

Zależności między wybranymi związkami fenolowymi, a aktywnością mikroorganizmów w glebach użytków zielonych w dolinie rzeki Obry

Justyna Mencil¹, Monika Gąsecka², Marta Molińska-Glura³, Agnieszka Mocek-Płóćniak¹

¹Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Szydlowska 50, 60-656 Poznań, Poland

²Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań, Poland

³Katedra Ekonomiki i Techniki Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań, Poland

Wstęp

Rośliny wytwarzają bardzo zróżnicowany zestaw pierwotnych i wtórnych metabolitów, m.in. związki fenolowe. Stanowią one jeden z głównych składników gleb i są szeroko rozpowszechnione w środowisku. Fenole odgrywają ważną rolę w relacji roślina-gleba. Mogą one modyfikować wzrost i rozwój roślin wyższych i mikroorganizmów glebowych poprzez dostarczanie informacji zwrotnych drobnoustrojom rozkładającym materię organiczną w glebie, zmianę pH gleby czy dostępności składników odżywczych i aktywności enzymów. Wierzchnia warstwa gleby to miejsce, w którym dochodzi do kumulacji różnych interakcji między mikroorganizmami i roślinami. Mikrobiota odgrywa ważną rolę w ekosystemach użytków zielonych poprzez ich wpływ na fizjologię roślin. Wydzieliny korzeniowe poprawiają współzależność roślin z mikroorganizmami glebowymi i przyspieszają rozkład materii organicznej. Związki fenolowe indukują selekcję drobnoustrojów glebowych, ponieważ są dla nich toksyczne już w niskich stężeniach. W konsekwencji, gleby bogate w fenole zasiedlane są przez grupy mikroorganizmów, które są na nie odporne i zdolne do ich degradacji.

Celem pracy była ocena zależności między wybranymi związkami fenolowymi a aktywnością mikroorganizmów w glebach użytków zielonych.

Metodyka

Obiektem badań były wierzchnie warstwy glebowe z użytków zielonych położonych wzdłuż rzeki Obry (Nizina Wielkopolska, centralna Polska). Powstały one na glebach o charakterze torfowym, których poziomy powierzchniowe od wielu dziesięcioleci podlegają procesom murszenia. Na badanym obszarze wytypowano 5 zbiorowisk roślinnych (*Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* i zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra*), na których odstąpiono po 4 profile glebowe. Analizy chemiczne obejmowały następujące parametry: oznaczanie całkowitego węgla organicznego ($C_{org.}$) i azotu ogólnego ($N_{og.}$) przy użyciu analizatora Vario-Max CNS oraz oznaczanie pH gleby potencjometrycznie w 1 M KCl i w zawiesinie wody destylowanej w stosunku 1:2,5. Zmierzono także całkowitą liczbę jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii heterotroficznych (podłoże agarowe firmy Merc, temp. 28°C, inkubacja 5 dni), promieniowców (podłoże Pochoń'a, temp. 26°C, inkubacja 7 dni) i grzybów (podłoże Martin'a, temp. 24°C, inkubacja 5 dni). Związki fenolowe (w ekstraktach wodnych i metanolowych) oznaczano za pomocą systemu UPLC Waters Acquity klasy H połączonego z detektorem Waters Photodiode Array Detector (Waters Corporation, Milford, MA, USA). Do analizy statystycznej średnich poziomów analizowanych parametrów glebowych wykorzystano test ANOVA w klasyfikacji pojedynczej. Do wyznaczenia grup jednorodnych wykorzystano test post-hoc Tukey'a. Analizę korelacji cech oparto na teście t-Studenta dla współczynnika korelacji liniowej r-Pearsona. Jako poziom istotności statystycznej przyjęto $\alpha = 0,05$. Ponadto wykonano analizę skupień w oparciu o metrykę euklidesową.

Wyniki

Zawartość wybranych właściwości w analizowanych glebach różniła się pomiędzy wybranymi jednostkami syntaksonomicznymi roślinności użytków zielonych (Tabela 1.). Jednoczynnikowa analiza wariancji dla pH wykazała statystycznie istotne różnice między użytkami zielonymi (pH_{H_2O} $p=0,0000$ i pH_{KCl} $p=0,0004$). Test post-hoc Tukey'a wykazał, że gleby spod *Arrhenatheretum elatioris* różniły się od pozostałych analizowanych gleb (Tabela 1).

Tabela 1. Charakterystyka biochemicznych i mikrobiologicznych właściwości gleby. Statystycznie istotne różnice w badanych parametrach między jednostkami syntaksonomicznymi roślinności trawiastej oznaczono różnymi literami ($p \leq 0,05$; one-way ANOVA z porównaniami post hoc Tukey'a)

Zmienna	<i>Molinietum caeruleae</i>	<i>Alopecuretum pratensis</i>	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
	średnia \pm SD ¹	średnia \pm SD ¹	średnia \pm SD ¹	średnia \pm SD ¹	średnia \pm SD ¹
pH _{H₂O}	6,42 \pm 0,28 ^a	6,27 \pm 0,20 ^a	7,71 \pm 0,18 ^b	6,58 \pm 0,47 ^a	6,62 \pm 0,24 ^a
pH _{KCl}	6,05 \pm 0,30 ^a	6,00 \pm 0,18 ^a	7,29 \pm 0,17 ^b	6,13 \pm 0,59 ^a	6,31 \pm 0,24 ^a
10 ⁵ jtk g ⁻¹ s.m. gleby					
Bakterie	30,44 \pm 7,59 ^a	162,17 \pm 60,08 ^b	71,66 \pm 22,62 ^a	57,77 \pm 1,83 ^a	46,85 \pm 7,24 ^a
Promieniowce	11,97 \pm 6,07 ^a	60,43 \pm 24,29 ^{bc}	55,69 \pm 20,30 ^{abc}	84,19 \pm 31,07 ^c	26,61 \pm 6,24 ^{ab}
10 ³ jtk g ⁻¹ s.m. gleby					
Grzyby	37,26 \pm 5,02 ^{ab}	45,21 \pm 11,82 ^b	29,05 \pm 6,41 ^{ab}	27,74 \pm 3,62 ^a	24,87 \pm 5,24 ^a
g kg ⁻¹					
C _{org.}	69,40 \pm 10,29	148,23 \pm 60,72	87,67 \pm 59,30	98,12 \pm 33,88	121,82 \pm 10,24
N _{og.}	5,74 \pm 1,35	11,67 \pm 4,04	7,71 \pm 4,57	8,60 \pm 2,60	10,35 \pm 1,24
μg g ⁻¹ s.m. gleby					
2,5-DHBA ²	BDL ⁴	BDL ⁴	7,72 \pm 10,15	BDL ⁴	5,69 \pm 0,24
4-HBA ³	2,86 \pm 3,02	3,91 \pm 4,82	2,98 \pm 3,58	4,73 \pm 2,41	3,81 \pm 3,24
Kwas kawowy	0,72 \pm 0,86	0,70 \pm 0,28	0,82 \pm 0,69	1,02 \pm 0,50	0,38 \pm 0,24
Kwas chlorogenowy	0,55 \pm 0,88	0,71 \pm 1,42	0,45 \pm 0,59	0,62 \pm 0,80	1,66 \pm 0,24
Kwas cynamonowy	0,18 \pm 0,37	0,46 \pm 0,91	1,13 \pm 1,33	1,23 \pm 1,55	0,73 \pm 0,24
Kwas ferulowy	BDL ⁴	0,44 \pm 0,35	BDL ⁴	0,12 \pm 0,25	0,39 \pm 0,24
Kwas galusowy	1,64 \pm 1,30	9,11 \pm 9,17	1,27 \pm 1,16	2,14 \pm 1,40	2,48 \pm 1,24
Kwas p-kumarowy	1,07 \pm 0,52	2,21 \pm 0,90	1,37 \pm 0,73	0,65 \pm 1,30	1,29 \pm 0,24
Kwas synapinowy	BDL ⁴	0,14 \pm 0,28	0,32 \pm 0,42	0,50 \pm 0,39	0,77 \pm 0,24
Kwas syringinowy	0,20 \pm 0,41	71,57 \pm 142,01	0,84 \pm 0,60	0,24 \pm 0,49	1,51 \pm 0,24
Kwas wanilinowy	0,49 \pm 0,65 ^a	4,81 \pm 2,44 ^{ab}	3,15 \pm 1,65 ^a	3,34 \pm 1,10 ^a	12,87 \pm 0,24 ^b
Katechyna	3,66 \pm 4,59 ^a	15,25 \pm 5,77 ^b	5,86 \pm 3,94 ^a	5,56 \pm 2,57 ^a	1,43 \pm 4,24 ^a

¹odchylenie standardowe; ²kwas 2,5-dihydroksybenzoesowy; ³kwas 4-hydroksybenzoesowy; ⁴poniżej granicy wykrywalności

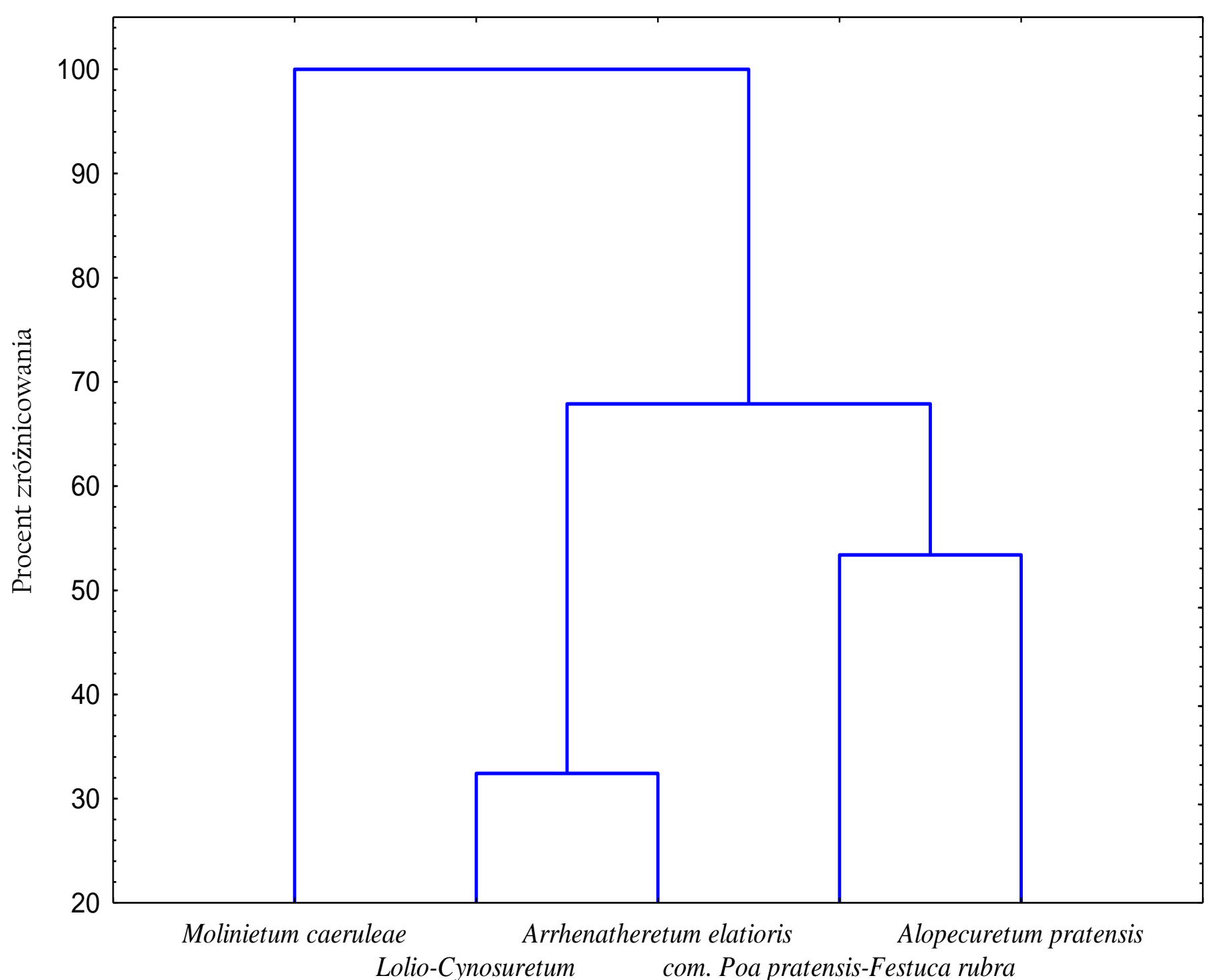
Inną ważną cechą była liczebność analizowanych mikroorganizmów. Test post-hoc Tukey'a dla bakterii heterotroficznych wykazał, że gleby pod *Alopecuretum pratensis* znacząco wyróżniały się na tle gleb spod innych jednostek roślinności (Tabela 1.). Badane jednostki użytków zielonych tworzą trzy jednorodne grupy ze względu na występowanie promieniowców i dwie podobne grupy ze względu na obecność grzybów (Tabela 1.). Jednoczynnikowy test ANOVA wykazał, że spośród wszystkich analizowanych związków fenolowych tylko dwa okazały się istotne statystycznie: kwas wanilinowy ($p=0,0032$) i katechyna ($p=0,0019$). W przypadku kwasu wanilinowego, gleby poszczególnych jednostek użytków zielonych tworzą dwie jednorodne grupy ze względu na analizowaną cechę (Tabela 1.). Natomiast w przypadku katechiny gleby poszczególnych analizowanych jednostek tworzą dwie jednorodne grupy, przy czym w drugiej grupie znajdują się tylko gleby spod *Alopecuretum pratensis*, które różnią się od gleb pozostałych jednostek (Tabela 1.). Przeprowadzone analizy wykazały ponadto dodatnią korelację promieniowców z kwasami cynamonowym i kawowym, bakterii heterotroficznych z kwasem p-kumarowym, ferulowym i katechiną oraz grzybów z kwasem galusowym i katechiną (Tabela 2.).

Tabela 2. Wartości współczynników korelacji r-Pearsona

Zm.	pH _{H₂O}	pH _{KCl}	B	P	G	C _{org.}	N _{og.}	CA	p-CO	CHA	FEA	SIN	GA	VA	CT	CIA
pH _{H₂O}		0,98														
pH _{KCl}	0,98															
B ¹					0,55				0,60	0,47					0,80	
P ²								0,49								0,47
G ³			0,55			0,46	0,44						0,49		0,69	
C _{org.}					0,46		0,99				0,55					0,46
N _{og.}					0,44	0,99					0,56					0,47
CA ⁴				0,49												
p-CO ⁵			0,60													
CHA ⁶											0,66	0,54		0,53		
FEA ⁷			0,47			0,55	0,56			0,66				0,48		
SIN ⁸										0,54						
GA ⁹					0,49											
VA ¹⁰										0,53	0,48					
CT ¹¹			0,80		0,69											
CIA ¹²				0,47		0,46	0,47									

¹bakterie heterotroficzne; ²promieniowce; ³grzyby; ⁴kwas kawowy; ⁵kwas p-kumarowy; ⁶kwas chlorogenowy; ⁷kwas ferulowy; ⁸kwas synapinowy; ⁹kwas galusowy; ¹⁰kwas wanilinowy; ¹¹katechyna; ¹²kwas cynamonowy

Analiza skupień wykazała, że biorąc pod uwagę cechy istotne statystycznie, można stwierdzić, że gleby pod *Molinietum caeruleae* wykazują odmienną strukturę niż w materiale glebowym pod innymi jednostkami roślinności. Natomiast gleby pod *Arrhenatheretum elatioris* i pod *Lolio-Cynosuretum* są do siebie podobne, podczas gdy gleby spod zb. *Poa pratensis-Festuca rubra* i *Alopecuretum pratensis* wykazują odmienną strukturę niż pozostałe zbiorowiska roślinne (Rysunek 1.).



Rysunek 1. Analiza skupień dla jednostek roślinności użytków zielonych

Podsumowanie

Identyfikacja związków fenolowych zawartych w glebach użytków zielonych dostarcza cennych informacji o przemianach materii organicznej tych zbiorowisk. Związki te są odpowiedzialne za właściwości gleb i biorą udział w zachodzących w nich procesach, w tym sekwestracji węgla. Brakuje wciąż doniesień informujących o roli związków fenolowych w glebach użytków zielonych i ich wpływie na mikroorganizmy. Podjęte badania mają zatem charakter pionierski w kontekście gleb użytków zielonych i powinny być kontynuowane, ponieważ środowiska te odgrywają szczególnie ważną rolę jako magazyny węgla.