacji. Jednocześnie należy podkreślić, że badane profile glebowe zlokalizowane były w różnych kierunkach od emitora, dlatego intensywność presji antropogenicznej mogła być związana z „różą wiatrów” (Bielińska, Ligęza 2010).

Aktywność fosfomonoesteraz zmniejszała się wraz z głębokością profili glebowych. Tendencja ta ma związek z przestrzennym rozmieszczeniem próchnicy, jak również drobnoustrojów glebowych oraz malejącej ilości substratów węglowych dostępnych zarówno dla mikroorganizmów, jak i enzymów (Januszek et al. 2006; Kizilkaya, Dengiz 2010), co potwierdzają wyniki zawartości  $C_{org}$  i próchnicy (Olszowska 2011; Brogowski, Chojnicki 2013).

Dick i in. (2000) wykorzystywali pomiar aktywności fosfataz do wyznaczania optymalnego odczynu gleby, gdyż

**Tabela 3. Wartości wskaźnika rozmieszczenia (*DI*)**

Table 3. Distribution index value (*DI*)

Nr profilu Profile no	Głębokość Depth [cm]	Poziom Horizon	$C_{org}$	$N_{og}$	$P_{og}$	$P_{E-R}$
I 0,8 km	0–15	A	10,1	6,50	1,085	1,469
	15–72	Bv	5,68	3,41	1,216	1,686
II 2 km	0–15	A	37,1	25,0	1,075	1,728
	15–39	ABv	15,2	10,2	0,935	1,580
	39–87	C1	1,02	1,00	1,096	1,332
III 2,5 km	0–4	A	37,9	24,0	0,933	2,705
	4–18	ABv	22,6	15,0	0,963	2,036
	18–60	Bv	7,72	6,20	1,418	1,721
IV Kontrola Control	0–20	A	25,5	19,0	1,283	2,280
	20–50 50–100	ABv BvC	7,75 1,08	6,16 1,16	0,960 0,984	1,807 1,805

Oznaczenia jak w tab. 2 / Symbols as in Table 2

stosunek aktywności fosfatazy zasadowej do kwaśnej (enzymatyczny wskaźnik poziomu pH) okazał się czułym wskaźnikiem zmian pH w glebie. Wartości stosunku  $AIP/AcP$  w glebach profili położonych w zasięgu oddziaływania zakładu mieściła się w zakresie 0,11–0,61 (tab. 2.). Według Dicka i in. (2000) wartość stosunku  $AIP/AcP$  niższa od 0,5 świadczy o kwaśnym odczynie gleby. Potwierdziły to badania potencjometryczne pH gleby w 1 M KCl (tab. 1). Najniższe wartości  $AIP/AcP$  uzyskano w warstwach powierzchniowych badanych profili (0,11–0,35), które były najbardziej poddane działaniu emitora. Enzymatyczny wskaźnik poziomu pH może być wykorzystywany do określania zmian zachodzących w glebie (Dick et al. 2000; Lemanowicz 2013; Bartkowiak, Lemanowicz 2014).

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej uzyskano korelację prawie pełną dla związku między zawartością węgla związków organicznych a aktywnością fosfatazy alkalicznej ( $r=0,94$ ;  $p<0,05$ ) oraz wysoką korelację między  $C_{org}$  i aktywnością kwaśnej fosfatazy ( $r=0,67$ ;  $p<0,05$ ) (tab. 4). Aktywność enzymatyczna gleby zależy bezpośrednio od zawartości substancji organicznych (An et al. 2008; Olszowska 2011).

**Tabela 4. Wartość współczynników korelacji ( $n=30$ )**  
Table 4. Person's correlation coefficients ( $n=30$ )

Parametry Parameters	$C_{org}$	$N_{og}$	C:N	$P_{E-R}$	IM	AIP	AcP
$C_{org}$	-	0,99	0,84	0,68	0,69	0,94	0,67
$N_{og}$		-	0,81	0,64	0,63	0,93	0,73
C:N			-	0,72	0,75	0,74	n.i. / n.s.
$P_{E-R}$				-	0,91	0,67	n.i. / n.s.
IM					-	0,73	n.i. / n.s.
AIP						-	0,78
AcP							-

Poziom istotności  $p<0,05$  / Significance level  $p<0,05$ ; n.i. – nieistotne / n.s. – not significant

Oznaczenia jak w tab. 2 / Symbols as in Table 2

Wysokie wartości współczynników korelacji pomiędzy badanymi enzymami a zawartością  $C_{org}$  i  $N_{og}$  wskazują na istotne znaczenie tych enzymów w przemianach składników materii organicznej badanych gleb leśnych (Koper et al. 2008). Podobne wyniki uzyskali wcześniej Januszek i in. (2006). Natomiast badania Bielińskiej i in. (2010) wykazały ściśle dodatnie korelacje pomiędzy aktywnością enzymatyczną (dehydrogenaz, fosfataz i proteaz) a zawartością  $N-NH_4^+$  i  $N-NO_3^-$ . Sugeruje to, że badany ekosystem włączył do biologicznego obiegu związku azotu docierające z atmosfery. Uzyskano silną zależność pomiędzy zawartością fosforu przyswajalnego w glebie a aktywnością fosfatazy alkalicznej ( $r=0,67$ ;  $p<0,05$ ), co sugeruje, że enzym ten był odpowiednim parametrem charakteryzującym analizowane gleby pod względem zawartości  $P_{E-R}$ , w przeciwieństwie do aktywności fosfatazy kwaśnej. Powszechnie obserwowana jest liniowa

zależność między aktywnością fosfataz kwaśnych a ilością uwalnianych do roztworu glebowego nieorganicznych form fosforu (Nannipieri et al. 2011).

Wykazano znaczną dodatnią korelację ( $r=0,68$ ;  $p<0,05$ ) pomiędzy zawartością fosforu przyswajalnego a zawartością  $C_{org}$ . Większa zawartość węgla związków organicznych zwykle powoduje zwiększenie aktywności biologicznej gleby, co przyspiesza proces mineralizacji składników pokarmowych w glebie.

## 4. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań sformułowano następujące wnioski:

1. Długoletnia emisja związków azotowych spowodowała wzrost zakwaszenia gleby, zmniejszenie zawartości próchnicy, a tym samym zmniejszenie zawartości fosforu przyswajalnego.

2. Wartości wskaźnika dystrybucji fosforu w glebie wskazują na jego umiarkowaną akumulację niezwiązaną z wpływem antropopresji. Natomiast nagromadzenie azotu było skutkiem działalności antropogenicznej.

3. Zaobserwowano stymulację aktywności fosfatazy alkalicznej w glebie w miarę oddalania się od Zakładów Azotowych, czemu towarzyszyły korzystne zmiany zawartości węgla związków organicznych, próchnicy i fosforu przyswajalnego.

4. Badane parametry gleb leśnych były zróżnicowane w zależności od odległości od emitora. Zawartość fosforu ogółem i jego przyswajalnej formy oraz aktywność fosfatazy alkalicznej wzrastała wraz z odległością od zakładu. Natomiast aktywność fosfatazy kwaśnej malała.

## Konflikt interesów

Autor deklaruje brak potencjalnych konfliktów.

## Podziękowania i źródła finansowania

Praca została sfinansowana ze środków na badania statutowe UTP, WRiB, Zakład Biochemii, Katedra Gleboznawstwa i Ochrony Gleb – nr 46/2014.

## Literatura

- An S., Zheng F., Pelts S., Hamer U., Makeschin F. 2008. Soil quality degradation processes along a deforestation chronosequence in the Ziwouling area, China. *Catena* 75: 248–256. DOI:10.1016/j.catena.2008.07.003.
- Bartkowiak A., Lemanowicz A. 2014. Application of biochemical tests to evaluate the pollution of the Unislaw Basin soils with heavy metals. *International Journal of Environmental Research* 8(1): 93–100.
- Bielińska E.J., Węgorzek T., Mocek A., Puchała A. 2009. Wpływ ryzofery na aktywność enzymatyczną gleb w uprawie regeneracyjnej sosny zwyczajnej w zasięgu długoletniej emisji azotowej, w: Tereny zdegradowane i rekultywowane – możliwości ich za-

- gospodarowania (red. S. Stankowski, K. Pacewicz) P.P.H. Zapol Dmochowski, Sobczyk Sp. J., Szczecin, 25–34.
- Bielińska E. J., Ligęza S. 2010. Biochemical properties of selected soils in the area of Puławy forest district. *Ecological Chemistry and Engineering A* 17 (6): 567–574.
- Bielińska E.J., Ligęza S., Kawecka-Radomska M. 2010. Wpływ długoterminowej emisji azotowej na aktywność enzymatyczną gleb uprawnych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 556: 795–802.
- Brogowki Z., Chojnicki J. 2013. Rozmieszczenie materii organicznej i azotu we frakcjach granulometrycznych poziomów genetycznych gleby brunatnej wylugowanej Lasu Kabackiego. *Sylwan* 157(6): 470–480.
- Dick W.A., Cheng L., Wang P. 2000. Soil acid alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biology Biochemistry* 32: 1915–1919. DOI: 10.1016/S0038-0717(00)00166-8.
- Hinojosa M.B., Carreira J.A., Rodriguez-Maroto J.M., Garcia-Ruiz R. 2008. Effects of pyrite pollution on soil enzyme activities: ecological dose-response model. *Science Total Environmental* 25: 89–99. DOI:10.1016/j.scitotenv.2008.02.014.
- Kizilkaya R., Dengiz O. 2010. Variation of land use and land cover effects on some soil physic-chemical characteristics and soil enzyme activity. *Zemdirbyste-Agriculture* 97(2): 15–24.
- Kobierski M., Staszak E., Kondratowicz-Maciejewska K., Ruszkowska A. 2011. Wpływ rodzaju użytkowania gleb na zawartość metali ciężkich i ich dystrybucję w profilach gleb rdzawych. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 49: 163–177.
- Komisja V Genezy, Klasyfikacji i Kartografii Gleb PTG. 2011. Systematyka Gleb Polski. *Roczniki Gleboznawcze* 62(3): 71–142.
- Koper J., Piotrowska A., Siwik-Ziomek A. 2008. Dehydrogenase and invertase activities in a rusty soil in the neighbourhood of the Włocławek nitrogen plant „Anwil”. *Proceedings of ECOpole* 2(1): 197–202.
- Kowalkowski A., Kopron H., 2006. Dynamika ekochemicznych właściwości gleb w regeneracyjnej uprawie sosnowej. *Monitoring Środowiska Przyrodniczego* 7: 73–85.
- Kucharski J. Wiczorek K., Wyszowska J. 2011. Changes in the enzymatic activity in sandy loam soil exposed to zinc pressure. *Journal of Elementology* 16(4): 577–589.
- Januszek K., Lasota J., Fiślak A. 2006. The evaluation of quality of soils of the Carpathian lime tree forest and beech forests on the basis of some chemical and biochemical properties. *Acta Scientiarum Polonorum seria Silvarum Colendarum Ratio et Industria Lignaria* 5(2): 71–87.
- Januszek K., Stępniewska H., Błońska E., Molicka J., Kozieł K., Gdula A., Wójs A. 2014. Wpływ siarczanu glinu na wybrane właściwości gleby oraz na wydajność i jakość sadzonek sosny zwyczajnej w leśnej szkółce gruntowej. *Leśne Prace Badawcze* 75(2): 127–138. DOI:10.2478/frp-2014-0012.
- Lemanowicz J. 2013. Mineral fertilization as a factor determining selected sorption properties of soil against the activity of phosphatases. *Plant Soil Environment* 59(10): 439–445.
- Łabaz B., Bogacz A. 2011. Zawartość wybranych metali ciężkich oraz zasobność gleb podstawowych występujących na terenie Obniżenia Milicko-Głogowskiego. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 49: 256–267.
- Mehta N.C., Legg J.O., Goring C.A., Black C.A. 1954. Determination of organic phosphorus in soils. *Soil Science Society America Proceedings* 44: 443–449. DOI: 10.2136/sssaj1954.03615995001800040023x.
- Miletić Z., Knežević M., Stajić S., Košanin O., Đorđević I. 2012. Effect of European Black Alder monocultures on the characteristics of reclaimed mine soil. *International Journal Environmental Research* 6: 703–710.
- Mocek-Płóciński A. 2009. Effect of mineral xenobiotics on the enzymatic activity of anthropogenically changed soils. *Polish Journal Environmental Studies* 18(3): 421–427.
- Mocek A., Owczarzak W. 2010. Gleba jako naturalne środowisko przyrodnicze. *Nauka Przyroda Technologie* 4, 6, #85.
- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., Renella G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. *Soil Biology* 26: 215–243.
- Olszowska G. 2009. Ocena aktywności biochemicznej gleb leśnych w różnych typach siedliskowych terenów górskich. *Leśne Prace Badawcze* 70(4): 383–394. DOI: 10.2478/v10111-009-0036-8.
- Olszowska G. 2011. Zmienność biochemiczna gleb siedlisk leśnych na granicy zasięgu buka zwyczajnego *Fagus sylvatica* L. w Polsce. *Leśne Prace Badawcze* 72(4): 321–328. DOI: 10.2478/v10111-011-0032-7.
- PN-R-04023. 1996. Analiza chemiczno-rolnicza gleby – Oznaczenie zawartości przyswajalnego fosforu w glebach mineralnych. Warszawa. Polski Komitet Normalizacji.
- PN-ISO-10390. 1997. Oznaczenie pH gleby.
- PN-ISO 11464. 1999. Jakość gleby – Wstępne przygotowanie próbek do badań fizyczno-chemicznych.
- PN-ISO 11261. 2002. Jakość gleby – Oznaczenie azotu ogólnego - Zmodyfikowana metoda Kjeldahla.
- Polskie Towarzystwo Gleboznawcze 2009. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych – PTG 2008. *Roczniki Gleboznawcze* 60(2): 5–16.
- Shang Z.C., Zhang L.L., Wu Z.J., Gong P., Li D.P., Zhu P., Gao H.J. 2012. The activity and kinetic parameters of oxidoreductases in phaeozem in response to long-term fertilizer management. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12(3): 605–615.
- Siuta J. 1995. Gleba, diagnozowanie stanu i zagrożenia. IOŚ, Warszawa, 12–22.
- Tabatabai M.A., Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology Biochemistry* 1: 301–307. DOI:10.1016/0038-0717(69)90012-1.
- Telesiński A., Smolik B., Grabczyńska E. 2010. Formation of adenylate energy charge (AEC) versus the fluorine content in forest soil in the area Affected by emission from Police Chemical Plant. *Journal of Elementology* 15(20): 355–362.
- Wittmann Ch., Kähkönen M.A., Ilvesniemi H., Kurola J., Salkinaja-Salonen M.S. 2004. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. *Soil Biology Biochemistry* 36: 425–433. DOI:10.1016/j.soilbio.2003.10.019.

## Phosphorus content and distribution and the activity of phosphatases in Arenosols in a forest affected by long-term exposure to the effects of the Anwil S.A. nitrogen works in Włocławek

Joanna Lemanowicz

University of Technology and Life Sciences, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Biochemistry Department,  
ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz, Poland.

Tel. +48 52 3749555, e-mail: [jl09@interia.pl](mailto:jl09@interia.pl)

**Abstract.** This paper presents the results of research examining the soil content of total and available phosphorus ( $P_{E-R}$ ), taking into consideration the activity of alkaline and acid phosphatases. For this study, three soil profiles were sampled in Arenosols at a distance of 0.8, 2.0 and 2.5 km from a nitrogen fertiliser manufacturer, Anwil S.A. A control profile was taken from the Tuchola Forest. The soils' reaction ranged from acidic to very acidic. The humus content in the surface horizons of the sampled profiles was average (1.26–2.61%). The lowest  $P_{E-R}$  content was found in the profile taken closest (0.8 km – profile I) to the factory. The distribution index (DI) calculated for available phosphorus pointed towards moderate accumulation, whilst at the same time, the availability index (IM) confirmed low availability, especially in profile I. The activity of alkaline and acid phosphatases, which are the enzymes responsible for phosphorus transformation in the soil, varied depending on the distance from the nitrogen works. The inhibition of alkaline phosphomonoesterases and the stimulation of acid esterases, which were both connected to the examined soil reaction, were observed. The activity of phosphatases, as well as total and available phosphorus content, decreased steeply along the soil profiles. Furthermore, a significant correlation between organic carbon and the activity of alkaline and acid phosphatases ( $r = 0.94$ ,  $p < 0.05$  and  $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ , respectively), as well as between the content of  $P_{E-R}$  and the activity of alkaline phosphatase ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ ) were recorded. The results suggest the need for further research and monitoring of the Arenosols in the forest affected by the nitrogen works.

**Keywords:** forest soil, enzymes, phosphorus

### 1. Introduction

The rapid development of industry in the world is one of the main causes of adverse ecological changes occurring in the environment. These changes are usually directly proportional to the development of industry. This results in a need to assess the extent of environmental degradation, particularly of areas located near industry (Bielińska, Ligęza 2010). In the vicinity of large emitters, the forest and soil act as filtering and buffer systems for dust and gas emissions. If the storage capacity of the plants and soil is exceeded, the ecosystem becomes degraded (Kowalkowski, Kopron 2006). The physical, chemical and biological parameters of soil react relatively quickly to anthropogenic environmental changes, including industrial emissions (Koper et al. 2008; Telesiński et al. 2010).

Contamination of the soil near industry, waste storage and air pollution lead to changes in the availability of nutrients, whose ions can migrate into the soil profile (Shang et al. 2012), resulting in, amongst others, eutrophication. Biological methods are amongst those used to diagnose the state of soil pollution (Hinojosa et al. 2008; Bartkowiak, Lemanowicz 2014). Measurements of activity of enzyme, such as dehydrogenases, phosphatases, ureases, and proteases, are mainly used (Kucharski et al., 2011; Januszek et al. 2014), because they are very sensitive to natural and anthropogenic environmental changes and are indications of the soil's fertility level.

The aim of this study is to determine the effect of long-term exposure to a nitrogen fertiliser manufacturer on the physical and chemical properties of rusty forest soil based on its phosphatase activity.

Received: 04.08.2014, reviewed: 09.12.2014, accepted after revision: 12.02.2015.

## 2. Material and methods

### Study site

Anwil S.A. Nitrogen Works, established in 1966, is one of the country's largest producers of nitrogen fertilisers, manufacturing, amongst others, ammonium nitrate and calcium ammonium nitrate. It also produces suspension polyvinyl chloride, chemical products for processing in a variety of industrial sectors and agricultural products. Its manufacturing facilities are located in Włocławek (52°41'55"N, 18°58'09"E), in the Kuyavian-Pomeranian Voivodeship of the Wielkopolska-Pomeranian region. The forests near the factory are dominated by Scots pine (*Pinus sylvestris* L.), growing in a fresh mixed coniferous forest habitat (BMśw). The undergrowth is dominated by wood sorrel (*Xalis acetosella*), *Polytrichum attenuatum*, and bracken (*Pteridium aquilinum*).

To carry out the study, soil samples were taken from the mineral levels of three soil profiles in June 2010 from sites adjacent to the Anwil S.A. nitrogen factory in its impacted area. The studied profiles of rusty forest soil (belonging to the order: rusty soils *R*, type: rusty *RW*, subtype: typical rusty *RWt*) (Commission V Genesis, Classification and Cartography of Soils, PTG. 2011) were categorised by distance from the factory: profile I (level *A*, *B<sub>v</sub>*, *C*) – approximately 0.8 km to the north-west; profile II (level *A*, *AB<sub>v</sub>*, *C<sub>1</sub>*, *C<sub>2</sub>*) – approximately 2 km west; profile III (Level *A*, *AB<sub>v</sub>*, *B<sub>v</sub>*, *C*) – approximately 2.5 km from the right bank of the Vistula River to the east. The profile of the rusty forest soil control (level *A*, *AB<sub>v</sub>*, *B<sub>v</sub>*, *C*), located beyond the reach of the emissions, was taken from a fresh mixed coniferous forest (BMśw) in Szumiąca in the Tuchola Forest.

### Chemical analysis of the soil

Selected physical and chemical properties were determined of air-dried soil samples of a disturbed structure, [prepared according to the PN-ISO 11464 (1999) standard]: total organic carbon (TOC), using the Scalar Company's TOCN FORMACTS™ analyser – the results were converted into humus, total nitrogen (TN) by the Kjeldahl method (ISO 11261, 2002), the potentiometric pH in 1M KCl (PN-ISO-10390, 1997), total phosphorus (TP) by the method of Mehta et al. (1954), available phosphorus ( $P_{E-R}$ ) by the Egner–Riehm method – DL (PN-R-04023, 1996), alkaline phosphatase activity (AIP) [E.C. 3.1.3.1] and acid phosphatase activity (AcP) [E.C. 3.1.3.2] by the Tabatabai and Bremner method (1969). On the basis of the results of studying the activity of alkaline and acid phosphatases, the enzymatic indicator of the soil pH level was calculated (*AIP/AcP*) (Dick et al. 2000). To assess the availability of phosphorus, the index of mobility (*IM*) was used, which expresses the percentage of available phosphorus in the total content. The

distribution of the analysed elements in the soil profiles are described using a distribution ratio (*DI*) (Kobierski et al. 2011), as the proportion of the amount of the element in the O, A and B horizons to the amount of the element in the parent rock (horizon C), where  $DI < 1$  is the absence of anthropogenic impact,  $1 \leq DI \leq 3$  indicates moderate accumulation,  $3 \leq DI \leq 6$  – significant accumulation and  $DI > 6$  – very high accumulation.

This paper presents the arithmetic mean of the results obtained from three repetitions. The results of determining the examined characteristics were analysed using a simple correlation ( $p < 0.05$ ), which describes the degree of relationship between the various characteristics. The correlation analysis was performed using the Statistica 10 program.

## 3. Results and discussion

Based on a granulometric analysis, it was found that these soils were made up of mechanically loose and slightly loamy sands (Polish Society of Soil Science 2009). The amount of clay fraction ( $\phi < 0.002$  mm) varied in the range 1–9% (Table 1). The predominant fraction was the sand fraction, with a diameter of from 0.05 to 2.0 mm. The exchangeable acidity was in the pH range 4.09–5.41, whilst at the control site, it was 4.25–5.11 (Table 1), indicating acidic and very acidic soil. According to Bielińska et al. (2009), acidification of the soil in the vicinity of the factory was related to the long-term emission of nitrogen. Increased emissions of nitrogen to forest soils result in the release of H<sup>+</sup> protons, which is not compensated by being bound during the mineralisation of plant material. This contributes to the secondary effects of soil acidification. The carbon content of the organic compounds in the factory-impacted soil profiles studied ranged from 0.48 to 19.7 g/kg and 0.63 to 16.2 g/kg in the soil sampled in the Tuchola Forest. More TOC was found in the surface horizons of all the profiles, which had a medium-to-high content of humus (1.26–2.61%) (Table 1). According to Mocek and Owczarzak (2010), the humus content is low in Polish soils (in the Kuyavian-Pomeranian region, it is estimated to be 1.85%). The total nitrogen content ranged from 0.05 to 1.25 g/kg. The calculated distribution for this nutrient ( $DI > 6$ ) shows a marked tendency of very high levels of accumulation in the upper horizons of the soil profiles studied (close to the area affected by the factory), associated with an anthropogenic impact (Table 3). In the A horizon (0–20 cm) of the control site profile, the distribution ratio amounted to  $DI = 19$ . However, the main source of nitrogen in the control site soil could be from decomposing fallen tree leaves and vegetation, enriching it with nutrients. The ratio of carbon to nitrogen (C:N) was highest in the upper soil horizons (10.96–12.63 for profiles II–IV) and decreased in the deeper layers of the soil profile. According to Siuta (1995), a C:N ratio at a range 10:1 to 17:1 is slightly degraded soil. According to Brogowski and Chojnicki (2013), the vast majority of organic matter penetrat-

ing forest soils undergoes the process of mineralisation, whilst a smaller portion goes through the process of humification to result in humus. According to Kowalkowski and Kopron (2006), a narrow range of C:N ratio values indicates the excessive atmospheric deposition of nitrogen and sulphur, as well as particulate emissions rich in easily soluble Ca, Mg, K and S. The lowest value of C:N was found in soil profile I (9.37).

The amount of TP in the soil determines only the degree of its fertility and does not indicate its assimilability

level by vegetation. The amount of TP in the soil profiles affected by the factory was in the range 0.250–0.380 g/kg (Table 2), whilst at the control site, the amount was higher (0.308–0.412 g/kg). The value of the distribution ratio (*DI*) for TP indicates its pedogenetic accumulation.

The content of available phosphorus for plants in the surface horizons of the examined profiles was very low, ranging from 9.15 to 19.58 mg/kg (Table 2). This content was 19.44 mg/kg at a depth of 0–20 cm of the profile collected in Tuchola

**Table 1.** Physical and chemical properties of rusty forest soils

Profile No.	Depth [cm]	Horizon	C <sub>org</sub> g/kg	Humus %	N <sub>og</sub> g/kg	pH KCl	C:N	Fractions %			Symbol*
								0,05–2,0	0,002–0,05	<0,002	
I 0.8 km	0–15	A	7.31	1.26	0.78	4.46	9.37	87	12	1	ps
	15–72	Bv	4.09	0.71	0.41	4.99	10.0	90	9	1	ps
	72–100	C	0.72	0.12	0.12	4.09	6.00	97	2	1	pl
II 2 km	0–15	A	13.74	2.37	1.25	4.72	10.99	86	11	3	ps
	15–39	ABv	5.65	0.97	0.51	4.98	11.08	93	6	1	pl
	39–87	C1	0.38	0.07	0.05	4.97	7.60	84	12	4	ps
	87–100	C2	0.37	0.06	0.05	4.97	7.40	91	6	3	pl
III 2.5 km	0–4	A	15.1	2.61	1.20	4.39	12.63	87	6	7	ps
	4–18	ABv	9.05	1.56	0.75	4.93	12.07	97	2	1	pl
	18–60	Bv	3.09	0.53	0.31	5.17	9.97	95	3	2	pl
	60–150	C	0.40	0.07	0.05	5.41	8.00	97	2	1	pl
IV Control	0–20	A	12.5	2.16	1.14	5.11	10.96	88	3	9	ps
	20–50	ABv	3.80	0.66	0.37	5.13	10.27	95	0	5	pl
	50–100	BvC	0.53	0.09	0.07	4.25	7.57	94	1	5	pl
	100–130	C	0.49	0.08	0.06	4.31	8.17	98	1	1	pl

\*pl – loose sand; ps – slightly loamy sand

**Table 2.** The amount of total phosphorus (TP) and available phosphorus (P<sub>E-R</sub>), the activity of alkaline phosphatase (AIP) and acid phosphatase (AcP), the index of mobility (*IM*) and enzymatic soil pH index (*AIP/AcP*)

Profile No.	Depth [cm]	Horizon	TP g/kg	P <sub>E-R</sub> mg/kg	<i>IM</i> %	AIP	AcP	<i>AIP/AcP</i>
						mM pNP/kg/h		
I 0.8 km	0–15	A	0.281	9.156	3.25	1.445	12.87	0.11
	15–72	Bv	0.315	10.51	3.33	0.647	3.882	0.17
	72–100	C	0.259	6.233	2.40	0.310	0.670	0.46
II 2 km	0–15	A	0.314	11.89	3.78	1.581	6.578	0.24
	15–39	ABv	0.273	10.87	3.98	0.805	2.020	0.40
	39–87	C1	0.320	9.16	2.86	0.453	0.748	0.61
	87–100	C2	0.292	6.88	2.35	0.256	0.498	0.51
III 2.5 km	0–4	A	0.250	19.58	7.83	2.243	6.463	0.35
	4–18	ABv	0.258	14.73	5.71	0.913	1.783	0.51
	18–60	Bv	0.380	12.45	3.27	0.446	1.610	0.28
	60–150	C	0.268	7.239	2.70	0.223	0.546	0.41
IV Control	0–20	A	0.412	19.44	4.72	1.438	7.131	0.20
	20–50	ABv	0.308	15.41	5.00	0.719	2.308	0.31
	50–100	BvC	0.316	15.39	4.87	0.561	1.905	0.29
	100–130	C	0.321	8.53	2.65	0.179	0.776	0.23

Forest, as well as in study site III, 2.5 km away from the emissions. The critical value of available phosphorus for plants is about 30 mg/kg of soil. The lowest accumulation of  $P_{E-R}$  (6.233–10.51 mg/kg) was found in the profile located nearest to Anwil S.A. nitrogen works. It was associated with very acidic soil, as this element is particularly sensitive to changes in pH. At a low pH, part of the phosphorus forms slightly soluble compounds with the ions of Fe, Mn and Al, removing this element from biological use. At the same time, in the absence of fertilization, what little available phosphorus that remains is intensely absorbed by the vegetation, so that very small amounts of  $P_{E-R}$  remain in the soil. The index of mobility (*IM*) was used to assess the assimilability of phosphorus. The lowest *IM* value was found for soil profile I (3.25–2.40), which was associated with a low amount of  $P_{E-R}$  and confirmed by the analysis of correlation ( $r = 0.91$ ;  $p < 0.05$ ), whereas the highest *IM* value (2.7–7.82) was found for soil profile III.

The distribution index (*DI*) of available phosphorus in soil profile I was within a range 1.469–1.686; profile II from 1.332 to 1.728; profile III from 1.721 to 2.705, whilst the profile from Tuchola Forest was in the range 1.805–2.280 (Table 3), indicating moderate accumulation.

The content of available phosphorus decreased significantly as the depth increased of each soil profile, which should be associated with the low mobility of phosphorus in soil (Miletic et al. 2012). The research of Łabaz and Bogacz (2011) found a negative correlation of  $P_2O_5$  content with the depth of soil samples ( $r = -0.52$ ) and also indicated a low level of this element's leaching into the deeper layers of soil.

Enzyme assays allow an assessment to be made of the impact of both natural factors and human pressure on the functioning of ecosystems (Olszowska 2009; Bartkowiak, Lemanowicz 2014; Januszek et al. 2014). The activity of alkaline and acid phosphatases varied in the profiles examined depending on the distance from the emitter. In the soil profile collected approximately 0.8 m from the factory, the activity of alkaline phos-

phatase was inhibited (0.310–1.445 mM pNP/kg/h), whilst acid phosphatase activity was highest (0.670–12.87 mM pNP/kg/h) (Table 3). This was related to the high acidity of the soil. Higher acid phosphatase activity is due to the fact that phosphomonoesterases are enzymes that are most sensitive to changes in soil pH. The optimum pH for the activity of alkaline phosphatase is 9.0–11.0 and for acid phosphatase 4.0–6.5 (Wittman et al. 2004; Lemanowicz 2013). AIP activity in the control soil was in the range 0.179–1.438 mM pNP/kg/h, and AcP activity was in the range 0.776–7.131 mM pNP/kg/h. The high phosphorolytic potential of soils in pine plantations was shown by Bielińska et al. (2009). The studies of Mocek-Płóćiniak (2009) also confirmed the relationship between the activity of enzymes (dehydrogenase, phosphatase, urease and protease) and distance from a copper smelter in Legnica. High soil enzymatic inactivation at sites near the copper smelter was linked to the highest heavy metals pollution of the environment. Favourable changes in the studied soil parameters (TOC,  $P_{E-R}$ , AIP) with increasing distance from the nitrogen fertiliser factory are a sign of the soil's self-regulation capacity. At the same time, it should be emphasised that studied soil profiles were located in different directions from the emitter, thus the intensity of anthropogenic pressure could be related to the 'wind rose' (Bielińska, Ligęza 2010).

Phosphomonoesterase activity decreased as the depth of the soil profiles increased. This trend is related to the spatial distribution of humus, as well as soil microorganisms, and the declining amount of carbon substrates available for both microorganisms and enzymes (Januszek et al. 2006; Kizilkaya, Dengiz 2010), as confirmed by the results of TOC and humus amounts (Olszowska 2011; Brogowski, Chojnicki 2013).

Dick et al. (2000) used the measurement of phosphatase activity to determine optimal soil pH, as the ratio of alkaline to acidic phosphatase (the enzymatic indicator of pH level) proved to be a sensitive indicator of changes in soil pH. The *AIP/AcP* ratio in soil profiles located within the impact zone of the factory is in the range 0.11–0.61 (Table 2). According

**Table 3.** Distribution index value (*DI*)

Profile No.	Depth [cm]	Horizon	TOC	TN	TP	$P_{E-R}$
I 0.8 km	0–15	A	10.1	6.50	1.085	1.469
	15–72	Bv	5.68	3.41	1.216	1.686
II 2 km	0–15	A	37.1	25.0	1.075	1.728
	15–39	ABv	15.2	10.2	0.935	1.580
	39–87	C1	1.02	1.00	1.096	1.332
III 2.5 km	0–4	A	37.9	24.0	0.933	2.705
	4–18	ABv	22.6	15.0	0.963	2.036
	18–60	Bv	7.72	6.20	1.418	1.721
IV Control	0–20	A	25.5	19.0	1.283	2.280
	20–50	ABv	7.75	6.16	0.960	1.807
	50–100	BvC	1.08	1.16	0.984	1.805

to Dick et al. (2000), a ratio of *AIP/ACP* less than 0.5 indicates acidic soil. This was confirmed by the potentiometric measurements of soil pH in 1M KCl (Table 1). The lowest values of *AIP/ACP* ratio (0.11–0.35) were obtained from the surface layers of the studied profiles, which were most exposed to the emitter. The enzymatic indicator of the pH level can be used to determine the changes occurring in the soil (Dick et al., 2000; Lemanowicz 2013; Bartkowiak, Lemanowicz 2014).

On the basis of the statistical analysis, I obtained a nearly full correlation for the relationship between the TOC content and alkaline phosphatase activity ( $r = 0.94$ ;  $p < 0.05$ ) and a high correlation between TOC and acid phosphatase activity ( $r = 0.67$ ;  $p < 0.05$ ) (Table 4). The enzymatic activity directly depends on the amount of organic matter in the soil (An et al., 2008; Olszowska 2011).

**Table 4.** Person's correlation coefficients ( $n = 30$ )

Parameters	TOC	TN	C:N	P <sub>E-R</sub>	IM	AIP	AcP
TOC	-	0.99	0.84	0.68	0.69	0.94	0.67
TN		-	0.81	0.64	0.63	0.93	0.73
C:N			-	0.72	0.75	0.74	n.s.
P <sub>E-R</sub>				-	0.91	0.67	n.s.
IM					-	0.73	n.s.
AIP						-	0.78
AcP							-

Significance level  $p < 0.05$ ; n.s. - not significant.

High values of correlation coefficients between the studied enzymes and TOC and TN content indicate the importance of these enzymes in transforming the components of the organic matter found in the studied forest soils (Koper et al. 2008). Similar results were obtained earlier by Januszek et al. (2006). In contrast, the study by Bielińska et al. (2010) showed a close positive correlation between enzymatic activity (dehydrogenases, phosphatases and proteases) and amounts of  $N-NH_4^+$  and  $N-NO_3^-$ . This suggests that the ecosystem studied incorporated nitrogen compounds into its biological cycle reaching it from the atmosphere. A strong correlation was obtained between the amount of available phosphorus in the soil and the activity of alkaline phosphatase ( $r = 0.67$ ;  $p < 0.05$ ), suggesting that this enzyme was an appropriate parameter to use for characterising the amount of P<sub>E-R</sub> in the analysed soil, as opposed to the activity of acid phosphatase. A linear relationship is commonly observed between the activity of acid phosphatases and the amount of inorganic forms of phosphorus released into a soil solution (Nannipieri et al., 2011).

A significant positive correlation ( $r = 0.68$ ;  $p < 0.05$ ) was shown between the amount of available phosphorus and the amount of TOC. A higher amount of organic carbon compo-

unds usually results in increased biological activity of the soil, which accelerates the mineralisation of nutrients in the soil.

## 4. Conclusions

Based on the research conducted, the following conclusions were formulated:

1. Long-term emissions of nitrogen compounds increased soil acidity, decreased the soil's humus content and thereby reduced the amount of available phosphorus.
2. The values of the ratio of the distribution of phosphorus in the soil demonstrate its moderate accumulation, which is unrelated to the influence of anthropogenic pressure. In contrast, nitrogen accumulation was the result of anthropogenic activities.
3. The activity of alkaline phosphatase was found to have been greater as the distance from the nitrogen fertiliser factory increased and was accompanied by positive changes in the amounts of organic carbon compounds, humus and available phosphorus.
4. The tested parameters of forest soils varied depending on the distance from the emitter. The amount of total phosphorus, its available form and alkaline phosphatase activity increased with the distance from the nitrogen works. However, acid phosphatase activity decreased.

## Conflict of interest

The author declares no potential conflicts of interest.

## Acknowledgements and financial support

The study was supported by funds for the statutory research of the University of Technology and Life Sciences, Faculty of Agriculture and Biotechnology, Department of Biochemistry, Department of Soil Science and Soil Protection – No. 46/2014.

## References

- An S., Zheng F., Pelts S., Hamer U., Makeschin F. 2008. Soil quality degradation processes along a deforestation chronosequence in the Ziwuling area, China. *Catena* 75: 248–256. doi:10.1016/j.catena.2008.07.003
- Bartkowiak A., Lemanowicz A. 2014. Application of biochemical tests to evaluate the pollution of the Unislaw Basin soils with heavy metals. *International Journal of Environmental Research* 8(1): 93–100.
- Bielińska E.J., Węgorok T., Mocek A., Puchała A. 2009. Wpływ ryzosfery na aktywność enzymatyczną gleb w uprawie regeneracyjnej sosny zwyczajnej w zasięgu długoletniej emisji azotowej, w: Tereny zdegradowane i rekultywowane – możliwości ich zagospodarowania (eds. S. Stankowski, K. Pacewicz) P.P.H. Zapol Dmochowski, Sobczyk Sp. J., Szczecin, 25–34.

- Bielińska E. J., Ligęza S. 2010. Biochemical properties of selected soils in the area of Puławy forest district. *Ecological Chemistry and Engineering A* 17 (6): 567–574.
- Bielińska E.J., Ligęza S., Kawecka-Radomska M. 2010. Wpływ długoterminowej emisji azotowej na aktywność enzymatyczną gleb uprawnych. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 556: 795–802.
- Brogowki Z., Chojnicki J. 2013. Rozmieszczenie materii organicznej i azotu we frakcjach granulometrycznych poziomów genetycznych gleby brunatnej wylugowanej Lasu Kabackiego. *Sylwan* 157(6): 470–480.
- Dick W.A., Cheng L., Wang P. 2000. Soil acid alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biology Biochemistry* 32: 1915–1919. doi:10.1016/S0038-0717(00)00166-8
- Hinojosa M.B., Carreira J.A., Rodriguez-Maroto J.M., Garcia-Ruiz R. 2008. Effects of pyrite pollution on soil enzyme activities: ecological dose-response model. *Science Total Environmental* 25: 89–99. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.02.014
- Kizilkaya R., Dengiz O. 2010. Variation of land use and land cover effects on some soil physic-chemical characteristics and soil enzyme activity. *Zemdirbyste-Agriculture* 97(2): 15–24.
- Kobierski M., Staszak E., Kondratowicz-Maciejewska K., Ruszkowska A. 2011. Wpływ rodzaju użytkowania gleb na zawartość metali ciężkich i ich dystrybucję w profilach gleb rdzawych. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 49: 163–177.
- Komisja V Genezy, Klasyfikacji i Kartografii Gleb PTG. 2011. Systematyka Gleb Polski. *Roczniki Gleboznawcze* 62(3): 71–142.
- Koper J., Piotrowska A., Siwik-Ziomek A. 2008. Dehydrogenase and invertase activities in a rusty soil in the neighbourhood of the Wrocław nitrogen plant „Anwil”. *Proceedings of ECOpole 2*(1): 197–202.
- Kowalkowski A., Kopron H., 2006. Dynamika ekochemicznych właściwości gleb w regeneracyjnej uprawie sosnowej. *Monitoring Środowiska Przyrodniczego* 7: 73–85.
- Kucharski J., Wieczorek K., Wyszowska J. 2011. Changes in the enzymatic activity in sandy loam soil exposed to zinc pressure. *Journal of Elementology* 16(4): 577–589.
- Januszek K., Lasota J., Fiślak A. 2006. The evaluation of quality of soils of the Carpathian lime tree forest and beech forests on the basis of some chemical and biochemical properties. *Acta Scientiarum Polonorum seria Silvarum Colendarum Ratio et Industria Lignaria* 5(2): 71–87.
- Januszek K., Stępniewska H., Błońska E., Molicka J., Kozieł K., Gdula A., Wójs A. 2014. Wpływ siarczanu glinu na wybrane właściwości gleby oraz na wydajność i jakość sadzonek sosny zwyczajnej w leśnej szkółce gruntowej. *Leśne Prace Badawcze* 75(2): 127–138. doi:10.2478/frp-2014-0012
- Lemanowicz J. 2013. Mineral fertilization as a factor determining selected sorption properties of soil against the activity of phosphatases. *Plant Soil Environment* 59(10): 439–445.
- Łabaz B., Bogacz A. 2011. Zawartość wybranych metali ciężkich oraz zasobność gleb podstawowych występujących na terenie Obniżenia Milicko-Głogowskiego. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 49: 256–267.
- Mehta N.C., Legg J.O., Goring C.A., Black C.A. 1954. Determination of organic phosphorus in soils. *Soil Science Society America Proceedings* 44: 443–449. doi:10.2136/sssaj1954.03615995001800040023x
- Miletić Z., Knežević M., Stajić S., Košanin O., Đorđević I. 2012. Effect of European Black Alder monocultures on the characteristics of reclaimed mine soil. *International Journal Environmental Research* 6: 703–710.
- Mocek-Płociniak A. 2009. Effect of mineral xenobiotics on the enzymatic activity of anthropogenically changed soils. *Polish Journal Environmental Studies* 18(3): 421–427.
- Mocek A., Owczarzak W. 2010. Gleba jako naturalne środowisko przyrodnicze. *Nauka Przyroda Technologie* 4, 6, #85.
- Nannipieri P., Giagnoni L., Landi L., Renella G. 2011. Role of phosphatase enzymes in soil. *Soil Biology* 26: 215–243.
- Olszowska G. 2009. Ocena aktywności biochemicznej gleb leśnych w różnych typach siedliskowych terenów górskich. *Leśne Prace Badawcze* 70(4): 383–394. DOI: 10.2478/v10111-009-0036-8
- Olszowska G. 2011. Zmienność biochemiczna gleb siedlisk leśnych na granicy zasięgu buka zwyczajnego *Fagus sylvatica* L. w Polsce. *Leśne Prace Badawcze* 72(4): 321–328. DOI: 10.2478/v10111-011-0032-7
- PN-R-04023. 1996. Analiza chemiczno-rolnicza gleby – Oznaczenie zawartości przyswajalnego fosforu w glebach mineralnych. Warszawa. Polski Komitet Normalizacji.
- PN-ISO-10390. 1997. Oznaczanie pH gleby.
- PN-ISO 11464. 1999. Jakość gleby - Wstępne przygotowanie próbek do badań fizyczno-chemicznych.
- PN-ISO 11261. 2002. Jakość gleby - Oznaczanie azotu ogólnego - Zmodyfikowana metoda Kjeldahla.
- Polskie Towarzystwo Gleboznawcze 2009. Klasyfikacja uziarnienia gleb i utworów mineralnych – PTG 2008. *Roczniki Gleboznawcze* 60(2): 5–16.
- Shang Z.C., Zhang L.L., Wu Z.J., Gong P., Li D.P., Zhu P., Gao H.J. 2012. The activity and kinetic parameters of oxidoreductases in phaeozem in response to long-term fertilizer management. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12(3): 605–615.
- Siuta J. 1995. Gleba, diagnozowanie stanu i zagrożenia. IOŚ, Warszawa, 12–22.
- Tabatabai M.A., Bremner J.M. 1969. Use of p-nitrophenol phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology Biochemistry* 1: 301–307. doi:10.1016/0038-0717(69)90012-1
- Telesiński A., Smolik B., Grabczyńska E. 2010. Formation of adenylate energy charge (AEC) versus the fluorine content in forest soil in the area affected by emission from Police Chemical Plant. *Journal of Elementology* 15(20): 355–362.
- Wittmann Ch., Kähkönen M.A., Ilvesniemi H., Kurola J., Salkinaja-Salonen M.S. 2004. Areal activities and stratification of hydrolytic enzymes involved in the biochemical cycles of carbon, nitrogen, sulphur and phosphorus in podsolized boreal forest soils. *Soil Biology Biochemistry* 36: 425–433. doi:10.1016/j.soilbio.2003.10.019