

LIDIA SUKOVATA, ANDRZEJ KOLK, PIOTR KAROLEWSKI,
MARZENA SMOLEWSKA, VALERY ISIDOROV

Wpływ żerowania owadów liściożernych sosny na skład chemiczny igliwia, ściółki i gleby

Effect of the Scots pine defoliation by herbivorous insects on chemical composition of needles, litter and soil

ABSTRACT

Sukovata L., Kolk A., Karolewski P., Smolewska M., Isidorov V. 2010. Wpływ żerowania owadów liściożernych sosny na skład chemiczny igliwia, ściółki i gleby. Sylwan 154 (9): 639-648.

Effect of a weak defoliation by the larvae of the lappet moth and nun moth on chemical composition of needles, litter and soil in the 33-years old Scots pine stands was studied. The four variants were tested: I – larvae feeding, litterfall with frass and damaged needles, II – larvae feeding, but litterfall excluded (collected), III – no larvae, litterfall from the variant II spilled around trees, IV (untreated) – no larvae, litterfall without frass and damaged needles. No changes in chemical composition of litter and soil after two years of weak spring defoliation were found. However, there was a significant decrease of soluble carbohydrates and 5 sesquiterpenes as well as an increase of total monoterpenes in needles of trees in the variant II in comparison to other variants. All of those compounds are carbon-based, thus trees probably only relocated this element to a higher production of monoterpenes to make needles less attractive as a food source.

KEY WORDS

litterfall, *Dendrolimus pini*, *Lymantria monacha*, terpenes, carbohydrates, phenols, macroelements

ADDRESSES

Lidia Sukovata ⁽¹⁾ – e-mail: L.Soukovata@ibles.waw.pl

Andrzej Kolk ⁽¹⁾ – e-mail: A.Kolk@ibles.waw.pl

Piotr Karolewski ⁽²⁾ – e-mail: pkarolew@man.poznan.pl

Marzena Smolewska ⁽³⁾

Valery Isidorov ⁽³⁾ – e-mail: isidorov@uwb.edu.pl

⁽¹⁾ Zakład Ochrony Lasu; Instytut Badawczy Leśnictwa; ul. Braci Leśnej 3; Sękocin Stary 05-090 Raszyn

⁽²⁾ Instytut Dendrologii; Polska Akademia Nauk; ul. Parkowa 5; 62-035 Kórnik

⁽³⁾ Instytut Chemii; Uniwersytet w Białymstoku; ul. Hurtowa 1, 15-399 Białystok

Wstęp

Owady liściożerne odgrywają ważną rolę w ekosystemach leśnych. Price [1997], podobnie jak Mattson i Addy [1975], wyróżnił pięć rodzajów oddziaływania defoliacji spowodowanej przez owady na środowisko: 1) zmiana fizjologicznego stanu drzewa żywicielskiego, 2) zwiększenie opadu materii organicznej, 3) zwiększenie dopływu komponentów biogennych do dna lasu przez wymywanie z drzew, 4) zmiana składu i struktury lasu przez zamieranie osłabionych drzew i poprawę warunków dla tych, które przeżyły, oraz 5) zwiększenie aktywności mikroorganizmów w glebie. Główną składową opadu materii organicznej z drzew stanowią ekskrementy owadów, resztki liści niezjedzone przez owady oraz przedwcześnie opadające, niedojrzałe liście [Schowalter, Sabin 1991; Schowalter i in. 1991]. Ekskrementy owadów zawierają duże ilości

azotu i stanowią jedno z ważniejszych źródeł labilnej, szybko rozkładającej się materii organicznej [Lovett, Ruesink 1995].

Jest wiele prac na temat wpływu defoliacji na skład chemiczny igieł jako wskaźnika fizjologicznego stanu drzewa [Honkanen i in. 1999; Osier, Lindroth 2001; Tschardt i in. 2001; Lempa i in. 2004; Roitto i in. 2009; Karolewski i in. 2007, 2010]. Można stwierdzić, że w wyniku defoliacji zmniejsza się udział azotu, a zwiększa się koncentracja metabolitów wtórnych, takich jak rozpuszczalne fenole czy taniny. Były prowadzone również badania nad wpływem defoliacji przez owady na skład i jakość opadu materii organicznej oraz zmiany chemiczne w glebie [Reynolds, Hunter 2001; Rinker i in. 2001]. Na przykład Grace [1986] stwierdził, że defoliacja przez brudnicę nieparkę spowodowała zwiększenie opadu z 31 kg/ha w zdrowych drzewostanach dębowych do 52 kg/ha w drzewostanach objędzonych. Podobne wyniki uzyskali Działowiec i Plichta [1985] w badaniach wpływu gradacji brudnicy mniszki na opad materii organicznej w drzewostanach sosny zwyczajnej. Masa całkowitego opadu w roku gradacji była co najmniej dwukrotnie większa (648 g/m^2) niż w roku poprzednim, a głównym jego składnikiem były ekskrementy brudnicy mniszki. Z ekskrementów i resztek organicznych do gleby w roku gradacji dostało się trzykrotnie więcej azotu i ponad dwukrotnie więcej fosforu. Zwiększyła się również ilość potasu i magnezu. Ekskrementy są bardzo podatne na wymywanie składników przez wody opadowe, co wskazuje na szybkie tempo ich rozkładu i mineralizacji. Ponad dwukrotne zwiększenie dopływu ogólnego i rozpuszczalnego C i N stwierdzono także w wyniku żerowania barczatki sosnowki [le Mellec, Michalzik 2008].

Niewiele jest jednak prac poświęconych ocenie wpływu defoliacji zarówno na zmiany składu chemicznego gleby, jak liści (igliwia) drzew, tzn. obiegu różnych składników z korony do gleby i z gleby do korony, a także ocenie każdego z elementów defoliacji (zgryzania przez owady oraz opadu ekskrementów i resztek liści) osobno. Szereg doświadczeń w tym zakresie wykonali Frost i Hunter [2004, 2007, 2008]. Obiektami ich badań były sadzonki dębu czerwonego oraz gąsienice *Malacosoma americanum* (F.) (*Lepidoptera, Lasiocampidae*) i ich ekskrementy. Przy ocenie każdego z elementów defoliacji stwierdzono, że dodanie ekskrementów spowodowało zwiększenie ogólnej puli C, N i NH_4^+ w glebie, natomiast samo żerowanie zmniejszyło ogólną pulę N [Frost, Hunter 2004]. W liściach, pod wpływem ekskrementów, zmniejszył się jedynie udział ligniny. W większym stopniu na chemizm liści oddziaływało żerowanie. Na początku zwiększył się udział tanin, zaś w ciągu całego sezonu zmniejszał się udział N, a pod koniec sezonu redukcji uległ także udział ligniny [Frost, Hunter 2008]. Wzbogacając ekskrementy poprzez dodanie izotopu azotu ^{15}N , Frost i Hunter [2007] prześledzili obieg azotu w systemie korona-gleba-korona w okresie dwóch lat. Już po tygodniu część azotu w ekskrementach została zmineralizowana, jednak jego akumulacja (42% N z ekskrementów) nastąpiła w górnej warstwie gleby mineralnej (0-5 cm). Po miesiącu sadzonki dębu pobrały N i wzbogaciły nim liście, na których w późniejszym okresie żerowały późno rozwijające się owady. W kolejnym roku defoliacja z poprzedniego roku spowodowała zmniejszenie ogólnego udziału azotu, łącznie z izotopem ^{15}N asymilowanym przez liście. W konsekwencji tego, wcześniej rozwijające się owady mogły pobrać mniej N pochodzącego z ubiegłorocznych ekskrementów, a tym samym zmieniła (pogorszyła) się atrakcyjność pokarmowa sadzonek dębu.

Przeprowadzone przez nas doświadczenia, chociaż bez udziału izotopu, miały podobny cel, tj. określenie czy i jakie zmiany w składzie chemicznym igieł, ściółki i gleby powoduje żerowanie gąsienic, głównie barczatki sosnowki *Dendrolimus pini* L. (*Lepidoptera, Lasiocampidae*) i brudnicy mniszki *Lymantria monacha* L. (*Lepidoptera, Lymantriidae*) na drzewach sosny. W odróżnieniu od wymienionych wyżej badań, doświadczenia wykonano w warunkach terenowych.

Efekt defoliacji podzielono przy tym na dwa elementy podstawowe: a) zgryzanie igieł przez gąsienice i b) opad na ziemię ekskrementów wraz z resztkami igieł i innym materiałem organicznym.

Materiały i metodyka

TEREN BADAŃ I OPIS DOŚWIADCZENIA. Doświadczenie założono 29 i 30 maja 2008 roku na terenie Leśnictwa Sowią Góra (Nadleśnictwo Międzybóże, RDLP Szczecin) w oddz. 61a w 33-letnim drzewostanie sosnowym rosnącym na siedlisku boru świeżego. Wybrano w nim 28 drzew, po 7 w każdym z czterech wariantów doświadczenia:

- I wariant – na drzewa wypuszczono gąsienice, by żerowały na igliwiu z możliwością swobodnego opadu ekskrementów na ściółkę,
- II wariant – na drzewa wypuszczano gąsienice, ale pod drzewami rozłożono płachtę z geowłókniny w celu zatrzymania opadu ekskrementów gąsienic i igliwia,
- III wariant – drzewa bez gąsienic, ale materiał organiczny zebrany na płachty w wariantcie II przesypany pod drzewa w tym wariantcie,
- IV wariant – bez gąsienic i opad materiału organicznego bez ekskrementów (kontrola).

Wszystkie drzewa zostały ponumerowane. Przed założeniem doświadczenia do analiz chemicznych pobrano przy użyciu sekatora ze środkowej części korony każdego drzewa od strony zachodniej próbkę igliwia (jednorocznego), a spod drzewa, od strony wschodniej i południowej, mieszaną próbkę ściółki i gleby. Próbkę ściółki składała się ze ściółki i humusu, a próbka gleby – z warstwy gleby mineralnej do 5 cm głębokości.

Następnie na pnie drzew w odpowiednich wariantach wyłożono po około 40 gąsienic barczatki sosnowki, a później dodatkowo po około 10 gąsienic brudnicy mniszki. Gąsienice pochodziły z różnych regionów Polski, co wynikało z faktu, że w 2008 i 2009 roku nastąpiło załamanie się gradacji większości foliofagów sosny i zebranie odpowiedniej liczby gąsienic, niezbędnej do spowodowania widocznej defoliacji koron drzew, okazało się niemożliwe. Pod drzewami z wariantu II rozłożono płachty z geowłókniny tak, aby pokrywały co najmniej obszar rzutu korony drzewa. Użyty materiał przepuszczał wodę, ale zatrzymywał ekskrementy, igliwie i inny materiał organiczny. Zebrany na płachtach opad przesypany pod drzewa (w promieniu rzutu korony) w wariantcie III w połowie lipca, po zakończeniu żerowania gąsienic zarówno barczatki, jak i mniszki.

Poziom defoliacji w 2008 roku był bardzo niski. W 2009 roku doświadczenie powtórzono, jednak liczba zebranych gąsienic była jeszcze mniejsza niż w roku poprzednim i 7 maja 2009 roku na drzewa w I i II wariantcie wyłożono po 8-10 gąsienic barczatki i 1-2 gąsienice siwiotka borowca. Pod drzewami w wariantcie II rozłożono płachty, a zebrany opad przesypany pod drzewa w wariantcie III pod koniec czerwca. Na zakończenie doświadczenia 17 września 2009 roku pobrano próbki igliwia (bieżącego roku po zakończeniu wzrostu), ściółki i gleby w ten sam sposób jak miało to miejsce przed założeniem doświadczenia. W obydwu przypadkach z próbkami postępowano podobnie. Igliwie poddano analizom pod względem zawartości:

- terpenów, w tym monoterpenów, monoterenoidów, seskwiterpenów i seskwiterpenoidów (Instytut Chemii Uniwersytetu w Białymstoku),
- azotu, węgla, cukrów niestrukturalnych, w tym cukrów rozpuszczalnych i skrobi, skondensowanych tanin oraz rozpuszczalnych fenoli (Pracownia Bioindykacji Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku),
- Ca, K, P, S, Al, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb, Zn, N i C oraz określenia masy 1000 igieł (Pracownia Chemii Środowiska Leśnego Instytutu Badawczego Leśnictwa).

642 Lidia Sukovata, Andrzej Kolk, Piotr Karolewski, Marzena Smolewska, Valery Isidorov

Analizy ściółki i gleby pod względem zawartości Ca, K, Mg, Na, C, N, tlenku potasu i tlenku fosforu oraz określenia pH i kwasowości hydrolitycznej wykonano również w Pracowni Chemii Środowiska Leśnego IBL.

ANALIZY CHEMICZNE.

Terpeny. Próbkę igliwia bezpośrednio po ich dostarczeniu do laboratorium Zakładu Chemii Środowiska Instytutu Chemii UwB zostały poddane odpowiedniej obróbce. Ze wszystkich gałązek stanowiących pojedynczą próbkę zebrano igły, rozdrobniono na fragmenty o długości około 0,5 cm i wymieszano. Po takim ujednoczeniu pobrano 1,5 g igieł i umieszczono w szczelnie zamykanej nakrętką z membraną fiolce chromatograficznej o pojemności 10 ml. Przygotowane próbki zamrożono w celu zapobieżenia stratom związków lotnych.

Wydzielanie związków terpenowych prowadzono techniką mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej z fazy nadpowierzchniowej nad próbką (HS-SPME) z zastosowaniem włókna ze stopionej krzemionki, pokrytego warstwą fazy stacjonarnej – polidimetylosiloksanu (PDMS) o grubości 100 μm . W tym celu fiolkę z próbką umieszczono w łaźni wodnej o temperaturze 80°C i do fazy nadpowierzchniowej nad próbką wprowadzono włókno urządzenia do SPME. Pobieranie próbki prowadzono przez 30 minut. Następnie włókno wraz z zaadsorbowanymi na nim związkami przenoszono do dozownika chromatografu gazowego, gdzie zatrzymane związki poddawano desorpcji termicznej, a dalej prowadzono ich rozdzielanie chromatograficzne. Rozdzielenia i detekcji związków terpenowych zatrzymanych na włóknie PDMS dokonano z użyciem chromatografu gazowego HP Agilent Technologies 6890 N wyposażonego w detektor FID i kolumnę kapilarną HP-5 o wymiarach 0,25 mm \times 30 m \times 0,25 μm . Dodatkowo dla wybranych próbek prowadzono analizy w układzie GC-MS. W tym celu, po przeprowadzeniu wydzielania związków w sposób opisany powyżej, ich rozdzielania dokonywano przy użyciu chromatografu gazowego wyposażonego w detektor masowy HP 5973 i kolumnę kapilarną HP-5MS (o wymiarach 0,25 mm \times 30 m \times 0,25 μm). Analizę wykonano w następujących warunkach: początkowa i końcowa temperatura pieca odpowiednio 40 i 200°C, przyrost temperatury – 3°C/min, temperatura dozownika – 250°C, temperatura detektora – 280°C, szybkość przepływu gazu (He), wodoru i powietrza (FID) odpowiednio 1 ml/min (split 1:40), 40 ml/min i 400 ml/min. Identyfikację związków prowadzono na podstawie indeksów retencji (RI) i porównania uzyskanej wartości z dostępnymi bazami danych indeksów retencji. Wykorzystywano również widma mas poszczególnych związków otrzymane podczas analizy GC-MS, które porównywano z widmami z biblioteki widm NIST Mass Spectral Database, dołączonej do oprogramowania aparatu. Zawartość procentową obliczano na podstawie pola powierzchni piku odpowiadającego oznaczanemu związkowi uzyskanego podczas analizy GC-FID, przyjmując jako 100% sumę pól powierzchni wszystkich oznaczanych związków.

Cukry, fenole, taniny, azot i węgiel w igliwii. Po dostarczeniu do Pracowni Bioindykacji Instytutu Dendrologii PAN w Kórniku igły wysuszono w 40°C i oddzielono niewielką ich ilość (0,1 g) do oznaczenia tanin, które rozkładają się powyżej tej temperatury. Pozostały materiał, który wysuszono w 65°C i zmielono w młynkach Mikro-Feinmühle-Culatti mill (IKA Labortechnik Staufen, Niemcy), posłużył do przeprowadzenia analiz chemicznych.

Zawartość sumy rozpuszczalnych fenoli (SF) mierzono metodą opisaną przez Johnsona i Schaala [1957], zmodyfikowaną przez Singletona i Rossiego [1965]. Stężenie fenoli określono kolorymetrycznie przy użyciu odczynnika Folin Ciocalteu's Phenol Reagent (Sigma F – 9252) mierząc absorbencję przy $\lambda=660$ nm, a rezultaty przeliczono na μM kwasu chlorogenowego/g suchej masy (s.m.). Skondensowane (katecholowe) taniny, po ekstrakcji w absolutnym

metanolu, określono kolorymetrycznie po reakcji barwnej z waniliną w środowisku kwaśnym [Price i in. 1978]. Po zmierzeniu absorpcji przy $\lambda=500$ nm rezultaty przeliczono na μM katechiny/ g s.m. Zawartość cukrów niestrukturalnych (TNC – ang. non-structural carbohydrates), w tym cukrów rozpuszczalnych (SC – ang. soluble carbohydrates) oraz skrobi, określono wykorzystując zmodyfikowaną metodę opisaną przez Hansena i Møllera [1975] oraz Haissiga i Dicksona [1979]. Cukry rozpuszczalne mierzono po ich ekstrakcji w mieszaninie metanol-chloroform-woda. Pozostałość po ekstrakcji posłużyła do określenia zawartości skrobi. Analizę skrobi wykonano po jej przeprowadzeniu w glukozę przy pomocy amyloglukozydazy i utlenieniu przy pomocy kompleksu peroksydaza-oksydaza glukozowa. Zawartość cukrów rozpuszczalnych określono kolorymetrycznie, mierząc absorpcję przy $\lambda=625$ nm, po przeprowadzeniu reakcji barwnej z antronem, natomiast pomiaru zawartości skrobi dokonano przy $\lambda=450$ nm po reakcji z dianizydyną. Zawartość cukrów rozpuszczalnych i skrobi (przy użyciu glukozy jako standardu) wyliczono w % suchej masy. Zawartość azotu (N) i węgla (C) określano przy użyciu analizatora Elemental Combustion System CHNS-O 4010 (Costech Instruments, Włochy/USA; <http://www.costechanalytical.com>).

Pierwiastki biogenne, pH i kwasowość hydrolityczna w glebie i igliwiu. Do analizy próbek glebowych zastosowano następujące metody:

- potencjometryczną według normy PN-ISO 10390:1997 – do określenia pH,
- analizy elementarnej według normy PN-ISO 13878:2002 na aparacie VarioMax CN ELEMENTAR – do określenia udziału azotu (N),
- analizy elementarnej według normy PN-ISO 10694:2002 na aparacie VarioMax CN ELEMENTAR – do określenia udziału węgla (C),
- w wyciągu Egnera-Riehna na równoczesnym plazmowym spektrometrze emisyjnym ICP-OES THERMO SCIENTIFIC iCAP 6000 SERIES oznaczono K_2O i P_2O_5 [Kuszelewski 1996],
- w wyciągu octanu amonu na równoczesnym plazmowym spektrometrze emisyjnym ICP-OES THERMO SCIENTIFIC iCAP 6000 SERIES oznaczono Ca, K, Mg, Na [Kowalkowski i in. 1973],
- zmodyfikowaną metodą Kappena według normy PN-R -04027:1997 określono kwasowość hydrolityczną (Hh).

W próbkach igliwia udział azotu określono metodą analizy elementarnej według procedury badawczej PB-04, ed2, z dnia 29 grudnia 2008 roku na aparacie VarioMax CN ELEMENTAR, a pozostałych pierwiastków – po mineralizacji w mieszaninie kwasów azotowego (V) i chlorowego (VII) według procedury badawczej PB-07, ed3, z dnia 29 grudnia 2008 roku, na równoczesnym plazmowym spektrometrze emisyjnym ICP-OES THERMO SCIENTIFIC iCAP 6000 SERIES.

Analiza statystyczna. Do oceny wpływu poszczególnych wariantów doświadczenia na zmiany zawartości poszczególnych związków chemicznych w igliwiu, ściółce i glebie najpierw obliczono różnice w zawartości tych związków między końcowym a początkowym etapem doświadczenia. Uzyskane wyniki poddano analizie normalności rozkładu testem Shapiro-Wilka. Gdy założenie to było spełnione, wykonywano jednoczynnikową analizę wariancji pod warunkiem, że wariancje były jednorodne (test Bartletta). Jeśli założenie o normalności rozkładu czy jednorodności wariancji nie było spełnione, dalszą analizę kontynuowano stosując test Kruskala-Wallisa, który jest nieparametrycznym odpowiednikiem jednoczynnikowej analizy wariancji. Główną uwagę skupiono na porównaniu zmian (różnic) w zawartości związków chemicznych między wariantami

mi I, II i III a wariantem IV (kontrolą). Zmiany w wariancie kontrolnym były skutkiem naturalnych procesów, natomiast jedynie zmiany istotnie różniące się od tych w kontroli mogły wskazywać na ewentualny efekt spowodowany żerowaniem gąsienic.

Wyniki

Od wiosny 2008 roku do jesieni 2009 roku nastąpił wzrost udziału sumy monoterpenów i spadek udziału seskwiterpenów w igliwiu drzew we wszystkich wariantach doświadczenia. Wśród przeanalizowanych 65 związków terpenowych i sumarycznego udziału ich poszczególnych grup (monoterpenów, monoterpenoidów, seskwiterpenów i seskwiterpenoidów) istotne różnice stwierdzono w zmianach udziału procentowego ogólnej sumy monoterpenów i pięciu seskwiterpenów: γ -murolenu, β -selinenu, γ -kadinenu, δ -kadinenu i kadina-1,4-dieniu (ryc. 1). Dla tych związków największe zmiany zaobserwowano na drzewach w wariancie II i były one istotnie większe niż na drzewach w wariancie kontrolnym (IV). W porównaniu ze stanem przed wypuszczeniem gąsienic wiosną 2008 roku suma monoterpenów w igliwiu drzew w wariancie II do jesieni 2009 roku wzrosła o 10,2%, a w wariancie IV – o 4,2%. Udział seskwiterpenów natomiast zmniejszył się. Największe zmiany stwierdzono w przypadku γ -kadinenu (redukcja o 1,6 i 0,4% odpowiednio w wariancie II i IV) i δ -kadinenu (redukcja o 2,1 i 0,5% odpowiednio w wariancie II i IV). Dość zbliżona reakcja drzew wystąpiła w wariancie I i III.

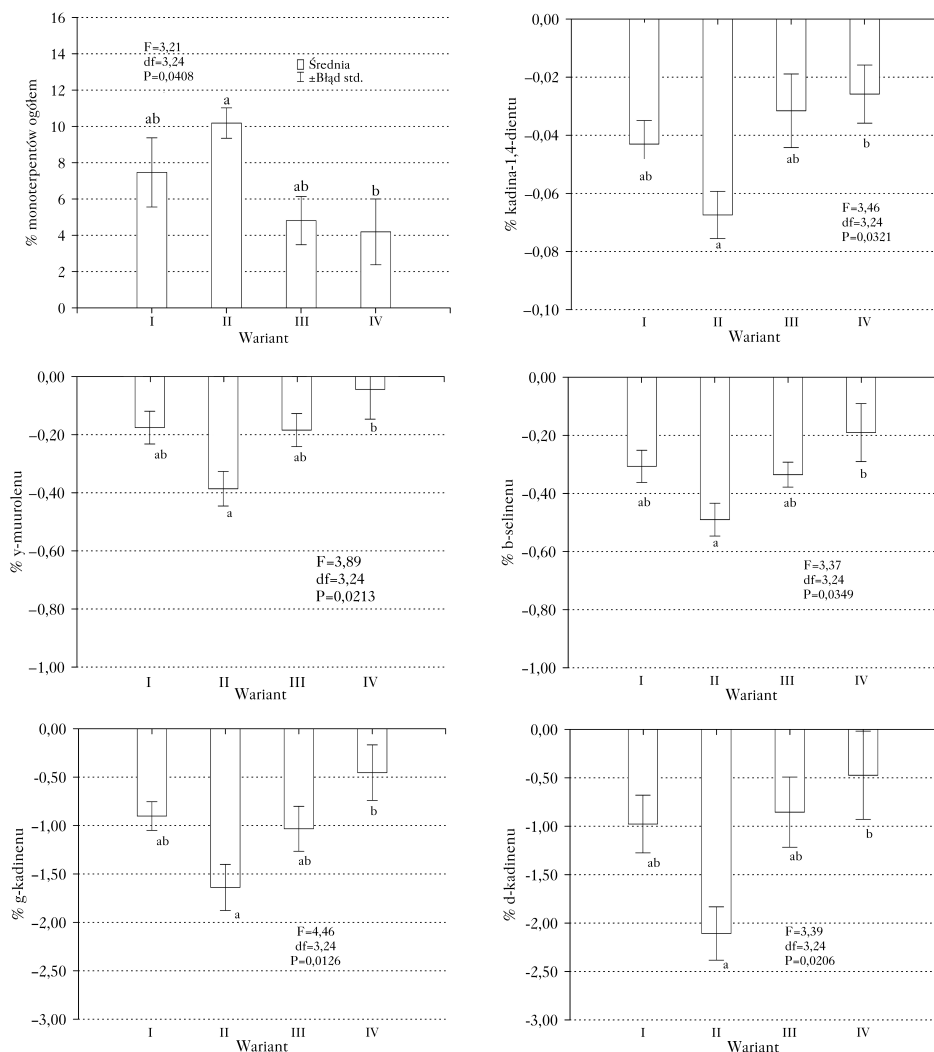
Oprócz terpenów istotne różnice stwierdzono także w zmianach zawartości cukrów rozpuszczalnych (glukozy) w igliwiu. Różnice te występowały między drzewami w wariancie II a drzewami w pozostałych wariantach (ryc. 2). Na drzewach z gąsienicami, ale bez opadu ekskrementów (wariant II) udział glukozy zmniejszył się po dwóch sezonach o 5,9%, a w pozostałych wariantach zmiany te wahały się od 3,1 do 4%. Żadnych istotnych różnic między poszczególnymi wariantami doświadczenia nie wykazano natomiast w zmianach w składzie chemicznym ściółki czy gleby.

Dyskusja

W latach 2008-2009 nastąpiło załamanie się gradacji większości głównych foliofagów sosny na terenie kraju. W związku z tym na drzewa doświadczalne wypuszczono zbyt małą liczbę gąsienic, żeby mogły one spowodować znaczącą defoliację korony, a tym samym spowodować duże zmiany w składzie chemicznym ściółki, gleby czy igliwiu. Jak można było się spodziewać, nie stwierdzono istotnych różnic w zmianach w zawartości poszczególnych elementów biogennych w ściółce i górnej warstwie gleby mineralnej (0-5 cm). Przyczyną braku różnic, oprócz niewielkiej ilości opadu ekskrementów, może być również czas, który upłynął od momentu żerowania do momentu pobrania próbek do powtórnych analiz. Większa aktywność gąsienic, ze względu na większą ich liczbę, była w pierwszym roku doświadczeń. Nawet jeśli opad ekskrementów zmienił skład chemiczny ściółki i gleby, to, jak wykazały badania Dziadowiec i Plichty [1985] oraz Frosta i Huntera [2007], azot i inne makroelementy prawdopodobnie bardzo szybko uległy wymywaniu i mineralizacji. W drugim roku doświadczenia okres między zakończeniem żerowania gąsienic a pobraniem próbek do analiz nie był również wystarczająco długi, żeby ewentualne zmiany w ściółce czy glebie mogły być wykryte. Krótkotrwały efekt żerowania barczatki sosnówki na skład opadu, a także brak istotnego wpływu na mikrobiologiczne właściwości gleby stwierdzili także le Mellec i Michalzik [2008]. Dodatkowym czynnikiem, przyspieszającym procesy wymywania, np. azotu z ekskrementów, mogły być częste i obfite opady deszczu, które miały miejsce w sierpniu 2008 roku oraz czerwcu, lipcu i pierwszej połowie września 2009 roku.

Istotne różnice w zmianach w składzie chemicznym stwierdzono natomiast w igliwiu. Znacznie bardziej zmniejszył się udział cukrów rozpuszczalnych na drzewach z gąsienicami, ale

Wpływ żerowania owadów liściożernych sosny na skład chemiczny 645



Ryc. 1.

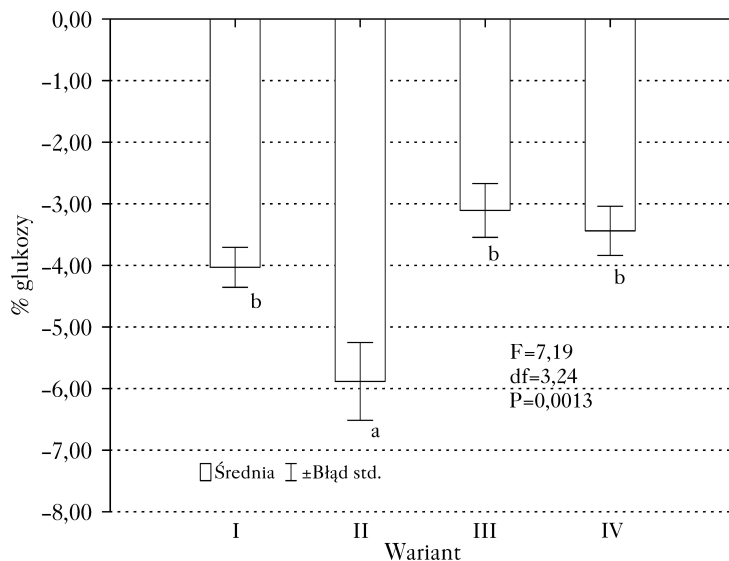
Różnica w koncentracji ogółu monoterpenów oraz 5 seskwiterpenów w igliwio sosny przed i po dwusezonnym żerowaniu gąsienic barczatki sosnowki i brudnicy mniszki na drzewach w poszczególnych wariantach doświadczenia

Difference in the concentration of total monoterpenes and 5 sesquiterpenes in needles before and after two-season feeding of the lappet moth and nun moth larvae on the Scots pine trees in the four experimental variants

Różne litery wskazują na istotność różnicy na poziomie $\alpha=0,05$
Different letters indicate a significant difference at $\alpha=0,05$

bez ekskrementów (wariant II), w porównaniu z pozostałymi wariantami doświadczenia. Waldmann [1999] wykazał, że pod wpływem żerowania brudnicy mniszki także zmniejszyło się stężenie cukrów rozpuszczalnych, a także pinitolu, natomiast zwiększyła się zawartość kwasów szikimowego i chinowego oraz fenoli w igliwio sosny.

Oprócz cukrów rozpuszczalnych, w wariantcie II w porównaniu z wariantem kontrolnym (IV), w większym stopniu zmniejszył się także udział sześciu seskwiterpenów, a przede wszyst-



Ryc. 2.

Różnica w koncentracji cukrów rozpuszczalnych (w przeliczeniu na glukozę) w igliwio sosny przed i po dwusezonowym żerowaniu gąsienic barczatki sosnowki i brudnicy mniszki na drzewach w poszczególnych wariantach doświadczenia

Difference in the concentration of soluble carbohydrates (with the glucose as a standard) in needles before and after two-season feeding of the lappet moth and nun moth larvae on the Scots pine trees in four experimental variants

kim γ -kadinenu i δ -kadinenu. Odwrotne zmiany nastąpiły natomiast w ogólnym udziale monoterpenów. Głównym elementem bazowym zarówno glukozy, jak i terpenów jest węgiel. Analizy nie wykazały żadnych istotnych różnic w zmianach zawartości węgla i azotu oraz stosunku tych dwóch związków między wariantem II a którymkolwiek z pozostałych. Oznacza to, że drzewa pod wpływem samego żeru zmieniły nie tyle udział węgla w masie igieł, co sposób jego zagospodarowania. Prawdopodobnie część węgla wykorzystywana do produkcji cukrów i seskwiterpenów została skierowana do wytwarzania większej ilości monoterpenów, jako obronnych metabolitów wtórnych, decydujących o zmniejszeniu atrakcyjności igieł dla foliofagów [Eisner in. 1974; Codella, Raffa 1995; Barre i in. 2003; Keeling, Bohlmann 2006].

Podziękowanie

Pragniemy podziękować Wojciechowi Janiszewskiemu, Tomaszowi Jaworskiemu i Tomaszowi Jabłońskiemu z Zakładu Ochrony Lasu Instytutu Badawczego Leśnictwa za pomoc w pracach terenowych. Praca została wykonana w ramach tematu BLP-314 sfinansowanego przez Dyрекcję Generalną Lasów Państwowych.

Literatura

- Barre F., Goussard F., Géri C. 2003. Variation in the suitability of *Pinus sylvestris* to feeding by two defoliators, *Diprion pini* (Hym., Diprionidae) and *Graellsia isabellae galliaegloria* (Lep., Attacidae). Journal of Applied Entomology 127: 249-257.
- Codella S. G. Jr, Raffa K. F. 1995. Host plant influence on chemical defense in conifer sawflies (Hymenoptera: Diprionidae). Oecologia 104: 1-11.
- Dziodowicz H., Plichta W. 1985. The effect of Nun moth (*Lymantria monacha*) outbreak on characteristics of litter fall in the pine forest. Ekologia Polska 33 (4): 715-728.

- Eisner T., Johnessee J. S., Carrel J., Hendry L. B., Meinwald J. 1974. Defensive use by an insect of a plant resin. *Nature* 184: 996-999.
- Frost C. J., Hunter M. D. 2004. Insect canopy herbivory and frass deposition affect soil nutrient dynamics and export in oak mecosoms. *Ecology* 85 (12): 3335-3347.
- Frost C. J., Hunter M. D. 2007. Recycling of nitrogen in herbivore feces: plant recovery, herbivory assimilation, soil retention, and leaching losses. *Oecologia* 151 (1): 42-53.
- Frost C. J., Hunter M. D. 2008. Insect herbivores and their frass affect *Quercus rubra* leaf quality and initial stages of subsequent litter decomposition. *Oikos* 117 (1): 13-22.
- Grace J. R. 1986. The influence of gypsy moth on the composition and nutrient content of litter fall in a Pennsylvania oak forest. *Forest Science* 32: 855-870.
- Haissig B. E., Dickson R. 1979. Starch measurement in plant tissue using enzymatic hydrolysis. *Physiologiae Plantarum* 47: 151-157.
- Hansen J., Møller I. 1975. Percolation of starch and soluble carbohydrates from plant tissue for quantitative determination with anthrone. *Analytical Biochemistry* 68: 87-94.
- Honkanen T., Haukioja E., Kitunen V. 1999. Responses of *Pinus sylvestris* branches to simulated herbivory are modified by tree sink/source dynamics and by external resources. *Functional Ecology* 13 (1): 126-140.
- Johnson G., Schaal L. A. 1957. Accumulation of phenolic substances and ascorbic acids in potato tuber tissue upon injury and their possible role in disease and resistance. *American Potato Journal* 34: 200-209.
- Karolewski P., Zadworny M., Mucha J., Napierała-Filipiak A., Oleksyn J. 2010. Link between defoliation and root vitality in five understory shrubs with different resistance to insect herbivores. *Tree Physiology* (w druku), DOI: 10.1093/treephys/tpq060.
- Karolewski P., Żmuda M., Giertych J., Oleksyn J. 2007. Chemical leaf composition affects insect grazing on shrubs growing under different light conditions. *Acta Physiologiae Plantarum* 29 (Suppl. 1): 71.
- Keeling C. I., Bohlmann J. 2006. Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. *New Phytologist* 170: 657-675.
- Kowalkowski A., Król H., Ostrowska A., Sytek J., Szczubiałka Z. 1973. Instrukcja laboratoryjna dla Pracowni Gleboznawczo-Nawożeniowych. IBL, ZGN.
- Kuszelewski L. [red.]. 1996. *Chemia rolna przewodnik do ćwiczeń*. Wyd. Fundacja – Rozwój SGGW, Warszawa.
- Lempa K., Agrawal A. A., Salminen J. P., Turunen T., Ossipov V., Ossipova S., Haukioja E., Pihlaja K. 2004. Rapid herbivore-induced changes in mountain birch phenolics and nutritive compounds and their effect on performance of the major defoliator, *Epirritia autumnata*. *Journal of Chemical Ecology* 30 (2): 303-321.
- Lovett G. M., Ruesink A. E. 1995. Carbon and nitrogen mineralization from decomposing gypsy moth frass. *Oecologia* 104: 133-138.
- le Mellec A., Michalzik B. 2008. Impact of a pine lappet (*Dendrolimus pini*) mass outbreak on C and N fluxes to the forest floor and soil microbial properties in a Scots pine forest in Germany. *Canadian Journal of Forest Research* 38: 1829-1841.
- Mattson W. J., Addy N. D. 1975. Phytophagous insects are regulators of forest primary production. *Science*, 190: 512-522.
- Osier T., Lindroth R. L. 2001. Effects of genotype, nutrient availability, and defoliation on aspen phytochemistry and insect performance. *Journal of Chemical Ecology* 27 (7): 1289-1313.
- Price M. L., van Scoyoc S., Butler L. G. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 26: 1214-1218.
- Price P. W. 1997. *Insect ecology*. 3rd ed. Wiley, New York.
- Reynolds B. C., Hunter M. D. 2001. Responses of soil respiration, soil nutrients, and litter decomposition to inputs from canopy herbivores. *Soil Biology and Biochemistry* 33 (12/13): 1641-1652.
- Rinker H. B., Lowman M. D., Hunter M. D., Schowalter T. D., Fonte S. J. 2001. Literature Review: Canopy Herbivory and Soil Ecology, the Top-Down Impact of Forest Processes. *Selbyana* 22 (2): 225-231.
- Roitto M., Rautio P., Markkola A., Julkunen-Tiitto R., Varama M., Saravesi K., Tuomi J. 2009. Induced accumulation of phenolics and sawfly performance in Scots pine in response to previous defoliation. *Tree Physiology* 29 (2): 207-216.
- Schowalter T. D., Sabin T. E. 1991. Litter microarthropod responses to canopy herbivory, season and decomposition in litterbags in a regenerating conifer ecosystem in western Oregon. *Biology and Fertility of Soils* 11: 93-96.
- Schowalter T. D., Sabin T. E., Stafford S. G., Sexton J. M. 1991. Phytophage effects on primary production, nutrient turnover, and litter decomposition of young Douglas-fir in western Oregon. *Forest Ecology and Management* 42: 229-243.
- Singleton V. I., Rossi J. A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Tscharntke T., Thiessen S., Dolch R., Boland W. 2001. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochemical Systematics and Ecology* 29 (10): 1025-1047.

Waldmann R. 1999. Einfluß von Bestandesstruktur und waldbaulicher Behandlung auf die Entstehung großflächiger Massenvermehrungen nadelfressender Kieferninsekten am Beispiel der Nonne (*Lymantria monacha* L.) in Dauerschadgebieten des Niedersächsischen Tieflandes. Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme, Reihe A, Bd. 164.

SUMMARY

Effect of the Scots pine defoliation by herbivorous insects on chemical composition of needles, litter and soil

Tree defoliation by insects has a significant impact on forest ecosystems. There were many studies on defoliation-induced changes in plant foliage, litter fall or litter decomposition conducted in the laboratory conditions or at the high insect density in the field. Only a few of them were focused on changes in chemical composition of needles, litter and soil at the same time. This paper presents the results of experiments done with larvae of the lappet moth and nun moth in the Noteć forest complex (Poland) in the non-outbreak period. Randomly selected 28 trees in the 33-year old Scots pine stand were divided into four groups: I – larvae were established on tree trunks to let them climb up to a crown for feeding + litterfall (with frass and damaged needles); II – trees with larvae, like in the group I, but a sheet of a geotextile was installed on the ground beneath a crown to collect litterfall; III – trees without larvae, but litterfall collected beneath the trees in the group II was moved and spilled around the trees in the group III after the larvae finished feeding; IV – without larvae, litterfall without frass and damaged needles (control). Larvae were exposed in spring of 2008 (50 larvae per tree in late May) and 2009 (9-12 larvae per tree in early May). Samples of needles, litter and soil were collected just before the experiment set up and after the experiment (September 2009). Needles were analyzed to estimate the concentration or relative concentration [%] of: monoterpenes, monoterpenoids, sesquiterpenes, sesquiterpenoids, non-structural carbohydrates, including soluble carbohydrates and starch, condensed tannins and soluble phenols, N, C, Ca, K, P, S, Al, Cd, Cu, Fe, Mg, Mn, Pb and Zn. The forest litter and mineral soil (0-5 cm) was analyzed to estimate: Ca, K, Mg, Na, C, N, K_2O , P_2O_5 , pH and Hh. Differences in changes of the concentrations of each compound from 2008 to 2009 were compared using either one-way ANOVA or Kruskal-Wallis non-parametric test.

The results showed that a weak defoliation did not cause any changes in the chemical composition of litter and soil. Significant changes in needles were found only in soluble carbohydrates, five sesquiterpenes (γ -muurolene, β -selinene, γ -cadinene, δ -cadinene and cadi-1,4-diene) and total monoterpenes. The concentration of soluble carbohydrates and sesquiterpenes decreased significantly more in needles of trees of the group II (larval feeding, but litterfall excluded) than in trees of other groups, whereas the concentration of monoterpenes increased. All of those compounds are carbon-based, thus trees probably only relocated C to a higher production of monoterpenes to make needles less attractive as a food source.