



Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Wydział Rolnictwa, Ogrodnictwa i Biotechnologii

Justyna Mencil

**Zależności między zróżnicowaniem florystyczno-siedliskowym
zbiorowisk trawiastych a właściwościami mikrobiologicznymi
i chemicznymi gleb w dolinie rzeki Obry**

Relationships between floristic–habitat diversity of grassland vegetation units
and the microbiological and chemical properties of soils in the Obra river valley

Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk rolniczych
w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo
Doctoral dissertation in the field of agriculture
in the discipline of agriculture and horticulture

Promotor:

prof. UPP dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płóćiniak
Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii

Poznań, 2025

Wykaz prac naukowych wchodzących w skład cyklu publikacji rozprawy doktorskiej:

Publikacja 1: Mencil, J., Mocek-Płócinia, A., Kryszak, A. (2022) **Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review.** *Agronomy*, 12, 1136. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051136>

Impact factor:: 3.4

Punktacja wg MNiSW: 100

Publikacja 2: Mencil, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płócinia, A. (2024) **Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland.** *Soil Science Annual*, 75(2), 190113. <https://doi.org/10.37501/soilsa/190113>

Impact factor: 1.0

Punktacja wg MNiSW: 70

Publikacja 3: Mencil J., Gąsecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płócinia A. (2025) **Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study.** *Soil Science Annual*, 76(2), 205498. <https://doi.org/10.37501/soilsa/205498>

Impact factor: 1.0

Punktacja wg MNiSW: 70

Publikacja 4: Mencil, J., Wojciechowska, A., Mocek-Płócinia, A. (2025) **Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley.** *Agronomy*, 15, 1573. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071573>

Impact factor: 3.4

Punktacja wg MNiSW: 100

Sumaryczny Impact Factor: 8.8

Suma punktów MNiSW: 340

Pragnę serdecznie podziękować

*mojej Promotorce, prof. UPP dr hab. inż. Agnieszce
Mocek-Płóćiniak, za przekazaną wiedzę, cierpliwość, wyrozumiałość, dobre słowa oraz
nieocenioną pomoc w moim rozwoju naukowym*

*dr inż. Agnieszce Klarzyńskiej za pomoc w przygotowywaniu publikacji, poświęcony czas
i życzliwość*

Rodzicom za nieustające wsparcie i za to, że zawsze pozwalali mi podążać własną drogą

*mojemu Narzeczonemu za cierpliwość, wysłuchanie i poszanowanie moich wyborów
życiowych oraz za nieocenione wsparcie w trudnych chwilach.*

.....

imię i nazwisko promotora / promotorów / promotora pomocniczego

Oświadczenie promotora(-ów) rozprawy doktorskiej

Oświadczam, że niniejsza rozprawa doktorska pt.: *Zależności między zróżnicowaniem flory-
styczno-siedliskowym zbiorowisk trawiastych a właściwościami mikrobiologicznymi i chemicz-
nymi gleb w dolinie rzeki Obry*

została przygotowana pod moim/naszym kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do
przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data

Podpis promotora rozprawy

.....

Podpis promotora / promotora pomocniczego rozprawy

.....

.....
imię i nazwisko doktoranta

Oświadczenie autora rozprawy doktorskiej

Niniejszym oświadczam, że przedłożoną rozprawę doktorską pt.: *Zależności między zróżnicowaniem florystyczno-siedliskowym zbiorowisk trawiastych a właściwościami mikrobiologicznymi i chemicznymi gleb w dolinie rzeki Obry* napisałam samodzielnie, tj.:

- nie zleciłam opracowania rozprawy lub jej części innym osobom,
- nie przepisałam rozprawy lub jej części z innych opracowań i prac związanych tematycznie z moją pracą,
- korzystałam jedynie z niezbędnych konsultacji,
- wszystkie elementy rozprawy, które zostały wykorzystane do jej realizacji (cytaty, rysy, tabele, programy itp.), a nie będące mojego autorstwa, zostały odpowiednio zaznaczone wraz z podaniem źródła ich pochodzenia,
- rozprawa nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja rozprawy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Mam świadomość, że złożenie nieprawdziwego oświadczenia skutkować będzie niedopuszczeniem do dalszych czynności postępowania w sprawie nadania stopnia doktora lub cofnięciem decyzji o nadaniu mi stopnia doktora oraz wszczęciem postępowania dyscyplinarnego.

Data

.....

podpis autora rozprawy

Spis treści

Wykaz skrótów.....	8
Streszczenie.....	10
Abstract	11
1. Wstęp.....	12
1.1. Rola użytków zielonych w krajobrazie przyrodniczym i rolniczym	12
1.2. Rola zróżnicowania florystycznego w ekosystemach użytków trawiastych	13
1.3. Rola użytków zielonych w obliczu zmian klimatu.....	16
1.4. Znaczenie mikroorganizmów w glebach użytków zielonych.....	17
1.4.1. Bakterie i promieniowce – funkcje i znaczenie	17
1.4.2. Grzyby – destruenci, symbionty i regulatorzy	19
1.5. Znaczenie aktywności enzymatycznej w glebach użytków zielonych	20
1.6. Wpływ właściwości chemicznych gleb na użytki zielone.....	22
1.7. Rola związków fenolowych w glebie	24
2. Hipoteza badawcza i cel pracy doktorskiej	25
3. Materiały i metody	26
3.1. Obiekt badań	26
3.1.1. Klimat	26
3.1.2. Pokrywa glebowa	27
3.1.3. Wody powierzchniowe	28
3.2. Badania terenowe.....	28
3.2.1. Badania fitosocjologiczne.....	28
3.2.2. Pobieranie próbek glebowych	28
3.3. Badanie studyjne.....	29
3.4. Badania laboratoryjne	30
3.4.1. Odczyn gleby oraz zawartość materii organicznej, makro- i mikroskładników ...	30
3.4.2. Zawartość związków fenolowych w glebie.....	30

3.4.3. Liczebność wybranych mikroorganizmów w glebie	32
3.4.4. Określenie aktywności enzymatycznej.....	32
3.5. Analizy statystyczne	33
4. Omówienie wyników badań.....	36
4.1. Wpływ użytkowania łąk na mikrobiotę glebową i aktywność enzymatyczną	36
4.2. Jednostki syntaksonomiczne użytków zielonych w powiązaniu z właściwościami fizykochemicznymi gleb.....	37
4.3. Wpływ związków fenolowych na liczebność mikroorganizmów w ekosystemach użytków zielonych	46
4.4. Wpływ jednostek roślinności łąkowej na biochemiczne właściwości gleby oraz liczebność wybranych mikroorganizmów	51
5. Podsumowanie i wnioski.....	63
Bibliografia.....	65
Spis tabel i rycin.....	81
Załączniki	84
Spis opublikowanych artykułów wchodzących w skład dysertacji doktorskiej	90
Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review	91
Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland	108
Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study.....	126
Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley.....	138
Oświadczenia współautorów	161

Wykaz skrótów

- 2,5-DHBA – kwas 2,5-dihydroksybenzoesowy
- 4-HBA – kwas 4-hydroksybenzoesowy
- AAS – (ang. *Atomic Absorption Spectrometry*) – atomowa spektrometria absorpcyjna
- AcP – (ang. *Acid Phosphatase*) – fosfataza kwaśna
- Alo pra – *Alopecuretum pratensis*
- ALP – (ang. *Alkaline Phosphatase*) – fosfataza zasadowa
- AMF – (ang. *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*) – arbuskularne grzyby mykoryzowe
- Arr ela – *Arrhenatheretum elatioris*
- BDL – (ang. *Below Detection Limit*) – poniżej progu wykrywalności
- C – (ang. *phytosociological constance*) – stałość fitosocjologiczna
- CAT – (ang. *Catalase*) – katalaza
- ChCl – gatunki charakterystyczne dla klasy w systemie sytaksonomicznym
- ChO – gatunki charakterystyczne dla rzędu w systemie sytaksonomicznym
- com. – (ang. *community*) – zbiorowisko
- C_{org.} – całkowity węgiel organiczny
- CVA – (ang. *Canonical Variate Analysis*) – analiza dyskryminacyjna
- D – wskaźnik pokrycia
- DhA – (ang. *Dehydrogenases*) – dehydrogenazy
- EC – (ang. *Enzyme Commission number*) – numer EC
- H' – wskaźnik różnorodności Shannona-Wienera
- IAA – (ang. *Indole-3-acetic acid*) – kwas indoliloctowy
- J – jesienny termin poboru próbek
- jtk – jednostka tworząca kolonię
- Lol-Cyn – *Lolium-Cynosuretum*
- Mol cae – *Molinietum caeruleae*
- N_{og.} – azot ogólny
- PA – (ang. *Proteases*) – proteazy
- PGPR – (ang. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) – ryzobakterie stymulujące wzrost roślin
- PNP – p-nitrofenol
- Poa-Fes – zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra*
- RDA – (ang. *Redundancy Discriminant Analysis*) – analiza redundancji
- SD – (ang. *Standard Error*) – błąd standardowy

SE – (ang. *Standard Deviation*) – odchylenie standardowe

SR – bogactwo gatunkowe

TN – (ang. *total nitrogen*) – azot ogólny

TOC – (ang. *total organic carbon*) – węgiel organiczny

TPF – (ang. *1,3,5-triphenyl formazan*) – 1,3,5-trifenyloformazan

TTC – (ang. *2,3,5-triphenyltetrazolium chloride*) – 2,3,5-chlorek trifenylotetrazolowy

UA – (ang. *Urease*) – ureaza

W – wiosenny termin poboru próbek

WWA – wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

zb. – zbiorowisko

Streszczenie

Dysertacja doktorska poświęcona jest zależnościom pomiędzy różnorodnością florystyczno-siedliskową zbiorowisk trawiastych a właściwościami chemicznymi i mikrobiologicznymi gleb w dolinie rzeki Obry (Wielki Łęg Obrzański). Badania prowadzono w latach 2022–2023 w 20 punktach obejmujących użytki zielone o zróżnicowanych warunkach siedliskowych.

Analizy fitosocjologiczne pozwoliły wyróżnić pięć jednostek roślinności łąkowej: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* oraz zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra*. Jednostki różniły się składem florystycznym i poziomem bioróżnorodności – najwyższy odnotowano w *Molinietum caeruleae*, a najniższy w *Lolio-Cynosuretum*.

Stwierdzono, że odczyn gleb był głównym czynnikiem różnicującym poszczególne siedliska. Zawartość węgla organicznego i azotu ogólnego ujemnie korelowała z bioróżnorodnością, natomiast wysoką zasobność w makro- i mikroelementy zaobserwowano w siedliskach częściej koszonych (*Alopecuretum pratensis*, *Lolio-Cynosuretum*).

Istotne różnice dotyczyły także liczebności poszczególnych mikroorganizmów. Najmniejszą liczebność mikrobiologiczną stwierdzono w glebie pod *Molinietum caeruleae*, największą w glebie pod *Alopecuretum pratensis* (szczególnie bakterii heterotroficznych i promieniowców), natomiast w *Lolio-Cynosuretum* dominował *Azotobacter* spp. Wykazano również, że związki fenolowe, takie jak katechina, kwas galusowy czy kwas cyamonomowy, istotnie korelowały z liczebnością poszczególnych grup drobnoustrojów.

Aktywność enzymatyczna (katalazy, dehydrogenaz, fosfataz, proteaz i ureazy) była zróżnicowana pomiędzy zbiorowiskami i zależała od warunków siedliskowych. Najwyższą aktywność biochemiczną odnotowano w glebach żyznych i intensywnie użytkowanych. Analizy dowiodły, że sezonowość wpływała na aktywność enzymatyczną (większą w okresie wiosennym, a mniejszą jesienią), co odzwierciedlało cykliczne zmiany w ekosystemach.

Otrzymane rezultaty badań wskazują, że zależności między roślinnością, chemizmem gleby, mikrobiotą i aktywnością enzymatyczną są kluczowe dla funkcjonowania ekosystemów łąkowych. Należy jednak podkreślić ostrożność w formułowaniu wniosków, wynikającą z pionierskiego, interdyscyplinarnego charakteru badań łączących łakarstwo i mikrobiologię środowiska glebowego.

Słowa kluczowe: aktywność enzymatyczna, gleba, mikroorganizmy, różnorodność florystyczna, użytki zielone

Abstract

The doctoral dissertation is devoted to the relationships between the floristic–habitat diversity of grassland communities and the chemical and microbiological properties of soils in the Odra River valley (Wielki Łęg Obrzański). The research was conducted in 2022–2023 at 20 sites encompassing grasslands with diverse habitat conditions.

Phytosociological analyses distinguished five grassland units: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum*, and the community *Poa pratensis*–*Festuca rubra*. These grassland units differed in floristic composition and biodiversity levels – the highest was recorded in *Molinietum caeruleae*, and the lowest in *Lolio-Cynosuretum*.

Soil pH was identified as the main factor differentiating the studied habitats. Organic carbon and total nitrogen content negatively correlated with biodiversity, while higher availability of macro- and microelements was observed in more frequently mown habitats (*Alopecuretum pratensis*, *Lolio-Cynosuretum*).

Significant differences were also found in the abundance of microorganisms. The lowest microbial counts were observed in soils under *Molinietum caeruleae*, whereas the highest occurred under *Alopecuretum pratensis*, particularly for heterotrophic bacteria and actinobacteria. In turn, *Lolio-Cynosuretum* was distinguished by the highest abundance of *Azotobacter spp.* Moreover, phenolic compounds such as catechin, gallic acid, and cinnamic acid were shown to significantly correlate with the abundance of specific microbial groups.

Enzymatic activity (catalase, dehydrogenases, phosphatases, proteases, and urease) varied among plant communities and was strongly dependent on habitat conditions. The highest biochemical activity was recorded in fertile and intensively managed soils. Analyses also confirmed a clear seasonal effect: enzymatic activity was higher in spring and declined in autumn, reflecting cyclical ecosystem dynamics.

The results demonstrate that the interrelations among vegetation, soil chemistry, microbiota, and enzymatic activity are key to the functioning of grassland ecosystems. However, caution in formulating final conclusions is warranted due to the pioneering and interdisciplinary character of this study, which combines grassland science and soil microbial ecology.

Keywords: enzymatic activity, soil, microorganisms, floristic diversity, grasslands

1. Wstęp

1.1. Rola użytków zielonych w krajobrazie przyrodniczym i rolniczym

Półnaturalne użytki zielone, takie jak łąki i pastwiska, są ekosystemami ściśle związanymi z działalnością człowieka. Większość z nich powstała w wyniku zagospodarowania wykarczowanych obszarów leśnych do celów rolniczych. Wraz ze wzrostem liczby ludności i dynamicznym rozwojem cywilizacji żyzne grunty zaczęto wykorzystywać do uprawy roślin na polach, natomiast grunty marginalne o niższej żyzności oraz tereny podmokłe użytkowano jako łąki i pastwiska. Ekosystemy te są istotnym elementem krajobrazu Europy Środkowej. Oprócz tego, że są źródłem paszy, łąki pełnią wiele innych, fundamentalnych dla człowieka funkcji ekosystemowych. Odgrywają one kluczowe funkcje w przyrodzie: klimatyczną, hydrologiczną, ochronną, filtracyjną i fitosanitarną, krajobrazową, estetyczną i biocenotyczną. Ponadto łąki są schronieniem dla wielu gatunków roślin i zwierząt, w tym rzadkich i chronionych (Bengtsson i in., 2019; Grzegorzczuk, 2016; Laidlaw i Šebek, 2012).

Użytki zielone wypełniają wieloaspektową rolę w kształtowaniu krajobrazu Europy. Stanowią one jedno z najstarszych i najcenniejszych półnaturalnych ekosystemów kontynentu, ukształtowanych pod wpływem tradycyjnych praktyk użytkowania, takich jak wypas i koszenie. Zajmują około 34% powierzchni użytków rolnych w Unii Europejskiej, co świadczy o ich istotnym znaczeniu zarówno w produkcji rolniczej, jak i w zachowaniu walorów przyrodniczych krajobrazu wiejskiego (Elliott i in., 2024; Eurostat, 2020; Schils i in., 2022). W Polsce udział łąk i pastwisk jest mniejszy, jednak nadal istotny, gdyż obejmują one około 20% powierzchni wszystkich użytków rolnych (Gabryszuk i in., 2022; GUS, 2024).

Użytki zielone pełnią funkcję łącznika pomiędzy środowiskiem naturalnym a działalnością człowieka. Są miejscem produkcji biomasy (głównie paszowej), ale jednocześnie utrzymują wysoką bioróżnorodność oraz wpływają pozytywnie na mikroklimat, stosunki wodne i strukturę gleb. Dzięki swojej heterogeniczności siedliskowej (wilgotne łąki, murawy kserotermiczne, łąki górskie itp.) wspierają występowanie licznych gatunków roślin i zwierząt, w tym wielu objętych ochroną w ramach sieci Natura 2000 (Fraser i in., 2022; Liu i in., 2025; Veen i in., 2009).

Rola użytków zielonych nie ogranicza się wyłącznie do zachowania różnorodności biologicznej. Ich obecność wpływa także na jakość i estetykę krajobrazu kulturowego, będącego ważnym elementem tożsamości regionalnej. Wspierają one również turystykę

przyrodniczą i zrównoważony rozwój obszarów wiejskich, stanowiąc źródło dochodu w ramach ekoturystyki oraz produktów regionalnych (Peeters, 2012).

Ponadto użytki zielone spełniają istotne funkcje ekohydrologiczne – spowalniają odpływ powierzchniowy, wspomagają infiltrację wód opadowych i zmniejszają ryzyko powodzi. Systemy korzeniowe roślin trawiastych poprawiają strukturę gleby i przeciwdziałają jej zagęszczeniu oraz erozji. Dzięki dużej produkcji biomasy i niskiej intensywności zabiegów agrotechnicznych, użytki zielone wykazują też duży potencjał w zakresie sekwestracji węgla, co czyni je ważnym elementem strategii klimatycznych Unii Europejskiej (Mayel i in., 2021; Pazúr i in., 2024; Soussana i in., 2007).

Z punktu widzenia rolnictwa, trwałe użytki zielone stanowią podstawowe źródło paszy objętościowej dla przeżuwaczy, szczególnie w gospodarstwach niskotowarowych oraz ekstensywnych systemach produkcji mleka i mięsa. Ich odpowiednie użytkowanie (koszenie, wypas, nawożenie organiczne) umożliwia uzyskiwanie paszy wysokiej jakości przy jednoczesnym utrzymaniu walorów przyrodniczych i krajobrazowych (Horan, 2018; Klootwijk, 2024; Wróbel i in., 2025).

Warto podkreślić, że użytki zielone są również przedmiotem wielu unijnych polityk wspierających zrównoważone gospodarowanie gruntami. W ramach Wspólnej Polityki Rolnej, płatności bezpośrednich i programów rolno-środowiskowo-klimatycznych promowane jest zachowanie trwałych użytków zielonych oraz wdrażanie praktyk sprzyjających ochronie gleby, wody i bioróżnorodności (European Commission, 2021; Klootwijk, 2024; Zieliński i in., 2025).

1.2. Rola zróżnicowania florystycznego w ekosystemach użytków trawiastych

Zróżnicowanie gatunkowe stanowi istotny czynnik warunkujący stabilność i odporność zbiorowisk trawiastych na działanie stresorów środowiskowych zarówno abiotycznych, jak i biotycznych. Zbiorowiska charakteryzujące się wysokim bogactwem florystycznym cechują się większą efektywnością w wykorzystaniu dostępnych zasobów (woda, składniki mineralne, światło). Przekłada się to na ich zwiększoną produktywność oraz zdolność do szybkiej regeneracji po wszelkich zakłóceniach antropogenicznych. Ponadto różnorodność roślin wspiera utrzymanie wysokiego poziomu bioróżnorodności organizmów glebowych, w tym mikrobioty, co ma kluczowe znaczenie dla funkcjonowania procesów biogeochemicznych w glebie oraz obiegu pierwiastków. Zróżnicowanie florystyczne rozumiane jest nie tylko jako liczba

gatunków, lecz również jako złożoność strukturalna i funkcjonalna roślinności. Stanowi ono fundamentalny element zapewniający wielofunkcyjność ekosystemów trawiastych, ich stabilność ekologiczną oraz odporność na zmiany środowiskowe i zaburzenia antropogeniczne (Dumont i in., 2022; Freitag i in., 2023; Isbell i in., 2011; Mashiane i in., 2023).

Zróżnicowanie florystyczne determinuje odporność funkcjonalną ekosystemów trawiastych, rozumianą jako zdolność do podtrzymywania podstawowych procesów ekologicznych w warunkach zmienności środowiskowej. Obecność wielu gatunków roślinności trawiastej, pełniących zbliżone funkcje ekologiczne pozwala na tzw. efekt zastępowalności funkcjonalnej – w przypadku zaniku lub osłabienia roli jednych gatunków, inne mogą przejąć ich funkcje w ekosystemie. Mechanizm ten sprzyja stabilizacji produktywności, utrzymaniu efektywności wykorzystania zasobów glebowych oraz ciągłości świadczenia „usług ekosystemowych” (sekwestracja węgla, retencja wody czy podtrzymywanie aktywności biologicznej gleby). W efekcie, wysoka różnorodność roślinna zwiększa odporność zbiorowisk na stresy środowiskowe oraz ich zdolność do adaptacji w obliczu zmian klimatycznych i presji człowieka (Wang i in., 2022; Weisser i in., 2017; Zhang i in., 2023).

W Europie Środkowej i Wschodniej trwałe użytki zielone, w tym półnaturalne łąki i pastwiska, należą do najbardziej zróżnicowanych biologicznie zbiorowisk lądowych. Osiągają one często ponad 30 gatunków roślin naczyniowych na 1 m² (Dengler i in., 2013; Habel i in., 2013). Ich zachowanie ma istotne znaczenie nie tylko z perspektywy ochrony bioróżnorodności, ale także dla zapewnienia „usług ekosystemowych”, produkcyjnych i krajobrazowych.

W szczególności łąki świeże i zmiennowilgotne klasy *Molinio-Arrhenatheretea* odznaczają się dużym bogactwem gatunkowym i wysoką wartością ekologiczną. Niestety są one obecnie silnie zagrożone przez intensyfikację rolnictwa, zaniechanie użytkowania lub sukcesję drzewiastą. Ich utrata prowadzi do homogenizacji krajobrazu oraz spadku bioróżnorodności (Jackowiak, 2023; Kotańska i in., 2016; Młynkowiak i Kutyna, 2011).

Łąki trwałe mogą być wykorzystywane jako łąki kośne i pastwiska, a także do obu tych celów na przemian. Ich skład gatunkowy zależy od formy i intensywności użytkowania. Tradycyjne, ekstensywne użytkowanie łąk – obejmujące umiarkowane koszenie, wypas oraz niewielkie nawożenie organiczne – sprzyja utrzymaniu bogatych zbiorowisk łąkowych. Z kolei intensywne użytkowanie (częste koszenie, wysokie dawki nawozów mineralnych, melioracje) prowadzi do homogenizacji roślinności, eliminacji gatunków charakterystycznych dla danego siedliska oraz zaniku zbiorowisk o wysokiej wartości przyrodniczej (Barszczewski i in., 2015; Tälle i in., 2016; Wróbel i in., 2021). Wpływa to na jakość i ilość paszy dla zwierząt uzyskiwanej z powyższych łąk (Burczyk i in., 2018; Byrnes i in., 2018; Wróbel i in., 2025).

W runi łąk dominują trawy, występują tam też turzyce, sitowia, rośliny dwuliścienne i niewielkie krzewy, które mogą być zjadane przez pasące się zwierzęta. Forma użytkowania łąk determinuje strukturę gatunkową runi. Na łąkach kośnych dominują gatunki traw wysokich. Natomiast w runi pastwisk dominują gatunki traw niskich, a udział wybranych gatunków traw wysokich jest niewielki (Klarzyńska i Kryszak, 2015; Wróbel i in., 2021). Oprócz traw, ważną rolę w składzie florystycznym runi łąk odgrywają rośliny strączkowe. Skład gatunkowy obejmuje również gatunki ziół i chwastów – grupę funkcjonalną charakteryzującą się wyższą zawartością białka, węglowodanów, minerałów, witamin i innych substancji czynnych, które są korzystne dla zdrowia zwierząt (Klarzyńska i Kryszak, 2015; Szuleta i in., 2017; Wróbel i in., 2021).

Wieloletnie badania potwierdzają, że ekosystemy o wyższym poziomie różnorodności gatunkowej cechują się większą produktywnością i odpornością na stresy środowiskowe, takie jak susze, nadmierne opady czy choroby roślin (Eisenhauer i in., 2024; Weisser i in., 2017). Zróżnicowane zbiorowiska lepiej wykorzystują dostępne zasoby – wodę, światło, składniki mineralne – dzięki obecności gatunków o zróżnicowanych strategiach życiowych i strukturach korzeniowych. W konsekwencji rośnie efektywność funkcjonowania całego systemu i jego zdolność do sprawnej regeneracji.

Różnorodność florystyczna odgrywa istotną rolę w kształtowaniu struktury oraz aktywności mikroorganizmów glebowych. Oddziałuje ona na ich skład i funkcjonalność poprzez zróżnicowane ilości i jakość eksudatów korzeniowych oraz resztek roślinnych wprowadzanych do gleby. Zbiorowiska roślinne o wysokim bogactwie gatunkowym wytwarzają bardziej złożony i zróżnicowany strumień materii organicznej, co sprzyja rozwojowi zróżnicowanego mikrobiomu glebowego. W konsekwencji prowadzi to do intensyfikacji procesów mineralizacji substancji organicznej, wzrostu aktywności enzymatycznej oraz korzystnych zmian w strukturze agregatowej gleby. Takie środowisko charakteryzuje się zwiększoną efektywnością obiegu pierwiastków oraz wyższą stabilnością biologiczną, co podkreśla kluczową rolę florystycznej różnorodności w utrzymaniu funkcjonalności i zdrowia gleb w ekosystemach trawiastych (Lange i in., 2015; Shi i in., 2023).

Zbiorowiska roślinne charakteryzujące się wysokim bogactwem florystycznym wykazują zwiększoną odporność na inwazje gatunków obcych oraz lepiej utrzymują równowagę troficzną w ekosystemie. Różnorodność gatunkowa ogranicza dostępność nisz ekologicznych dla roślinności inwazyjnej poprzez efektywne wykorzystanie zasobów, takich jak światło, przestrzeń, woda i składniki mineralne, co prowadzi do tzw. efektu konkurencyjnego wykluczenia. Tego

typu mechanizm sprzyja stabilizacji zbiorowisk oraz ogranicza sukces kolonizacyjny gatunków ekspansywnych (Cheng i in., 2024; Weisser i in., 2017).

Ponadto florystycznie bogate użytki zielone wspierają zachowanie funkcjonalnych grup fauny, w tym owadów zapylających, ptaków związanych z siedliskami otwartymi oraz drobnych ssaków. Wysoka heterogeniczność strukturalna i obecność zróżnicowanych form życia roślin tworzą mozaikę mikrohabitatów o zróżnicowanych warunkach mikroklimatycznych, pokarmowych i schronieniowych. Dzięki temu takie zbiorowiska odgrywają istotną rolę w utrzymaniu lokalnej bioróżnorodności i kształtowaniu sieci troficznych. Ponadto zwiększają ich wartość przyrodniczą oraz potencjał ekologiczny zarówno w krajobrazie rolniczym, jak i półnaturalnym (Bengtsson i in., 2019).

1.3. Rola użytków zielonych w obliczu zmian klimatu

Zmiany klimatyczne stanowią jedno z najpoważniejszych wyzwań dla współczesnych ekosystemów lądowych, w tym także dla ekosystemów użytków zielonych. Wzrost średnich temperatur, zmienność opadów, wzrost częstości występowania ekstremalnych zjawisk pogodowych (susze, powodzie, fale upałów), a także podnoszenie się poziomu CO₂ w atmosferze wywierają znaczący wpływ na produktywność, strukturę i funkcjonowanie zbiorowisk trawiastych (IPCC, 2023).

Użytki zielone, dzięki trwałej i dobrze rozwiniętej pokrywie roślinnej, odgrywają istotną rolę w łagodzeniu skutków zmian klimatu, pełniąc funkcję efektywnych buforów klimatycznych. Przede wszystkim są one ważnymi magazynami węgla (zarówno w postaci biomasy nadziemnej, jak glebowej), przechowującymi ponad 80% całkowitego C zgromadzonego w tych ekosystemach. W porównaniu z innymi formacjami roślinnymi, np. lasami, użytki zielone cechują się większą stabilnością jako pochłaniacze węgla, zwłaszcza w warunkach wywołanych przez pożary, susze czy intensywne użytkowanie. Wynika to z faktu, iż węgiel akumulowany jest głównie w stabilnych, organicznych frakcjach glebowych (Borana i in., 2023; Emadodin i in., 2021). Ponadto zbiorowiska trawiaste poprawiają bilans wodny krajobrazu, ograniczając erozję i zwiększając infiltrację oraz retencję wody w glebie, szczególnie w obliczu nasilających się zjawisk ekstremalnych, np. długotrwałych susz czy intensywnych, nawalnych opadów (Yang i in., 2019). Roślinność tych siedlisk zwiększa zawartość materii organicznej w glebie, poprawiając jej pojemność wodną i zdolność do magazynowania wilgoci. Dodatkowo ich struktura gatunkowa i różnorodność funkcjonalna sprzyjają odporności biologicznej i ekologicznej. Trawy bowiem wykazują cechy szybkiej regeneracji i elastyczności w dostosowaniu się do

zmiennych warunków klimatycznych (Nippert i in., 2022). W efekcie, zrównoważone gospodarowanie tymi ekosystemami może stanowić element szerszej strategii na rzecz klimatycznej odporności krajobrazów wiejskich.

W obliczu konieczności adaptacji sektora rolniczego do zmieniającego się klimatu, trwałe użytki zielone pełnią istotną rolę jako elementy buforowe tego krajobrazu. Dzięki trwałej pokrywie roślinnej, ograniczonej agrotechnice i ciągłości funkcjonowania ekosystemu, wpływają one korzystnie na lokalny mikroklimat. Poprzez stabilizację temperatury gleby zmniejszają wahania wilgotności oraz łagodzą efekty ekstremalnych zjawisk pogodowych, takich jak: fale upałów czy okresy suszy. Użytki zielone wpływają też pozytywnie na sąsiednie uprawy poprzez ochronę przed wiatrem, utrzymanie wyższej wilgotności powietrza i gleby oraz zmniejszanie zjawiska stresu termicznego. Ponadto, ułatwiają one integrowanie rolnictwa z elementami przyrodniczymi, takimi jak: zadrzewienia śródpolne, mokradła czy korytarze ekologiczne. Taka strukturalna kompleksowość krajobrazu tworzy złożone systemy agroekologiczne o zwiększonej odporności na zmienne warunki środowiskowe zarówno klimatyczne, jak i antropogeniczne (Jeanneret i in., 2021; Ogwu i Kosoe, 2025; Simelton i in., 2021).

1.4. Znaczenie mikroorganizmów w glebach użytków zielonych

Mikroorganizmy glebowe odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu użytków zielonych, odpowiadając za rozkład materii organicznej, cykle węgla, azotu, siarki i fosforu, tworzenie humusu oraz stabilizację struktury gleby. Ich aktywność bezpośrednio wpływa na żyzność, produktywność i stabilność ekosystemów trawiastych. Do najważniejszych grup mikroorganizmów należą bakterie, promieniowce i grzyby. Ich różnorodność i liczebność stanowi czuły wskaźnik jakości środowiska glebowego oraz jego zdolności regeneracyjnych w warunkach presji antropogenicznej czy zmian klimatycznych. Gleby trwałych użytków zielonych, dzięki ciągłości pokrywy roślinnej i ograniczonemu przekształcaniu, stanowią siedliska o wyjątkowo wysokiej aktywności biologicznej (Kinsbergen i in., 2025; Siebert i in., 2023; Wang i in., 2025).

1.4.1. Bakterie i promieniowce – funkcje i znaczenie

Gleby użytków zielonych tworzą dynamiczne środowisko życia dla różnorodnych drobnoustrojów. Bakterie odgrywają kluczową rolę w funkcjonowaniu gleb użytków zielonych, wpływając na ich żyzność, strukturę oraz zdolność do magazynowania i obiegu składników odżywczych. Są one jednym z najważniejszych komponentów mikrobiomu glebowego,

stanowiąc nawet 70–90% całkowitej biomasy mikroorganizmów w glebie. Ich aktywność biologiczna i enzymatyczna, szczególnie w warunkach naturalnych i półnaturalnych użytków zielonych, decyduje o intensywności procesów biogeochemicznych (mineralizacja materii organicznej, humifikacja czy obieg węgla, azotu, siarki i fosforu w przyrodzie). Bakterie glebowe wpływają na obieg składników pokarmowych, wspomagają wzrost roślin, zwiększają odporność roślin na patogeny i warunki stresowe, a także uczestniczą w formowaniu agregatów glebowych i próchnicy (Ibáñez De Aldecoa i in., 2017; Wang i in., 2024).

Bakterie istotnie wpływają na strukturę gleby poprzez produkcję polisacharydów zewnątrzkomórkowych oraz innych substancji śluzowych, które sprzyjają agregacji cząstek mineralnych. Proces ten podnosi stabilność strukturalności gleb, zwiększa ich zdolność do retencjonowania wody i ogranicza erozję. Jednocześnie bakterie uczestniczą w tworzeniu humusu, poprzez dekompozycję materii organicznej i jej humifikację. Produkowane przez bakterie enzymy, m.in. dehydrogenazy, fosfatazy i ureazy pełnią kluczowe funkcje w cyklach węgla, azotu i fosforu, przyczyniając się do mineralizacji pierwiastków oraz poprawy zasobności środowiska glebowego (Cania i in., 2020; Costa i in., 2018; Daunoras i in., 2024; Solangi i in., 2024).

Wśród bakterii szczególne znaczenie mają mikroorganizmy ryzosferowe należące do tzw. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), takie jak: *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Streptomyces* czy *Azotobacter*. Poprzez produkcję roślinnych regulatorów wzrostu, kwasów organicznych oraz zdolności do wiązania azotu atmosferycznego i solubilizacji fosforu, wspomagają one wzrost roślin oraz zwiększają ich odporność zarówno na stresy abiotyczne, jak i biotyczne (Al-Baldawy i in., 2023; Grobelak i in., 2015; Sumbul i in., 2020; Tabassum i in., 2017).

Bakterie zdolne do asymilacji azotu atmosferycznego odgrywają ważną rolę w przypadku użytków zielonych, zwłaszcza tych bogatych w rośliny bobowate. Tworzą one symbiotyczne układy z bakteriami z rodzajów *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* i *Sinorhizobium*, dzięki czemu mogą wiązać azot atmosferyczny. W ten sposób wzbogacają glebę w ten składnik i przyczyniają się do intensywnego rozwoju roślin oraz tworzenia biomasy bogatej w białko (Mahmud i in., 2020). Natomiast wolno żyjące formy bakterii, takie jak rodzaj *Azotobacter*, wiążą azot niezależnie od gospodarza. Są to organizmy tlenowe, które potrafią asymilować azot cząsteczkowy (N₂) bez udziału symbiontów roślinnych. Tym samym wzbogacają one glebę w przyswajalne formy azotu nawet w nieobecności roślin bobowatych. Bakterie *Azotobacter* spp. dodatkowo syntetyzują witaminy z grupy B, roślinne regulatory wzrostu (np. kwas indoliloctowy – IAA) oraz stymulują rozwój systemu korzeniowego roślin (Aasfar i in., 2021; Sivasakthi i in., 2017).

Z kolei promieniowce (*Actinobacteria*) pełnią kluczową rolę w użytkach zielonych, jako dominująca grupa mikroorganizmów glebowych, łącząc zarówno cechy bakterii, jak i grzybów. Tworzą one rozbudowaną sieć nitkowatych strzępek, tzw. grzybnię powietrzną, co zwiększa powierzchnię aktywnego kontaktu z glebą i materią organiczną. Dzięki produkcji zewnątrzkomórkowych enzymów hydrolitycznych, promieniowce są zdolne do rozkładu złożonych wiązań organicznych, takich jak: celuloza, chityna, lignina czy kwasy huminowe. Przyczynia się to do formowania próchnicy i napędza cykl węgla w glebie. Ponadto wielu przedstawicieli *Actinobacteria*, zwłaszcza z rodzaju *Streptomyces*, syntetyzuje szeroki wachlarz substancji antybiotycznych (np. streptomycyna, erytromycyna), które hamują rozwój patogenów roślinnych. Dodatkowo producenci takich metabolitów mogą stymulować odporność roślin przed patogenami i wszelkimi chorobami (Barka i in., 2016; Boubekri i in., 2022; Boukhatem i in., 2022; Lewin i in., 2016; Zhang i in., 2019).

1.4.2. Grzyby – destruenci, symbionty i regulatorzy

Grzyby stanowią fundamentalną, choć liczebnie mniejszą niż bakterie grupę drobnoustrojów w glebach użytków zielonych, z istotnym udziałem w biomasie oraz funkcjach ekologicznych. Odgrywają ważną rolę w licznych procesach biologicznych, fizykochemicznych i biochemicznych. Organizmy te uczestniczą w rozkładzie materii organicznej, wspierają retencję wody, wzmacniają strukturę gleby oraz wpływają na obieg pierwiastków. Dzięki enzymom zewnątrzkomórkowym (np. celulazy, ligninazy, chitynazy) grzyby rozkładają złożone związki organiczne, przyczyniając się do powstawania próchnicy i utrzymania żyzności gleby. Ich aktywność sprzyja też stabilności ekosystemu, jego odporności na stresy środowiskowe i funkcjonowanie „usług ekosystemowych” (np. cyrkulacji składników pokarmowych i zatrzymywania wilgoci) (Frąc i in., 2018; Macias-Benitez i in., 2020; Zhou i in., 2024).

Szczególne rolę w ekosystemach łąkowych odgrywają grzyby mykoryzowe, szczególnie arbuskularne grzyby mykoryzowe (AMF). Tworzą one związek symbiotyczny z korzeniami ponad 90% gatunków roślin naczyniowych. Dzięki rozbudowanej sieci strzępek grzyby te zwiększają powierzchnię chłonną systemu korzeniowego, ułatwiając pobieranie składników pokarmowych, zwłaszcza fosforu, cynku i miedzi oraz poprawiają zaopatrzenie roślin w wodę. W zamian otrzymują od roślin związki organiczne, głównie cukry. Sieć mykoryzowa umożliwia również transport składników pokarmowych między roślinami, a także działa jako swoisty system ostrzegania o stresach środowiskowych czy infekcjach (Koorem i in., 2024; Simard i in., 2012; Yuvaraj i Ramasamy, 2020).

Grzyby pełnią również funkcje bioprotekcyjne. Dzięki produkcji związków antybakteryjnych i fungistatycznych mogą ograniczać rozwój patogenów glebowych. Wspomagają też rośliny w przystosowaniu się do stresów środowiskowych np. suszy, zasolenia, zanieczyszczenia metalami ciężkimi czy wielopierścieniowymi węglowodarami aromatycznymi (WWA). Rośliny współpracujące z grzybami mykoryzowymi wykazują bowiem większą odporność na niekorzystne warunki siedliskowe i patogeny, co ma szczególne znaczenie w ekosystemach łąkowych podlegających presji antropogenicznej (Lenoir i in., 2016; Tang i in., 2022; Valenzuela-Aragon i in., 2025; Wang i Chen, 2024).

1.5. Znaczenie aktywności enzymatycznej w glebach użytków zielonych

W ekosystemach glebowych enzymy odgrywają niebagatelną rolę w regulacji procesów biogeochemicznych, zwłaszcza w zakresie transformacji materii organicznej i dostępności składników odżywczych. Głównym źródłem enzymów w glebie są mikroorganizmy, które syntetyzują i wydzielają je do środowiska w odpowiedzi na warunki siedliskowe i potrzeby metaboliczne. Enzymy pochodzenia mikrobiologicznego są dominujące, jednak w mniejszych ilościach są również produkowane przez systemy korzeniowe roślin oraz mezo- i makrofaunę glebową.

Do najistotniejszych enzymów biorących udział w rozkładzie materii organicznej należą te, które katalizują degradację złożonych polimerów roślinnych, takich jak: lignina i celuloza, a także enzymy uczestniczące w mineralizacji organicznych form azotu, fosforu i siarki. Procesy te prowadzą do uwolnienia pierwiastków biogennych w formach przyswajalnych dla roślin, umożliwiając ponowne włączenie w obieg związków organicznych niezbędnych dla ekosystemu glebowego (Grgas i in., 2023; Grzyb i in., 2020; Kuhađ i in., 2013).

Aktywność enzymatyczna gleby jest powszechnie uznawana za czuły i wczesny bioindykator zmian zachodzących w środowisku glebowym. Reaguje ona dynamicznie zarówno na czynniki naturalne (temperatura, wilgotność, dostępność substratów), jak i antropogeniczne (zanieczyszczenia, zabiegi agrotechniczne). W porównaniu z innymi wskaźnikami biologicznymi, aktywność enzymatyczna lepiej odzwierciedla żyzność gleby oraz jej potencjał produkcyjny (Daunoras i in., 2024; Furtak i Gałazka, 2019; Wang i in., 2023).

Dehydrogenazy, to enzymy uczestniczące w procesach utleniania-redukcji, związanych z oddychaniem komórkowym mikroorganizmów. Ze względu na to, że występują wyłącznie w żywych komórkach, ich aktywność traktowana jest jako ogólny wskaźnik żywotności mikrobioty glebowej. Dehydrogenazy katalizują przemiany związków organicznych i są szczególnie

czułe na zmiany środowiskowe. Ich aktywność maleje w warunkach degradacji gleby, nadmiernej intensyfikacji użytkowania lub spadku zawartości materii organicznej. W glebach użytków zielonych utrzymywanych bez intensywnego nawożenia i z ograniczonym zaburzeniem struktury gleby (np. bez orki), aktywność dehydrogenaz może być relatywnie wysoka i świadczyć o dobrym stanie biologicznym środowiska (Daunoras i in., 2024; Furtak i Gałązka, 2019; Marcos i in., 2020; Wang i in., 2023).

Fosfatazy, to enzymy katalizujące hydrolizę związków organicznych zawierających fosfor, uwalniające nieorganiczny fosfor dostępny dla roślin. W glebie występują dwa główne typy: fosfataza kwaśna (działająca w środowisku o niskim pH) oraz fosfataza zasadowa (działająca w środowisku zasadowym). Obie formy odgrywają kluczową rolę w cyklu fosforu, który w glebach jest często pierwiastkiem deficytowym. W użytkach zielonych, gdzie rzadziej stosuje się fosforowe nawozy mineralne, funkcja tych enzymów zyskuje na znaczeniu. Ich aktywność może kompensować niedobory dostępnego fosforu i wspierać efektywność jego obiegu. Aktywność fosfataz koreluje z zawartością materii organicznej i biomasy korzeniowej, a także ze strukturą społeczności mikrobiologicznej (Liao i in., 2020; Wahdan i in., 2021; Wyszowska i Wyszowski, 2010; Yang i in., 2016).

Ureaza, to enzym odpowiedzialny za rozkład mocznika do amoniaku i ditlenku węgla. Proces ten jest ważnym etapem mineralizacji azotu organicznego i przekształcania go w formy przyswajalne przez rośliny. Gleby użytków zielonych, bogate w materię organiczną, często charakteryzują się wysoką aktywnością ureazy, co świadczy o intensywnym obiegu azotu i potencjale do jego naturalnego udostępniania roślinom. Zbyt wysoka aktywność ureazy, szczególnie w połączeniu z intensywnym nawożeniem azotowym, może jednak prowadzić do strat azotu w postaci emisji amoniaku (NH_3). Stanowi to wyzwanie w zarządzaniu gospodarką azotową w rolnictwie. Z tego względu badanie aktywności ureazy ma znaczenie zarówno z perspektywy produktywności, jak i ochrony środowiska (Wang i in., 2020, 2021, 2023).

Katalaza, to enzym uczestniczący w ochronie komórek przed toksycznym działaniem nadtlenu wodoru (H_2O_2), rozkładający go do wody i tlenu. Obecność katalazy i jej aktywność stanowią wskaźnik odporności mikroorganizmów na stres oksydacyjny, a tym samym świadczą o ogólnej stabilności środowiska mikrobiologicznego. W glebach użytków zielonych, szczególnie tych bogatych w resztki roślinne i charakteryzujących się wysokim poziomem życia mikrobiologicznego, katalaza odgrywa rolę w utrzymaniu równowagi oksydacyjno-redukcyjnej. Jej poziom może obniżać się w warunkach zanieczyszczenia metalami ciężkimi, nadmiernego przesuszenia lub zakwaszenia gleby (Hu i in., 2022; Li i in., 2022b; Wang i in., 2023).

Proteazy, to enzymy odpowiedzialne za rozkład białek do aminokwasów i peptydów. Stanowią istotne ogniwo w mineralizacji azotu organicznego i jego przekształcaniu w dostępne formy azotu mineralnego. Są syntetyzowane przez bakterie, grzyby i inne organizmy glebowe. W glebach użytków zielonych proteazy wspomagają rozkład materii organicznej pochodzącej z opadłych liści, obumarłych korzeni oraz odchodów zwierzęcych. Ich aktywność jest pozytywnie skorelowana z aktywnością mikrobiologiczną i dostępnością łatwo przyswajalnych źródeł węgla. Dzięki nim gleba zachowuje wysoką zdolność do regeneracji zasobów azotu, co ma bezpośrednie przełożenie na żyzność siedliska (Furtak i Gałązka, 2019; Moreno i in., 2003; Naga Raju i in., 2017).

1.6. Wpływ właściwości chemicznych gleb na użytki zielone

Właściwości chemiczne gleby stanowią jeden z istotnych czynników warunkujących strukturę i funkcjonowanie ekosystemów trawiastych. Określają one dostępność składników pokarmowych dla roślin, procesy mineralizacji materii organicznej oraz ogólną zasobność i pośrednio urodzajność siedliska. W kontekście trwałych użytków zielonych zarówno półnaturalnych łąk, jak i pastwisk, parametry, takie jak odczyn gleby (pH), zawartość węgla organicznego ($C_{org.}$), azotu ogólnego ($N_{og.}$), dostępność makroelementów (P, K, Mg, Mn) oraz stosunek C:N mają bezpośrednie przełożenie na skład florystyczny, produktywność biomasy i stabilność funkcjonowania ekosystemu (Gerlach i in., 2023; Han i in., 2022; Qiu i in., 2018; Zhou i in., 2019).

Odczyn gleby jest jednym z najbardziej wpływowych parametrów środowiskowych dla życia mikroorganizmów, dostępności składników pokarmowych i rozmieszczenia gatunków roślinnych. Większość roślin łąkowych oraz drobnoustrojów glebowych preferuje warunki lekko kwaśne do obojętnych (pH 5.5–7.5) (Lauber i in., 2009; Zhou i in., 2019). Gleby silnie kwaśne ograniczają aktywność mikroorganizmów, obniżają biodostępność wapnia, magnezu i fosforu, a jednocześnie zwiększają mobilność i toksyczność metali ciężkich. W użytkach zielonych utrzymywanych w ekstensywnym systemie użytkowania odczyn gleby może ulegać zakwaszeniu wskutek intensywnego wypasu, nadmiaru opadów lub akumulacji materii organicznej. W takich przypadkach wskazane jest okresowe wapnowanie, które przywraca równowagę chemiczną i wspiera rozwój zróżnicowanej roślinności oraz aktywności mikrobiologicznej (Mitsuta i in., 2025; Wenyika i in., 2025).

Zawartość węgla organicznego w glebie odgrywa fundamentalną rolę w kształtowaniu jej właściwości fizykochemicznych i biologicznych. Węgiel organiczny bowiem wpływa na

strukturę agregatową gleby, jej zdolność do retencji wody, pojemność sorpcyjną, a także stanowi główne źródło energii dla mikrobioty glebowej (Lehmann i Kleber, 2015). Gleby o wysokiej zawartości węgla organicznego są bardziej odporne na degradację i lepiej wspierają procesy mikrobiologiczne, takie jak mineralizacja azotu, fosforu czy siarki. W przypadku użytków zielonych, szczególnie tych długotrwale użytkowanych w sposób ekstensywny, zawartość C_{org} bywa wyższa niż w glebach ornych – dzięki mniejszemu zakłóceniu struktury gleby, obecności wieloletniego systemu korzeniowego i dostarczaniu znacznych ilości resztek roślinnych (De Bruijn i in., 2012; Dietz i in., 2024; Hu i in., 2024).

Azot jest jednym z najważniejszych pierwiastków determinujących wzrost roślin oraz aktywność biologiczną gleby. W użytkach zielonych jego dostępność wynika zarówno z mineralizacji związków organicznych, jak i z działalności mikroorganizmów wiążących azot atmosferyczny, np. bakterii z rodzaju *Azotobacter* oraz symbiotycznych bakterii brodawkowych. Wskaźnikiem dynamiki obiegu azotu w glebie jest stosunek C:N. Jego wartość większa niż 15 może wskazywać na dominację procesów humifikacji i powolną mineralizację, natomiast wartości poniżej 10, sugerują szybki rozkład materii organicznej i wysoką aktywność mikrobiologiczną (Fageria, 2014). Umiarkowana zawartość azotu oraz zrównoważony stosunek C:N wspierają rozwój zbiorowisk o dużym bogactwie gatunkowym. Z kolei nadmierna dostępność azotu, np. w wyniku intensywnego nawożenia, może prowadzić do eutrofizacji siedliska, zaniku gatunków światłolubnych i wyspecjalizowanych oraz rozwoju traw ekspansywnych (Chen i in., 2023; Fan i in., 2021; Soons i in., 2017). Ponadto nieuzasadniony dodatek azotu może zaburzać równowagę C:N gleby. W konsekwencji może to negatywnie wpływać na strukturę mikrobiomu i zmiany w dekompozycji materii organicznej, sprzyjając dominacji bakterii kosztem grzybów i detrytusorów — potencjalnie osłabiając funkcjonalną różnorodność ekosystemu trawiastego (Li i in., 2022a).

Fosfor (P), potas (K), magnez (Mg) i mangan (Mn) to podstawowe makro- i mikroskładniki pokarmowe wpływające na wzrost i rozwój roślin trawiastych. Ich dostępność w glebie zależy od odczynu, zawartości próchnicy oraz intensywności użytkowania. Fosfor, pomimo że jest często obecny w glebie w dużych ilościach, występuje w formach słabo przyswajalnych. Aktywność mikroorganizmów fosfatazowych ma więc kluczowe znaczenie dla jego uwalniania. Niedobory potasu z kolei wpływają negatywnie na gospodarkę wodną roślin i ich odporność na stresy środowiskowe. Magnez pełni istotną funkcję jako składnik chlorofilu i enzymów fotosyntetycznych. Mn aktywuje liczne enzymy, np. dehydrogenazy, oksydazy oraz transferazy i jest składnikiem kompleksu białkowo-metalicznego w fotosystemie (Baghel i in., 2020; Chaudhry i in., 2021; Neupane i in., 2023; Pan i Cai, 2023). Zróżnicowanie zawartości tych

pierwiastków może wpływać na skład florystyczny użytków zielonych. Siedliska zasobne P, K, Mg i Mn sprzyjają rozwojowi gatunków nitrofilnych, natomiast siedliska uboższe w te makroskładniki – występowaniu roślin charakterystycznych dla siedlisk półnaturalnych, często o wysokiej wartości przyrodniczej (Hauer-Jákli i Tränkner, 2019; Sardans i Peñuelas, 2021).

1.7. Rola związków fenolowych w glebie

Związki fenolowe, takie jak kwas kawowy, katechina czy taniny, stanowią istotną grupę wtórnych metabolitów roślinnych, które odgrywają ważną rolę w funkcjonowaniu ekosystemów glebowych. Pełnią one funkcje regulacyjne i obronne, wpływając na przebieg procesów mikrobiologicznych oraz fizykochemicznych. Działają allelopatycznie, mogą hamować rozwój niektórych drobnoustrojów lub roślin, a jednocześnie modyfikować dostępność składników pokarmowych, takich jak: azot czy fosfor, poprzez ich kompleksowanie lub wpływ na aktywność enzymatyczną gleby. Fenole oddziałują na szybkość rozkładu materii organicznej, mineralizację pierwiastków i aktywność enzymów takich jak: fosfatazy, peroksydazy czy dehydrogenazy, przez co oddziałują na obieg materii i energii w ekosystemie. W glebach użytków zielonych, które cechują się dużą produkcją biomasy, obecnością wieloletnich gatunków zielnych i bogactwem resztek roślinnych, związki fenolowe występują w większym stężeniu niż w systemach intensywnie użytkowanych. Ich obecność sprzyja stabilizacji próchnicy, wpływa na strukturę mikrobiomu glebowego i kształtuje warunki dla funkcjonalnej równowagi biologicznej. Omawiane związki mogą silnie modulować aktywność mikroorganizmów glebowych, wykazując działanie stymulujące lub inhibujące w zależności od ich rodzaju, stężenia i warunków środowiskowych (Ziółkowska i in., 2020a; Zwetsloot i in., 2020).

Związki fenolowe pełnią dwojaką rolę w procesach rozkładu materii organicznej w glebie. Z jednej strony jako składniki strukturalne ligniny i innych polimerów roślinnych, są trudno biodegradowalne. Spowalniają także tempo mineralizacji, co sprzyja długoterminowej akumulacji materii organicznej w glebie. Taka stabilizacja węgla ma szczególne znaczenie w ekosystemach użytków zielonych oraz w glebach organicznych, gdzie intensywne dostarczanie resztek roślinnych prowadzi do wzrostu udziału frakcji humusowej (Kiem i Kögel-Knabner, 2003). Z drugiej strony związki te mogą pełnić rolę regulatorów procesów mikrobiologicznych, ograniczając aktywność enzymatyczną drobnoustrojów odpowiedzialnych za rozkład materii organicznej, co skutkuje opóźnioną mineralizacją azotu i fosforu oraz zwiększeniem udziału stabilnych form organicznych tych pierwiastków (Li i in., 2024).

2. Hipoteza badawcza i cel pracy doktorskiej

Hipoteza badawcza zakłada, że istnieje zależność między zróżnicowaniem florystyczno-siedliskowym zbiorowisk trawiastych a wybranymi właściwościami chemicznymi i mikrobiologicznymi gleb.

Celem dysertacji jest ocena zależności pomiędzy zróżnicowaniem zbiorowisk roślinnych użytków zielonych a właściwościami chemicznymi i mikrobiologicznymi różnych typów i podtypów gleb, w tym zawartością związków fenolowych, w kontekście ich wpływu na ekosystemy trawiaste. Powyższy cel i podejście do tematu wynikają między innymi z niewielkiej liczby artykułów naukowych i opracowań dotyczących omawianych zagadnień.

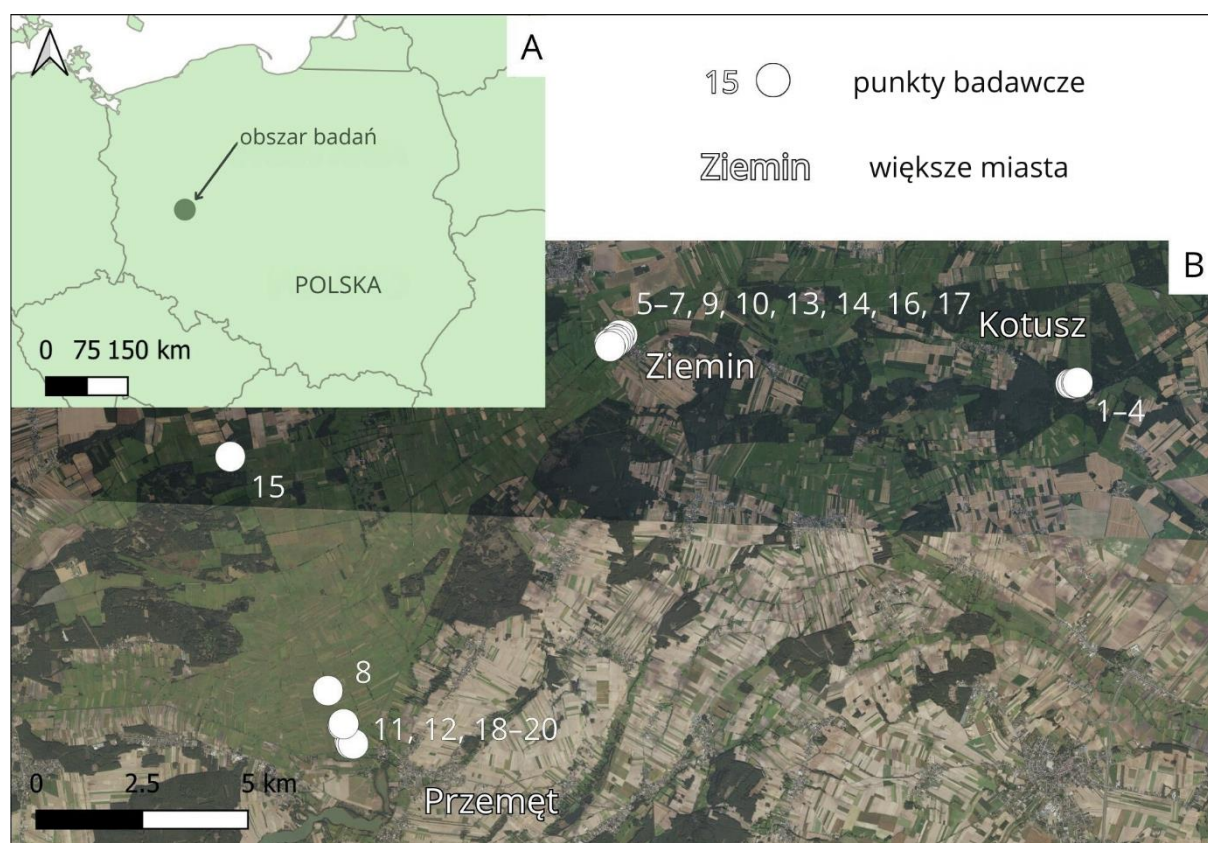
Cele szczegółowe:

1. Określenie zależności pomiędzy różnorodnością florystyczną a właściwościami gleby, w tym zawartością $C_{org.}$, $N_{og.}$, K, Mg, Mn, P i pH.
2. Zbadanie sezonowych zmian liczebności mikroorganizmów i aktywności enzymów w glebie oraz ich związku z parametrami siedliskowymi (pH, zawartość materii organicznej).
3. Określenie zależności pomiędzy wybranymi jednostkami syntaksonomicznymi i ich różnorodnością a liczebnością mikroorganizmów glebowych i aktywnością enzymatyczną gleb.
4. Zidentyfikowanie związków fenolowych w glebach trawiastych oraz ich roli w kształtowaniu składu mikroorganizmów glebowych.

3. Materiały i metody

3.1. Obiekt badań

Badania terenowe zostały przeprowadzone w obrębie Wielkiego Łęgu Obrzańskiego. Punkty badawcze, czyli miejsca pobrania próbek glebowych i wykonania zdjęć fitosocjologicznych znajdowały się w gminach: Kościan (1, 2, 3, 4), Wielichowo (5, 6, 7, 9, 10, 13, 14, 15, 17), Przemęt (8, 11, 12, 18, 19, 20) i Wolsztyn (16), które leżą wzdłuż Kanałów Obrzańskich (Rycina 1).



Rycina 1. Lokalizacja (A) obiektu i (B) punktów badawczych

3.1.1. Klimat

Tereny trawiaste znajdują się w strefie klimatu umiarkowanego ciepłego, charakteryzującego się ciepłymi latami (Kottek i in., 2006). Średnia roczna temperatura w regionie wynosiła 10,6°C, a średnie roczne opady kształtowały się na poziomie 414,6 mm. Warto zauważyć, że rok 2022 był o 1,2°C cieplejszy od normy klimatycznej dla lat 1991–2020, a całkowite opady w tym roku wyniosły zaledwie 77% średniej regionalnej (IMGW PIB, 2022). Rok 2023 był jeszcze cieplejszy – o 1,4°C od normy klimatycznej dla lat 1991–2020, a całkowite opady w tym roku osiągnęły 132% średniej regionalnej (IMGW PIB, 2023).

3.1.2. Pokrywa glebowa

Według Szczegółowej Mapy Geologicznej Polski (Szałajdewicz, 2004, Jodłowski, 2003, Krzysztofka, 1993) analizowane gleby powstały z płytkich warstw torfu pokrywających materiały aluwialne – głównie piaski, z okazjonalnym występowaniem mułów. Obecnie występują tam głównie gleby organiczno-mineralne i mineralne o charakterze murszowym. Gleby zaklasyfikowano zgodnie z obowiązującą systematyką gleb Polski (Kabała i in., 2019). Odnotowano obecność następujących podtypów gleb: gleby murszaste – *postmurshic soils* (1, 2, 4, 10 i 13), gleby murszowate typowe – *typical semimurshic soils* (3, 5, 6, 9, 12, 14, 15 i 17), gleby murszowe płytkie – *thin murshic soils* (7, 8, 18, 19 i 20) oraz gleby gruntowo-glejowe murszowe – *murshic gleysols* (11 i 16). Głębokość wód glebowo-gruntowych w punktach badawczych 1–18 wynosiła od 0,8 do 1,15 m, natomiast w punktach 19 i 20 odnotowano płytsze poziomy kształtujące się między 0,6 a 0,8 m. Wszystkie lokalizacje zostały georeferencjonowane in situ (Tabela 1).

Tabela 1. Dokładna lokalizacja punktów badawczych

Punkt badawczy	Koordynaty WGS 84 (N/E)
1.	52°05'42"N 16°31'30"E
2.	52°05'42"N 16°31'33"E
3.	52°05'43"N 16°31'37"E
4.	52°05'43"N 16°31'39"E
5.	52°06'07"N 16°22'12"E
6.	52°06'07"N 16°22'08"E
7.	52°06'04"N 16°22'03"E
8.	52°01'27"N 16°16'23"E
9.	52°06'03"N 16°22'07"E
10.	52°06'00"N 16°21'56"E
11.	52°00'49"N 16°16'52"E
12.	52°01'01"N 16°16'43"E
13.	52°06'02"N 16°22'04"E
14.	52°05'59"N 16°22'00"E
15.	52°06'00"N 16°22'01"E
16.	52°04'23"N 16°14'11"E
17.	52°05'58"N 16°21'57"E
18.	52°00'47"N 16°16'54"E
19.	52°00'47"N 16°16'57"E
20.	52°01'02"N 16°16'44"E

W analizowanej części doliny rzeki Obry przeważają użytki zielone słabe i bardzo słabe, zaklasyfikowane jako kompleks 3z. Występują tam też trwałe użytki zielone kompleksu 2z,

które opisywane są jako średnie. Grunty omawianego obszaru należą głównie do III i IV klasy bonitacyjnej (Mapa glebowo-rolnicza Polski, Geoportal).

3.1.3. Wody powierzchniowe

Obra jest rzeką niziną, położoną w zachodniej Polsce. Jej długość wynosi 240,1 km, a jej zlewnia zajmuje powierzchnię 3438 km². Rzeką ta jest lewostronnym dopływem Warty. Źródło Obry znajduje się w Józefowie Oberskim, a ujście w okolicach Skwierzyny (Styrczeń, 2001). Koryta naturalnych cieków Doliny Środkowej Obry zostały zmeliorowane i zmienione w kanały, a wody zbifurkowane w dwóch kierunkach – zachodnim i wschodnim (Kon-dracki, 2009).

Wielki Łęg Obrzański, który jest główną częścią Doliny Obry, jest jednym z najstarszych obiektów melioracyjnych na terenie kraju. Jego początek sięga XVIII wieku, kiedy to znajdujące się tam łąki bagienne, trzęsawiska i łęgi, zaczęto przekształcać pod działalność człowieka. Wykopano wtedy Kanały Północny i Południowy oraz rozpoczęto proces osuszania terenu (Kryszak i in., 2011; Paluch, 2006).

Obecnie sieć hydrograficzna w dolinie rzeki Obry składa się z wielowymiarowego systemu sieci wodnej tj. połączenia rzek rowami i kanałami oraz z zabudowy hydrotechnicznej. Południowy Kanał Obry, płynie na długości 54 km. Jest on największym odbiorcą wód z obszaru od Kościańskiego Kanału Obry na wschodzie do jeziora Rudno na zachodzie. Północny Kanał Obry mierzy 55,7 km i jest zarazem odbiornikiem wód od Mogilnicy do jeziora Kopanickiego. Środkowy Kanał Obry o długości 44,2 km został wybudowany jako ostatni (Kozaczyk i in., 2015).

3.2. Badania terenowe

3.2.1. Badania fitosocjologiczne

Niniejsze badania przeprowadzono na półnaturalnych łąkach. W latach 2022–2023 wykonano łącznie 76 zdjęć fitosocjologicznych przy użyciu metody Brauna-Blanqueta (Braun-Blanquet, 1964). Pomiarów dokonano w 20 punktach badawczych, reprezentujących obszary o powierzchni 100 m² i jednorodnym składzie gatunkowym (Tabela 1).

3.2.2. Pobieranie próbek glebowych

W maju i wrześniu 2022 i 2023 roku pobrano próbki gleby z wcześniej wyznaczonych punktów badawczych. Próbki gleby do analizy laboratoryjnej pochodziły z wierzchnich warstw

gleby o głębokości 0–20 cm z trzech miejsc w obrębie punktu, aby uwzględnić potencjalną zmienność gleby (ISO 10381-1:2002). Glebę pobrano za pomocą laski Egner’a (Eijkelkamp, Holandia) do plastikowych worków oraz przetransportowano w pudełku chroniącym przed światłem do laboratorium. W trakcie trwania analiz glebę przechowywano w lodówce.

3.3. Badanie studyjne

Zdjęcia fitosocjologiczne zostały wprowadzone do programu TURBOVEG (Hennekens i Schaminée, 2001), specjalnej bazy danych badań fitosocjologicznych, a następnie wyeksportowane do programu JUICE (Tichý i in., 2011) i przeanalizowane. Zebrane wyniki badań zostały sklasyfikowane fitosocjologicznie według Matuszkiewicza (Matuszkiewicz, 2023). Wyróżniono cztery zespoły i jedno zbiorowisko: *Molinietum caeruleae* (12 zdjęć fitosocjologicznych), *Alopecuretum pratensis* (16 zdjęć fitosocjologicznych), *Arrhenatheretum elatioris* (16 zdjęć fitosocjologicznych), *Lolio-Cynosuretum* (16 zdjęć fitosocjologicznych) oraz zbiorowisko (zb.) *Poa pratensis-Festuca rubra* (16 zdjęć fitosocjologicznych). Numery jednostek syntaksonomicznych odpowiadały numerom punktów badawczych (Tabela 2).

Tabela 2. Klasyfikacja fitosocjologiczna wybranych punktów badawczych

Punkt badawczy	Jednostka syntaksonomiczna
1.	<i>Molinietum caeruleae</i>
2.	<i>Molinietum caeruleae</i>
3.	<i>Molinietum caeruleae</i>
4.	<i>Molinietum caeruleae</i>
5.	zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
6.	zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
7.	zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
8.	zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
9.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>
10.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>
11.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>
12.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>
13.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>
14.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>
15.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>
16.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>
17.	<i>Alopecuretum pratensis</i>
18.	<i>Alopecuretum pratensis</i>
19.	<i>Alopecuretum pratensis</i>
20.	<i>Alopecuretum pratensis</i>

Obliczono także następujące wskaźniki: wskaźnik pokrycia (D), bogactwo gatunkowe (SR) oraz wskaźnik Shannona-Wienera (H'). D pozwala na ilościowe określenie średniego udziału poszczególnych gatunków lub grup gatunków w różnych warstwach roślinności. D określono jako sumę średnich wartości procentowych pokrycia wybranego taksonu we wszystkich zdjęciach fitosocjologicznych, w których występuje dany gatunek, pomnożoną przez 100 i podzieloną przez całkowitą liczbę zdjęć (Pawłowski, 1977). SR i H' (Shannon i Weaver, 1949) zostały wykorzystane jako wskaźniki różnorodności florystycznej. SR wyraża liczbę gatunków. Wskaźnik H' został obliczony na poziomie zdjęcia fitosocjologicznego.

3.4. Badania laboratoryjne

3.4.1. Odczyn gleby oraz zawartość materii organicznej, makro- i mikroskładników

W laboratorium próbki gleby zostały wysuszone na powietrzu, rozdrobnione, zhomogenizowane i przesiane przez sito o oczkach o średnicy 2 mm.

Analizy chemiczne obejmowały określenie następujących parametrów:

- zawartości węgla organicznego ($C_{org.}$) i całkowitej zawartości azotu ($N_{og.}$) za pomocą analizatora Vario-Max CNS (Elementar Analysensysteme GmbH, Niemcy). Otrzymane zawartości wyrażano jako ilość gramów węgla/azotu na kilogram suchej masy gleby ($g\ kg^{-1}$ s.m. gleby),
- pH gleby potencjometrycznie w 1 M KCl i w zawiesinie wody destylowanej w stosunku 1:2,5,
- ilość makro- i mikroelementów w formie dostępnej dla roślin określono metodą Sapek i Sapek (Sapek i Sapek, 1997) przy użyciu 0,5 M HCl. Makro- i mikroelementy obejmowały oznaczenie: zawartości fosforu (P) – metodą kolorymetryczną, potasu (K) – metodą fotometrii płomieniowej, magnezu (Mg) i manganu (Mn) – metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS). Otrzymane zawartości wyrażano jako ilość miligramów pierwiastka na kilogram suchej masy gleby ($mg\ kg^{-1}$ s.m. gleby). W badanych glebach nie stwierdzono obecności węglanu wapnia.

3.4.2. Zawartość związków fenolowych w glebie

Związki fenolowe ekstrahowano z wysuszonej gleby zgodnie z metodą Ziółkowskiej i in. 2020 (Ziółkowska i in., 2020b) z pewnymi modyfikacjami. Próbkę gleby zmieszano z wodą destylowaną i 2M NaOH, poddano działaniu ultradźwięków i ogrzewano przez 30 minut

w temperaturze 90°C. Po schłodzeniu próbek zneutralizowano je 6M HCl. Następnie dwukrotnie przeprowadzono ekstrakcję przy użyciu eteru dietylowego i przeniesiono ekstrakt do fiolek. Kolejnym etapem była hydroliza kwasowa w łaźni wodnej w temperaturze 80°C przez 30 minut, gdzie użyto 6M HCl. Następnie próbki ekstrahowano eterem dietylowym (dwukrotnie) i przeniesiono do ekstraktu hydrolizowanego alkalicznie oraz odparowano do sucha. Przed wykonaniem analizy metodą ultrawysokosprawną chromatografię cieczową (UPLC) próbki rozpuszczono w 1 ml metanolu i przefiltrowano.

Do ilościowego oznaczania związków fenolowych wykorzystano wysokosprawną chromatografię cieczową (ACQUITY UPLC H-Class System Waters Corporation, Milford, MA, USA) składającą się z czteroelementowego systemu zarządzania rozpuszczalnikami, degazera online i autosamplera (Gąsecka i in., 2023; Kurasiak-Popowska i in., 2022). Do rozdzielania związków fenolowych użyto kolumny Waters Acquity UPLC BEH C18 (150 × 2,1 mm, 153 1,7 μm) utrzymywanej w temperaturze 35°C. Elucja gradientowa z użyciem wody i acetonitrylu (oba zawierające 0,1% kwasu mrówkowego, pH = 2) przy przepływie 0,4 ml min⁻¹ odbywała się zgodnie z programem gradientowym: 5% B (2 min), 5–16% B (5 min), 16% B (3 min), 16–20% B (7 min), 20–28% B (11 min), 28% (1 min), 28–60% B (3 min) 60–95% B (1 min), 65% B (1 min), 95–5% B (0,1 min) min⁻¹ 5% B (1,9 min). Wstrzyknięcie ekstraktów, przefiltrowanych przez filtr strzykawkowy 0,22 mm, wynosiło 5 μl. Identyfikacja związków opierała się na porównaniu czasów retencji pików z czasami retencji standardów chemicznych. Wykrywanie przeprowadzono za pomocą detektora zewnętrznego w detektorze fotodiodowym Waters (Waters Corporation, Milford, MA, USA) przy następujących długościach fal λ=280 nm (katechina, kwas galusowy, kwasu 4-hydroksybenzoesowego (4-HBA), kwasu syringowego, kwasu cynamonowego, kwasu waniliowego) oraz λ=320 nm (kwasu 2,5-dihydroksybenzoesowego (2,5-DHBA), kwasu kawowego, kwasu chlorogenowego, kwasu *p*-kumarowego, kwasu ferulowego, kwasu sinapowego). Granice wykrywalności (DL) obliczono na podstawie stosunku sygnału do szumu 3:1. Wskaźniki odzysku związków fenolowych były następujące: kwas galusowy – 92 ± 4,4%, kwas waniliowy – 79 ± 8,5%, katechina – 89 ± 5,7%, 4-HBA – 96 ± 3,78%, kwas chlorogenowy – 92 ± 2,8%, kwas kawowy – 86 ± 6,7%, kwas syringowy – 94 ± 3,9%, kwas *p*-kumarowy – 89 ± 3,6%, kwas ferulowy – 91 ± 4,9%, kwas sinapowy – 94 ± 5,1% i kwas cynamonowy – 97 ± 2,9% (Kurasiak-Popowska i in., 2022). Surowe dane zostały pozyskane i przetworzone przy użyciu oprogramowania Empower 3.

3.4.3. Liczebność wybranych mikroorganizmów w glebie

Ocenę liczebności mikroorganizmów glebowych przeprowadzono metodą hodowli płytkowej na odpowiednich pożywkach selektywnych, z pięcioma powtórzeniami dla każdej próbki. Analiza obejmowała kwantyfikację jednostek tworzących kolonie (jtk) dla bakterii heterotroficznych, promieniowców, grzybów i bakterii *Azotobacter* spp. Bakterie heterotroficzne hodowano na przygotowanej wcześniej standardowej pożywce agarowej firmy Merck i inkubowano w temperaturze 28°C przez 5 dni. Populacje grzybów hodowano przy użyciu podłoża Martina (Martin, 1950), stosując 5-dniową inkubację w temperaturze 24°C. Promieniowce hodowano na selektywnym podłożu Pochona (Grabińska-Łoniewska, 1999) i inkubowano w temperaturze 26°C przez 7 dni. Liczebność *Azotobacter* spp. określono przy użyciu pożywki selektywnej zgodnie z opisem Fenglerowej (Fenglerowa, 1970), z 5-dniowym okresem inkubacji w temperaturze 24°C. Zliczenie mikroorganizmów odbywało się w 3 i 5 dniu inkubacji oraz w 7 dniu (w przypadku promieniowców).

3.4.4. Określenie aktywności enzymatycznej

Określono aktywność następujących enzymów: katalazy (CAT), dehydrogenaz (DhA), fosfatazy kwaśnej (AcP), fosfatazy zasadowej (AlP), proteaz (PA) oraz ureazy (UA). Dla ułatwienia identyfikacji enzymom przypisano numery według klasyfikacji Enzyme Commission (EC). Wszystkie oznaczenia wykonano w trzech powtórzeniach.

Aktywność katalazy (EC 1.11.1.6) w próbkach gleby oznaczono metodą miareczkową opisaną przez Johnsona i Temple'a (Johnson i Temple, 1964). Procedura ta polegała na użyciu 0,3% roztworu nadtlenu wodoru (H_2O_2) oraz 1,5 M kwasu siarkowego (H_2SO_4), a następnie miareczkowaniu pozostałego H_2O_2 0,02 M roztworem nadmanganianu potasu ($KMnO_4$). Aktywność katalazy wyrażono jako miligramy H_2O_2 rozłożonego na kilogram suchej masy gleby na minutę ($mg\ H_2O_2\ kg^{-1}\ s.m.\ min^{-1}$).

Aktywność dehydrogenaz (EC 1.1) oznaczono zgodnie z metodą zaproponowaną przez Thalmanna (Thalmann, 1968), wykorzystując substrat – 1% roztwór 2,3,5-chloreku trifenylo-tetrazolowego (TTC). Aktywność DhA wyrażono jako miligramy 1,3,5-trifenyloformazanu (TPF) wytworzonego na kilogram suchej masy gleby w ciągu 24 godzin ($mg\ TPF\ kg^{-1}\ s.m.\ 24\ h^{-1}$).

Aktywność fosfatazy kwaśnej (EC 3.1.3.2) i zasadowej (EC 3.1.3.1) oznaczono według procedury opisanej przez Tabatabaia i Bremnera (Tabatabai i Bremner, 1969), stosując substrat – 0,8% roztwór p-nitrofenylofosforanu sodu. Oznaczenia przeprowadzono w buforach

o pH odpowiednio 5,4 dla AcP i 8,5 dla AlP. Aktywność enzymów (AcP i AlP) wyrażono jako miligramy uwolnionego p-nitrofenolu (PNP) na kilogram suchej masy gleby na godzinę ($\text{mg PNP kg}^{-1} \text{ s.m. h}^{-1}$).

Aktywność proteaz (EC 3.4.4) oznaczono zgodnie z protokołem opracowanym przez Ladda i Butlera (Wyczółkowski i Dabek-Szreniawska, 2005), wykorzystując substrat – kazeinian sodu. Aktywność PA wyrażono jako miligramy uwolnionej tyrozyny na kilogram suchej masy gleby na godzinę ($\text{mg tyrozyny kg}^{-1} \text{ s.m. h}^{-1}$).

Aktywność ureazy (EC 3.5.1.5) określono według metody opisanej przez Hoffmanna i Teichert (Hoffmann i Teichert, 1961), stosując substrat w postaci 2,5% roztworu mocznika. Aktywność enzymu wyrażono jako miligramy azotu amonowego (N-NH_4^+) uwolnionego na kilogram suchej masy gleby na godzinę ($\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ s.m. h}^{-1}$).

3.5. Analizy statystyczne

Publikacja 2: Mencil, J.; Klarzyńska A.; Piernik A.; Mocek-Płóćiniak, A. (2024) Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland, *Soil Science Annual*, 75(2), 190113. <https://doi.org/10.37501/soilsa/190113>

Średnie wartości indeksu różnorodności Shannona-Wienera oraz liczby gatunków (bogactwa gatunkowego) porównano pomiędzy jednostkami roślinności łąkowej za pomocą jednoczynnikowej analizy wariancji (ANOVA I) z porównaniami post hoc Tukeya, ponieważ zarówno indeks różnorodności, jak i bogactwo gatunkowe były rozkładem normalnym (test Shapiro-Wilka, $p > 0,05$).

Związki pomiędzy różnorodnością gatunkową (H' i SR) a całkowitą zawartością azotu, całkowitą zawartością węgla organicznego, $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ oraz pH_{KCl} badano za pomocą korelacji Pearsona. Do tej analizy wykorzystano 40 powierzchni (plots) z kompletnymi danymi dotyczącymi składu gatunkowego i właściwości glebowych.

Średnie wartości właściwości gleby w jednostkach roślinności łąkowej porównano za pomocą nieparametrycznego testu Kruskala-Wallisa z porównaniami post hoc Dunna, ponieważ większość parametrów nie wykazywała rozkładu normalnego (test Shapiro-Wilka, $p < 0,05$). Do obliczeń zastosowano program Past w wersji 3.16b (Hammer i in., 2001).

W celu identyfikacji najważniejszych właściwości gleby różnicujących jednostki syntaksonomiczne roślinności łąkowej zastosowano analizę dyskryminacyjną. Wykorzystano metodę porządkowania – kanoniczną analizę zmiennych (Canonical Variate Analysis, CVA),

jako analizę dyskryminacyjną, koncentrując się na efektach warunkowych, które eliminują wpływ najbardziej skorelowanych zmiennych (Šmilauer i Lepš, 2014). Efekty warunkowe podsumowują cząstkowy wpływ każdego predyktora, przedstawiając zmienność (oraz jej istotność) wyjaśnianą przez dany predyktor po uwzględnieniu wpływu wcześniej wybranych predyktorów (ter Braak i Šmilauer, 2012). Predyktory wybierano w kolejności malejącej wyjaśnianej zmienności, przy zastosowaniu procedury selekcji progresywnej (forward selection). Ich istotność statystyczną oceniano za pomocą testu permutacyjnego Monte Carlo. Do obliczeń zastosowano program Canoco 5.0 (ter Braak i Šmilauer, 2012).

Publikacja 3: Mencil, J.; Gąsecka M.; Molińska-Glura M.; Mocek-Płociniak, A. (2025) Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study, *Soil Science Annual*, 76(2), 205498. <https://doi.org/10.37501/soilsa/205498>

Do analizy statystycznej średnich poziomów badanych parametrów glebowych zastosowano jednoczynnikowy test ANOVA, po wcześniejszym sprawdzeniu zgodności analizowanych zmiennych z rozkładem normalnym we wszystkich podgrupach za pomocą testu Kołmogorowa-Smirnowa. W celu oceny jednorodnych grup zastosowano test post hoc Tukeya (HSD).

Analiza korelacji cech oparta była na teście t-Studenta dla liniowego współczynnika korelacji r-Pearsona. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $\alpha = 0,05$.

Analiza skupień (klasteryzacja) to wielowymiarowa metoda poszukująca wzorców w zbiorze danych poprzez grupowanie obserwacji w klastry (Polowy i Molińska-Glura, 2023). Odległość pomiędzy danymi określa poziom ich podobieństwa – mała odległość wskazuje na wysoki poziom podobieństwa. Jako miarę podobieństwa zastosowano metrykę euklidesową.

Publikacja 4: Mencil, J.; Wojciechowska, A.; Mocek-Płociniak, A. (2025) Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley, *Agronomy*, 15, 1573. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071573>

W celu określenia zależności pomiędzy występowaniem roślin naczyniowych a badanymi parametrami glebowymi obliczono współczynnik korelacji Pearsona oraz określono jego istotność statystyczną. Zastosowano program PAST w wersji 3.20 (Hammer i in., 2001).

Zależności pomiędzy zestawami zmiennych (liczebność drobnoustrojów, aktywność enzymatyczną i biochemiczne parametry gleby) w różnych sezonach badań dla analizowanych zbiorowisk roślinnych oceniono za pomocą bezpośredniej metody porządkowania. Wybrano analizę redundancji (Redundancy Discriminant Analysis, RDA), którą we wszystkich wariantach przeprowadzono przy użyciu programu Canoco 5.0 (ter Braak i Šmilauer, 2012). Podczas analiz zastosowano test permutacyjny Monte Carlo oraz procedurę selekcji progresywnej (forward selection), co pozwoliło na identyfikację zmiennych istotnych dla zróżnicowania badanych zbiorowisk.

Dla wszystkich analizowanych parametrów przeprowadzono analizę wariancji (ANOVA), w celu wskazania istotnych różnic między nimi w obrębie badanych zbiorowisk. Test ANOVA oraz test post hoc Tukeya wykonano przy użyciu programu Statistica 9.0 (StatSoft, Inc., 2009).

4. Omówienie wyników badań

4.1. Wpływ użytkowania łąk na mikrobiotę glebową i aktywność enzymatyczną

Przegląd literatury opublikowany przez Mencil, J.; Mocek-Płócinia, A.; Kryszak, A. (2022) Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review, *Agronomy*, 12, 1136. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051136>

Współczesne badania wykazują, że sposób gospodarowania trwałymi użytkami zielonymi ma istotny wpływ na strukturę i funkcjonowanie mikroorganizmów glebowych, a także na aktywność enzymatyczną gleby. Mikrobiota glebowa odgrywa kluczową rolę w cyklach biogeochemicznych, rozkładzie materii organicznej, a także w kształtowaniu struktury i żyzności gleby. Aktywność enzymatyczna gleby, będąca wskaźnikiem metabolizmu mikroorganizmów, odzwierciedla aktualne warunki siedliskowe oraz sposób zarządzania użytkami zielonymi. Przegląd literatury naukowej wskazuje, że różne praktyki, takie jak intensywny wypas, umiarkowany wypas, koszenie czy użytkowanie kośno-pastwiskowe, w różny sposób oddziałują na bioróżnorodność i aktywność enzymatyczną gleb użytków zielonych. Odpowiednio dobrane praktyki mogą wspierać równowagę biologiczną i poprawiać zdrowotność gleby, podczas gdy niewłaściwe zarządzanie prowadzi do jej degradacji.

Mikroorganizmy glebowe a intensywność i sposób użytkowania łąk

Intensywny wypas prowadzi do znacznego obniżenia liczebności bakterii i grzybów, zwłaszcza w górnych warstwach gleby. Nadmierne udeptywanie gleby, spadek zawartości materii organicznej, zagęszczenie profilu glebowego oraz redukcja porowatości ograniczają cyrkulację powietrza i wody, co w efekcie skutkuje pogorszeniem warunków dla życia mikroorganizmów. Szczególnie wrażliwe okazują się drobnoustroje tlenowe oraz grzyby, uczestniczące w rozkładzie materii organicznej. Równocześnie spada aktywność enzymatyczna, co osłabia zdolność gleby do przekształcania związków odżywczych. Odmienna sytuacja występuje w systemach o umiarkowanym poziomie użytkowania. W warunkach umiarkowanego wypasu lub koszenia zachowana zostaje struktura gleby i jej właściwości sorpcyjne, co sprzyja rozwojowi zróżnicowanej mikrobioty glebowej. W warunkach zrównoważonego użytkowania trwałych użytków zielonych obserwuje się przewagę bakterii – w głównej mierze przedstawicieli typu *Actinobacteria* – oraz znaczący udział grzybów, w tym form mykoryzowych. Szczególnie istotna jest obecność grzybów mykoryzy arbuskularnej (AMF), których obecność i rozwój

korelują ze zwiększoną aktywnością systemów korzeniowych roślin, przyczyniając się do efektywniejszego wykorzystania zasobów glebowych i stabilizacji ekosystemu.

Aktywność enzymatyczna gleby a intensywność i sposób użytkowania łąk

Aktywność enzymatyczna gleby stanowi wrażliwy wskaźnik stanu biologicznego środowiska glebowego i wykazuje silną zależność od sposobu użytkowania trwałych użytków zielonych. W systemach opartych na umiarkowanym i rotacyjnym wypasie obserwuje się wyraźny wzrost aktywności kluczowych enzymów, takich jak: ureaza, dehydrogenazy oraz fosfatazy kwaśne i zasadowe. Spośród nich szczególną dynamiką wyróżnia się ureaza, enzym odpowiedzialny za hydrolizę mocznika i związany z przemianami azotu, której intensywność wzrasta w odpowiedzi na obecność odchodów zwierzęcych. Dehydrogenazy odzwierciedlające poziom aktywności metabolicznej mikroorganizmów tlenowych oraz fosfatazy uczestniczące w mineralizacji związków fosforu, również wykazują wzmożoną aktywność w warunkach kontrolowanego wypasu.

Koszenie jako forma mniej inwazyjnego użytkowania łąk, także wpływa korzystnie na aktywność enzymatyczną gleby, choć efekty te nie są tak intensywne, jak w przypadku wypasu. Regularne, umiarkowane koszenie sprzyja zachowaniu równowagi biologicznej i stabilności właściwości fizykochemicznych gleby, co umożliwia utrzymanie umiarkowanego poziomu aktywności enzymów. W porównaniu do systemów wypasowych, koszenie nie prowadzi do silnej stymulacji ureazy, jednak minimalizuje ryzyko zaburzeń struktury gleby oraz długofalowej redukcji aktywności biologicznej. Największy potencjał dla utrzymania wysokiej aktywności enzymatycznej przypisuje się jednak systemom kośno-pastwiskowym, które łączą zalety regularnej ingerencji roślinnej z okresową stymulacją mikrobiologiczną gleby.

4.2. Jednostki syntaksonomiczne użytków zielonych w powiązaniu z właściwościami fizykochemicznymi gleb

Artykuł naukowy opublikowany przez Mencil, J.; Klarzyńska A.; Piernik A.; Mocek-Płóciński, A. (2024) Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland, *Soil Science Annual*, 75(2), 190113. <https://doi.org/10.37501/soilsa/190113>

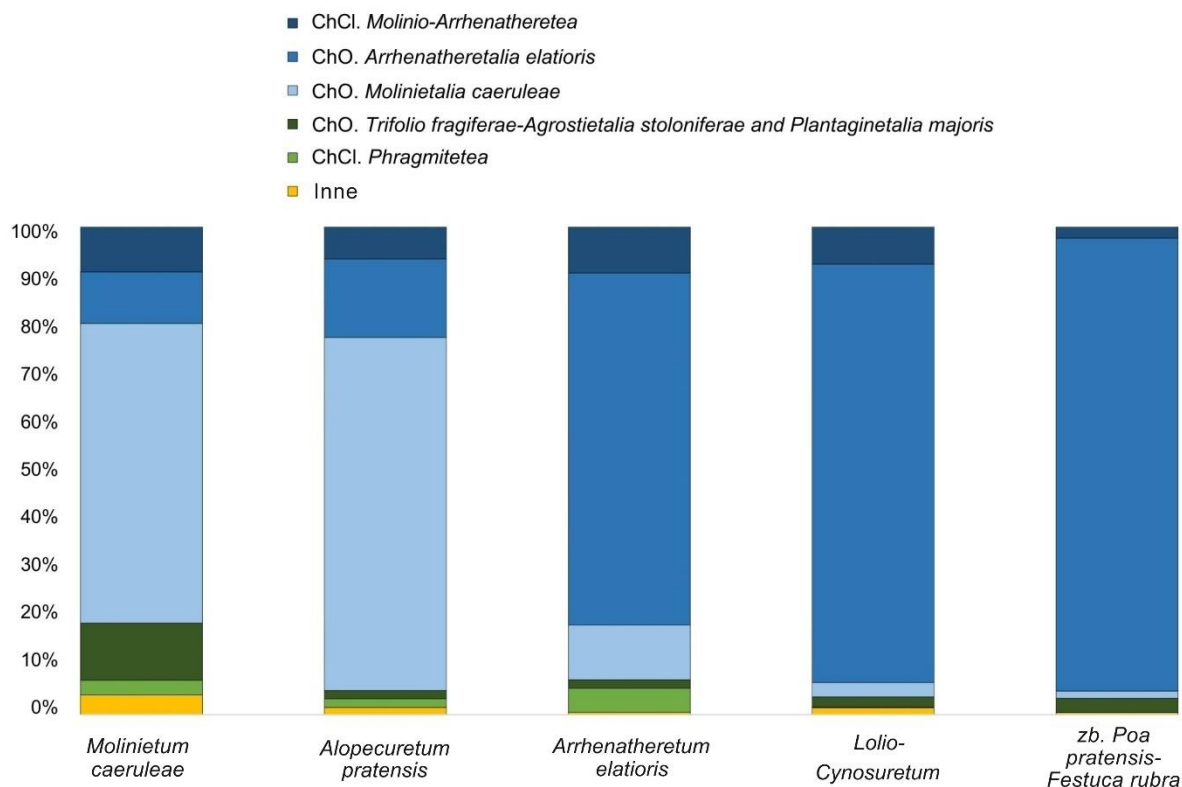
Charakterystyka jednostek syntaksonomicznych wybranych użytków zielonych

W wyniku przeprowadzonej analizy fitosocjologicznej wyodrębniono pięć syntaksonów: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* i zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra*. Każda z tych jednostek reprezentowała odmienny typ roślinności łąkowej, różniący się zarówno składem florystycznym, jak i poziomem różnorodności biologicznej (Tabela 3, Załącznik 1). Badane użytki zielone użytkowano jako łąki kośne o zróżnicowanej intensywności. *Molinietum caeruleae* koszone raz w roku, *Arrhenatheretum elatioris* oraz zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* – dwa razy w roku, natomiast *Alopecuretum pratensis* i *Lolio-Cynosuretum* koszone 2–3 razy w roku.

Tabela 3. Wskaźniki bioróżnorodności wybranych zbiorowisk roślinności łąkowej. Statystycznie istotne różnice w wartościach wskaźników bioróżnorodności pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami ($p \leq 0,05$; ANOVA I z testem post hoc Tukeya). Różnice w wartości wskaźnika D nie były oceniane

Jednostka syntaksonomiczna	SR	SR w zdjęciu fitosocjologicznym (zakres i średnia)		H'	D
<i>Molinietum caeruleae</i>	57	17-29	23 ^c	2,38 ^b	6088
<i>Alopecuretum pratensis</i>	44	10-22	17 ^b	1,75 ^{ac}	6933
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	54	14-24	19 ^b	2,03 ^{bc}	5930
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	36	8-16	12 ^a	1,49 ^a	5193
zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>	50	12-24	19 ^b	2,18 ^b	5813

Zespół *Molinietum caeruleae* wykazał się najwyższą różnorodnością gatunkową wśród analizowanych zbiorowisk. W zdjęciach fitosocjologicznych odnotowano łącznie 57 gatunków roślin naczyniowych, a wskaźnik różnorodności biologicznej H' wyniósł 2,38, co świadczy o wysokim stopniu zróżnicowania florystycznego (Tabela 3). Zbiorowisko to odznaczało się dobrą kondycją ekologiczną, co potwierdzał wysoki udział gatunków charakterystycznych dla rzędu *Molinietalia caeruleae* oraz niższych jednostek syntaksonomicznych (Rycina 2). W strukturze florystycznej dominowały: *Molinia caerulea*, *Festuca pratensis*, *Potentilla anserina* oraz *Ranunculus repens*. Obecność tych gatunków wskazuje na umiarkowanie wilgotne warunki siedliskowe oraz brak intensyfikacji użytkowania (Załącznik 1).



Rycina 2. Struktura grup socjologicznych (siedliskowych) analizowanych jednostek syntaksonomicznych roślinności. ChCl – gatunki charakterystyczne dla klasy, ChO – gatunki charakterystyczne dla rzędu, Inne – gatunki z innych syntaksonów występujące w bardzo małej liczbie

Zespół *Alopecuretum pratensis* reprezentowany był przez 44 gatunki, a wskaźnik różnorodności H' osiągnął wartość 1,75 (Tabela 3). Podobnie jak w przypadku *Molinietum caeruleae*, stan ekologiczny zbiorowiska oceniono jako dobry. Największy udział pokrycia stwierdzono dla gatunków: *Alopecurus pratensis*, *Poa pratensis*, *Holcus lanatus* oraz *Poa palustris* (Załącznik 1). Na podstawie składu florystycznego można stwierdzić, iż było to siedlisko świeże do wilgotnego, o umiarkowanym stopniu użytkowania.

Zbiorowisko *Arrhenatheretum elatioris*, typowe dla łąk świeżych i półnaturalnych, liczyło 54 gatunki, a wskaźnik różnorodności wynosił $H' = 2,03$ (Tabela 3). Struktura gatunkowa wskazuje na znaczny udział typowych gatunków dla rzędu *Arrhenatheretalia elatioris*, takich jak *Arrhenatherum elatius*, *Poa pratensis*, *Galium mollugo*, *Trifolium pratense* i *Alopecurus pratensis* (Załącznik 1). Obecność tych gatunków świadczy o średnim poziomie trofii i wilgotności siedliska.

Zespół *Lolio-Cynosuretum*, typowy dla intensywnie użytkowanych łąk i pastwisk, cechował się najniższym poziomem różnorodności biologicznej spośród analizowanych zbiorowisk.

Łącznie zidentyfikowano 36 gatunków, a wskaźnik H' osiągnął wartość 1,49 (Tabela 3). Dominację florystyczną stanowiły gatunki synantropijne i odporne na intensyfikację użytkowania, takie jak *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, *Taraxacum officinale* i *Trifolium repens* (Załącznik 1). Skład gatunkowy sugeruje, iż siedlisko to zostało silnie przekształcone przez człowieka, intensywnie użytkowane i cechowało się wysokim poziomem żyzności.

W przypadku zbiorowiska *Poa pratensis*-*Festuca rubra* zaobserwowano 50 gatunków oraz stosunkowo wysoki wskaźnik Shannona-Wienera ($H' = 2,18$) (Tabela 3). Dominującymi składnikami flory były: *Poa pratensis*, *Poa palustris*, *Trifolium repens*, *Plantago lanceolata* oraz *Festuca rubra* (Załącznik 1). Na podstawie składu florystycznego stwierdzono, że zbiorowisko to miało charakter przejściowy między łąkami półnaturalnymi a użytkowanymi intensywnie, które rozwijało się na siedliskach umiarkowanie żyznych i okresowo wilgotnych.

Charakterystyka gleb wybranych użytków zielonych

Gleby pod *Molinietum caeruleae* zaklasyfikowano jako typ murszowate. Ich poziomy wierzchnie stanowiły epipedony *arenimurszik*, które w podtypie murszastych zawierały poniżej 6% $C_{org.}$, a w podtypie murszowatych typowych od 6 do 12% $C_{org.}$. Powstały one z całkowicie zmurszałych utworów torfiastych bądź torfowych, zalegających na utworach mineralnych o charakterze piasków fluwioglacjalnych lub aluwialnych. Takie warunki sprzyjały rozwojowi roślinności wilgotnych łąk ekstensywnych o wysokiej różnorodności biologicznej.

Gleby *Alopecuretum pratensis* zaliczały się do typu gleb murszowych, podtypu gleby murszowe płytkie, których poziomy wierzchnie stanowiły organiczne poziomy *murszik*, nieprzekraczające miąższości 50 cm. Podścielone one były materiałami mineralnymi o uziarnieniu utworów pyłowych zwykłych i piasków luźnych, wykazujących właściwości gruntowo-glejowe. W niektórych stanowiskach notowano również gleby podtypu murszowatych typowych, z epipedonami *arenimurszik*, wskazujące na bardziej zaawansowany proces murszenia i wyraźne przekształcenie pierwotnego torfu.

Zespoły *Arrhenatheretum elatioris* i *Lolio-Cynosuretum* występowały przede wszystkim na glebach typu murszowatych, reprezentowanych przez podtypy murszowatych typowych oraz murszastych, analogicznie jak w przypadku wyżej opisanych zespołów. Jednak w tych lokalizacjach odnotowano również większe zróżnicowanie siedliskowe, związane z obecnością gleb typu gruntowo-glejowych, podtypu murszowych. Gleby te tworzą się w lokalnych obniżeniach terenu, sprzyjających okresowemu stagnowaniu wody. Ich epipedony należały do poziomów *murszik* o miąższości mniejszej niż 30 cm, a poniżej zalegały oglejone utwory mineralne, często o wyraźnych właściwościach gruntowo-glejowych.

Zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* rozwijało się głównie na glebach typu murszowatych, podobnych pod względem genezy do tych, które występowały pod *Molinietum caeruleae*. Dodatkowo stwierdzono obecność gleb typu murszowych, podtypu murszowych płytkich, których poziomy wierzchnie wykazywały właściwości utworów organicznych – zawartość C_{org} przekraczała 12% - co klasyfikuje je jako gleby o diagnozowanych epipedonach *murszik*. Materiał mineralny zalegający pod poziomami organicznymi charakteryzował się teksturą piaszczystą oraz pochodzeniem fluwioglacjalnym lub aluwialnym, często wykazującym cechy oglejenia.

Chemiczne właściwości analizowanych gleb

Gleby występujące pod *Molinietum caeruleae* charakteryzowały się lekko kwaśnym odczynem (pH H_2O : średnio 6,44) oraz umiarkowaną zawartością materii organicznej (C_{org} : 61,6 g kg^{-1} s.m. gleby) (Tabela 4). Stosunek C:N (średnio 12,3) wskazywał na zrównoważone tempo mineralizacji materii organicznej, typowe dla łąk półnaturalnych o umiarkowanej produktywności. Zawartość azotu ogólnego wynosiła średnio 5,06 g kg^{-1} s.m. gleby, potwierdzając tym samym umiarkowany poziom dostępności składników mineralnych w glebie. Badane gleby wykazywały najniższe (spośród wszystkich analizowanych jednostek syntaksonomicznych) zawartości pierwiastków odżywczych, takich jak fosfor, potas, magnez i mangan. Niska zasobność w makro- i mikroskładniki pokarmowe sugeruje ograniczoną mineralizację oraz ekstenzywne, mało intensywne użytkowanie siedliskowe, które sprzyja zachowaniu wysokiej różnorodności florystycznej.

Alopecuretum pratensis rozwijało się na glebach o najwyższej zawartości materii organicznej i azotu ogólnego (C_{org} : 169 g kg^{-1} s.m. gleby, N_{og} : 13,9 g kg^{-1} s.m. gleby), co świadczy o nagromadzeniu substancji organicznej, mogącej wynikać zarówno z intensywnego nawożenia, jak i z okresowo stagnujących warunków wodnych (Tabela 4). Odczyn gleb był lekko kwaśny (pH H_2O 6,26), natomiast poziom dostępnego fosforu osiągał bardzo wysokie wartości (średnio 365 mg kg^{-1} s.m. gleby), znacznie przewyższające inne jednostki. Zawartość potasu (114 mg kg^{-1} s.m. gleby), magnezu (560 mg kg^{-1} s.m. gleby) i manganu (176 mg kg^{-1} s.m. gleby) wyróżniały się również na tle pozostałych analizowanych gleb. Wysoka zasobność makroskładników pokarmowych jednoznacznie wskazywała na żyzne i produktywne siedlisko, które sprzyja szybkiemu wzrostowi biomasy oraz intensywnemu rozwojowi zbiorowisk łąkowych.

Tabela 4. Właściwości chemiczne gleb. Statystycznie istotne różnice w parametrach glebowych pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami ($p \leq 0,05$; test Kruskala-Wallisa z porównaniami post hoc Dunna)

Jednostka	<i>Mol cae</i>	<i>Alo pra</i>	<i>Arr ela</i>	<i>Lol-Cyn</i>	<i>Poa-Fes</i>
Punkt badawczy	1–4	17–20	9–12	13–16	5–8
	min–max	min–max	min–max	min–max	min–max
	średnia	średnia	średnia	średnia	średnia
pH H ₂ O	5,97–6,66	5,97–6,55	7,45–7,91	6,13–7,43	6,20–6,89
	6,44 ^a	6,26 ^a	7,69 ^b	6,59 ^a	6,64 ^{ab}
pH KCl	5,31–6,25	5,71–6,26	7,07–7,49	5,63–7,17	5,96–6,61
	6,00 ^a	5,98 ^a	7,27 ^b	6,12 ^a	6,33 ^{ab}
g kg ⁻¹ s.m. gleby					
C _{org.}	37,5–81,6	72,0–256	29,5–168	43,1–147	34,1–315
	61,6 ^a	169 ^a	82,9 ^a	96,5 ^a	127 ^a
N _{og.}	3,07–7,46	6,35–21,0	2,61–13,8	4,25–12,3	3,20–25,4
	5,06 ^a	13,9 ^a	7,14 ^a	8,39 ^a	11,0 ^a
C:N	10,9–14,1	11,2–14,4	10,1–14,5	10,2–12,2	9,56–12,4
	12,3 ^a	12,1 ^a	11,5 ^a	11,4 ^a	11,1 ^a
mg kg ⁻¹ s.m. gleby					
K	31,5–38,8	84,6–180	43,8–163	48,0–81,9	40,3–71,6
	35,3 ^a	114 ^b	84,5 ^{ab}	62,6 ^{ab}	55,9 ^a
Mg	201–336	360–657	190–1463	272–625	219–831
	270 ^a	560 ^a	637 ^a	373 ^a	410 ^a
Mn	37,1–69,3	117–233	56,5–315	68,1–195	121–470
	46,1 ^a	176 ^b	221 ^b	115 ^{ab}	271 ^b
P	16,8–69,1	283–490	123–803	101–591	150–466
	43,4 ^a	365 ^b	275 ^b	455 ^b	317 ^b

Gleby pod *Arrhenatheretum elatioris* wyróżniały się zasadowym odczynem (pH H₂O: 7,69), co stanowiło cechę odróżniającą tę jednostkę od pozostałych (Tabela 4). Zawartości węgla organicznego (82,9 g kg⁻¹ s.m. gleby) i azotu (7,14 g kg⁻¹ s.m. gleby) były umiarkowane, a stosunek C:N (11,5) sugerował efektywną mineralizację i dostępność składników pokarmowych. Zasadowość gleby oraz wysoka zawartość fosforu (średnio 275 mg kg⁻¹ s.m. gleby) wskazują na gleby bogate geochemicznie, często występujące w dolinach rzecznych lub

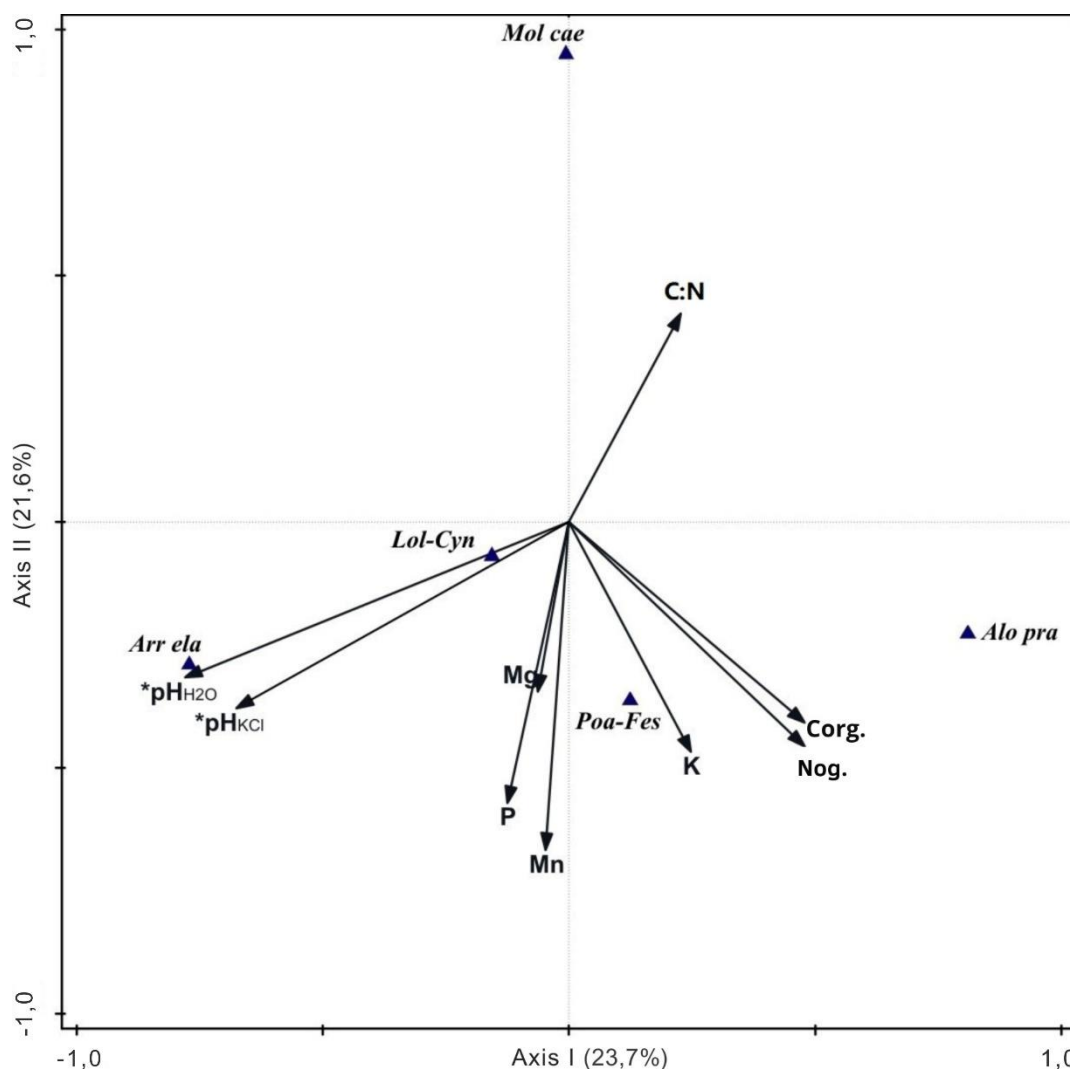
w strefach aluwialnych. W tym zbiorowisku zaobserwowano także największe zróżnicowanie zawartości magnezu (190–1463 mg kg⁻¹ s.m. gleby) i manganu (56,5–315 mg kg⁻¹ s.m. gleby), świadczące o wysokim potencjale żyzności oraz znacznym zróżnicowaniu właściwości glebowych. Powyższe warunki sprzyjają dominacji kilku silnych, konkurencyjnych gatunków roślin.

Zespół *Lolio-Cynosuretum* związany był z glebami o odczynie lekko kwaśnym do obojętnego (średnie pH H₂O: 6,59), umiarkowaną zawartością materii organicznej (C_{org.}: 96,5 g kg⁻¹ s.m. gleby) oraz wyjątkowo wysokim poziomem dostępnego fosforu (średnio 455 mg kg⁻¹ s.m. gleby) (Tabela 4). Zawartość azotu ogólnego wynosiła średnio 8,39 g kg⁻¹ s.m. gleby, wskazując na dobrą zasobność w ten pierwiastek, typową dla intensywnie użytkowanych siedlisk łąkowych. Takie wartości jednoznacznie wskazują, iż gleby te były poddane intensywnemu użytkowaniu oraz prawdopodobnie nawożeniu mineralnemu lub organicznemu. W zakresie zasobności w potas (62,6 mg kg⁻¹ s.m. gleby), magnez (373 mg kg⁻¹ s.m. gleby) i mangan (115 mg kg⁻¹ s.m. gleby), zbiorowisko to prezentowało średnie ich wartości, przy czym stosunkowo niskie poziomy potasu mogły wynikać z jego intensywnego wymywania. Skład chemiczny gleby jednoznacznie wskazuje na przekształcone siedlisko łąkowe, w którym dominującą rolę odgrywa cykl fosforowy i azotowy, typowy dla agroekosystemów.

Zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* występowało na glebach o średnim pH (pH H₂O: 6,64) oraz wysokiej zawartości materii organicznej, przy czym obserwowano znaczny zakres wartości C_{org.} (34,1–315 g kg⁻¹ s.m. gleby, średnio 127 g kg⁻¹ s.m. gleby). Mogło to świadczyć o mozaikowym charakterze siedliska (Tabela 4). Zawartość N_{og.} była również stosunkowo wysoka – średnio 11,0 g kg⁻¹ s.m. gleby, potwierdzając dobrą zasobność w azot – typową dla łąk użytkowanych umiarkowanie intensywnie. Stosunek C:N (średnio 11,1) wskazuje na stabilne tempo mineralizacji i dostępność związków azotowych dla roślin. Poziom fosforu był wysoki (średnio 317 mg kg⁻¹ s.m. gleby), a zawartość potasu (55,9 mg kg⁻¹ s.m. gleby) i magnezu (410 mg kg⁻¹ s.m. gleby) pozostawała na poziomie umiarkowanym, sugerując zróżnicowane warunki siedliskowe, zbliżone do zbiorowisk przejściowych między łąkami półnaturalnymi, a intensywnie użytkowanymi. Zbiorowisko to wykazywało najwyższą średnią zawartość manganu spośród wszystkich analizowanych jednostek (średnio 271 mg kg⁻¹ s.m. gleby), wynikające z procesów glejowych, typowych dla siedlisk o wysokim uwilgotnieniu oraz okresowym oglejeniu. Skład chemiczny gleby wskazuje na siedlisko żyzne, dobrze zaopatrzone w składniki pokarmowe – prawdopodobnie nawożone, lecz wciąż zachowujące cechy półnaturalności i potencjał różnorodności biologicznej.

Znaczenie właściwości chemicznych gleby w różnicowaniu zbiorowisk roślinnych i ich związek z różnorodnością biologiczną

Najwyższe wartości pH odnotowano w glebach pod *Arrhenatheretum elatioris*, najniższe natomiast w glebach spod *Alopecuretum pratensis* (Rycina 3).



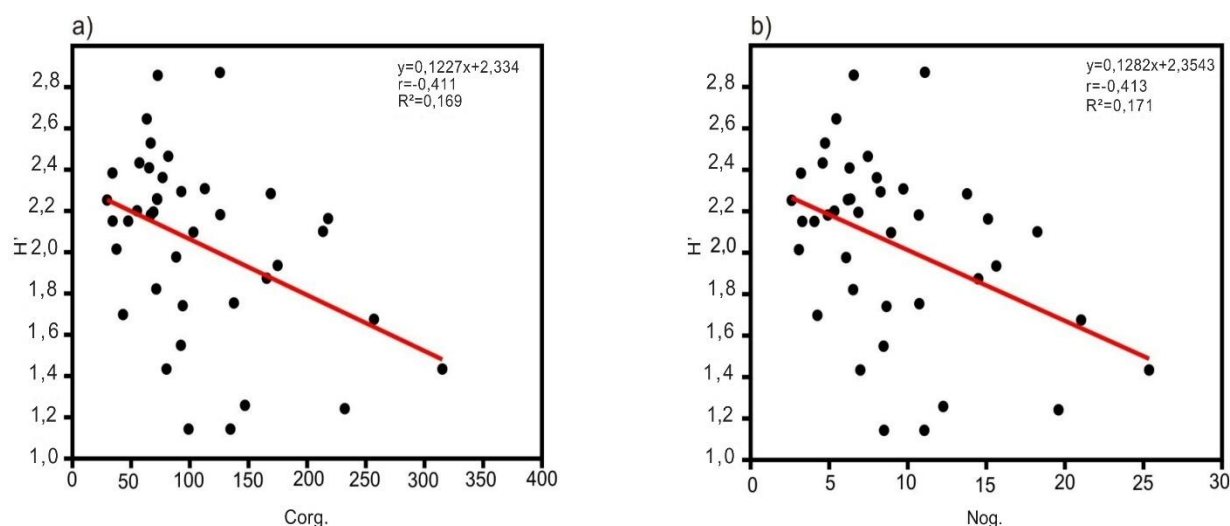
Rycina 3. Analiza dyskryminacyjna (CVA) parametrów glebowych i jednostek roślinności łąkowej. Istotne statystycznie czynniki w modelu oznaczono gwiazdkami * ($p \leq 0,05$)

Analiza dyskryminacyjna wykazała, że odczyn gleby (pH w H₂O i KCl) był najistotniejszym czynnikiem różnicującym zbiorowiska roślinności łąkowej, wyjaśniając odpowiednio 19% i 12,4% zmienności między jednostkami syntaksonomicznymi. Inne zmienne nie miały natomiast istotnego wpływu (Tabela 5).

Tabela 5. Analiza dyskryminacyjna (CVA) parametrów glebowych i jednostek syntaksonomicznych roślinności (n=4). Statystycznie istotne czynniki oznaczono pogrubieniem ($p \leq 0,05$). Efekty warunkowe wykluczają wpływ najbardziej skorelowanych zmiennych.

Zmienna	% wyjaśnionej wariancji	pseudo-F	p
pH_{H2O}	19	4,2	0,002
pH_{KCl}	12,4	3,1	0,028
K	9,2	2,5	0,058
Mn	7,6	2,2	0,096
C:N	6,4	2	0,136
P	6,2	2	0,126
C _{org.}	3,6	1,2	0,348
N _{og.}	2	0,7	0,572
Mg	1,2	0,4	0,794

Analiza korelacji wykazała, że wskaźnik różnorodności biologicznej (H') był istotnie ujemnie skorelowany z zawartością C_{org.} i N_{og.} ($r = -0,41$; $p = 0,008$). Zmienność H' wyjaśniona przez te czynniki wyniosła 17% (Rycina 4).



Rycina 4. Wyniki analizy korelacji pomiędzy indeksem różnorodności gatunkowej a) całkowitą zawartością węgla organicznego oraz b) całkowitą zawartością azotu. Równania regresji przedstawiono na wykresach, r – współczynnik korelacji Pearsona ($p < 0,05$), R^2 – współczynnik determinacji

Nie stwierdzono natomiast zależności między pH a poziomem różnorodności, co sugeruje, że wpływ odczynu dotyczył głównie różnicowania składu zbiorowisk a nie samej bioróżnorodności.

4.3. Wpływ związków fenolowych na liczebność mikroorganizmów w ekosystemach użytków zielonych

Artykuł naukowy opublikowany przez Mencil, J.; Gąsecka M.; Molińska-Glura M.; Mocek-Płociniak, A. (2025) Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study, *Soil Science Annual*, 76(2), 205498. <https://doi.org/10.37501/soilsa/205498>

Liczebność mikroorganizmów i zawartość związków fenolowych w glebie

Gleby spod *Molinietum caeruleae* charakteryzowały się najniższą ogólną liczebnością mikroorganizmów spośród wszystkich analizowanych siedlisk (Tabela 6). Liczebność bakterii heterotroficznych i promieniowców była najniższa. Natomiast liczebność grzybów kształtowała się na relatywnie wysokim poziomie w porównaniu z badanymi grupami mikroorganizmów.

Tabela 6. Charakterystyka chemicznych i mikrobiologicznych właściwości gleby (średnia $\pm$ SD). Statystycznie istotne różnice w badanych parametrach pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami (n = 4)

Zmienna	<i>Mol cae</i>	<i>Alo pra</i>	<i>Arr ela</i>	<i>Lol-Cyn</i>	<i>Poa-Fes</i>
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 kg ⁻¹ s.m. gleby					
Bakterie heterotroficzne	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 kg ⁻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 s.m. gleby					
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	BDL	BDL	7,72 $\pm$ 10,15	BDL	5,69 $\pm$ 0,24
4-HBA	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

Zmienna	<i>Mol cae</i>	<i>Alo pra</i>	<i>Arr ela</i>	<i>Lol-Cyn</i>	<i>Poa-Fes</i>
Kwas cynamonowy	0,18±0,37	0,46±0,91	1,13±1,33	1,23±1,55	0,73±0,24
Kwas ferulowy	BDL	0,44±0,35	BDL	0,12±0,25	0,39±0,24
Kwas galusowy	1,64±1,30	9,11±9,17	1,27±1,16	2,14±1,40	2,48±1,24
Kwas <i>p</i> -kumarowy	1,07±0,52	2,21±0,90	1,37±0,73	0,65±1,30	1,29±0,24
Kwas sinapowy	BDL	0,14±0,28	0,32±0,42	0,50±0,39	0,77±0,24
Kwas syringowy	0,20±0,41	71,57±142,01	0,84±0,60	0,24±0,49	1,51±0,24
Kwas waniliowy	0,49±0,65 ^a	4,81±2,44 ^{ab}	3,15±1,65 ^a	3,34±1,10 ^a	12,87±0,24 ^b
Katechina	3,66±4,59 ^a	15,25±5,77 ^b	5,86±3,94 ^a	5,56±2,57 ^a	1,43±4,24 ^a

Zawartość badanych związków fenolowych była wyraźnie ograniczona (Tabela 6). W glebach *Molinietum caeruleae* występowała przede wszystkim katechina, której stężenie wynosiło 3,66 µg g⁻¹ s.m. gleby, natomiast inne związki, takie jak kwas ferulowy, sinapinowy i 2,5-dihydroksybenzoesowy (2,5-DHBA), były poniżej granicy wykrywalności. Kwas cynamonowy osiągnął najniższy wykrywalny poziom spośród analizowanych związków fenolowych, wynoszący 0,18 µg g⁻¹ s.m. gleby. Stwierdzona niska zawartość fenoli znalazła odzwierciedlenie w ubogim i mało zróżnicowanym profilu fenolowym badanego materiału glebowego.

W przeciwieństwie do tego, gleby spod *Alopecuretum pratensis* wykazywały największą aktywność biologiczną (Tabela 6). Zarówno liczebność bakterii heterotroficznych (ponad 162 × 10⁵ jtk g kg⁻¹ s.m. gleby), jak i grzybów pleśniowych (45 × 10³ jtk g kg⁻¹ s.m. gleby) osiągnęła najwyższe wartości spośród wszystkich zbiorowisk. Tę intensywną aktywność mikroorganizmów można wiązać z bogatym składem związków fenolowych, z dominującą rolą katechiny (15,25 µg g⁻¹ s.m. gleby) i wyjątkowo wysoką zawartością kwasu syringowego (aż 71,57 µg g⁻¹ s.m. gleby), niespotykaną w żadnym innym zbiorowisku. Obecność kwasów galusowego, wanilinowego, *p*-kumarowego i kawowego świadczyły o złożoności chemicznej środowiska, sprzyjającego różnorodności mikroorganizmów oraz intensywnemu rozkładowi substancji organicznych.

Gleby spod *Arrhenatheretum elatioris* reprezentowały średnią aktywność mikroorganizmów (Tabela 6). Liczebność bakterii heterotroficznych wynosiła około 72 × 10⁵ jtk g kg⁻¹ s.m. gleby, a promieniowców 56 × 10⁵ jtk g kg⁻¹ s.m. gleby. Z kolei liczebność grzybów była umiarkowana w porównaniu z pozostałymi jednostkami syntaksonomicznymi. Gleba w tym siedlisku

zawierała największe stężenie kwasu 2,5-dihydroksybenzoesowego ($7,72 \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. gleby), który nie został wykryty w większości pozostałych zbiorowisk. Choć poziom katechiny był znacznie niższy niż w glebach *Alopecuretum pratensis*, to nadal osiągał on względnie wysoką wartość $5,86 \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. gleby. Obecność kwasu cynamonowego i kawowego, a także wanilinowego, wskazywały na umiarkowaną aktywność związków fenolowych, mogących wpływać na strukturę mikrobioty glebowej.

Z kolei gleby pod *Lolio-Cynosuretum* wyróżniały się najwyższą liczebnością promieniowców, osiągającą wartość 84×10^5 jtk g kg^{-1} s.m. gleby. Świadczy to o sprzyjających warunkach dla rozwoju tej grupy mikroorganizmów, być może w wyniku obecności katechiny ($5,56 \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. gleby) i innych fenoli (Tabela 6). Pozostałe grupy mikroorganizmów – bakterie heterotroficzne i grzyby – występowały tu w mniejszej liczebności, a fenolowy profil gleby był dość zróżnicowany, choć mniej bogaty niż w przypadku wcześniejszego *Alopecuretum pratensis*. Wykryto tu m.in. kwasy wanilinowy, galusowy, kawowy i *p*-kumarowy. Brak 2,5-DHBA i niskie stężenie kwasu ferulowego mogły świadczyć o umiarkowanej aktywności chemicznej.

Gleby zbiorowiska *Poa pratensis-Festuca rubra*, choć cechowały się stosunkowo niską liczebnością grzybów ($24,87 \times 10^3$ jtk g kg^{-1} s.m. gleby), wyróżniały się największą zawartością kwasu wanilinowego w przeprowadzonym badaniu – $12,87 \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. gleby (Tabela 6). Obecne były również inne związki, jak 2,5-DHBA ($5,69 \mu\text{g g}^{-1}$ s.m. gleby), kwas galusowy, katechina oraz *p*-kumarowy, choć w mniejszych stężeniach niż w przypadku *Alopecuretum pratensis*. Liczba bakterii heterotroficznych i promieniowców była umiarkowana. Taka kombinacja chemiczna mogła selektywnie wpływać na skład mikrobioty, szczególnie obniżając liczebność grzybów oraz modulować procesy mineralizacji i humifikacji zachodzące w glebie.

Zależności między liczebnością mikroorganizmów a zawartością związków fenolowych

W badaniu zaobserwowano istotne statystycznie korelacje między liczebnością mikroorganizmów glebowych a zawartością wybranych związków fenolowych, co podkreśla ich znaczącą rolę w kształtowaniu aktywności biologicznej gleby. W szczególności bakterie heterotroficzne wykazywały dodatnią korelację z trzema fenolami: kwasem *p*-kumarowym, ferulowym oraz katechiną (Tabela 7). Oznacza to, że wraz ze wzrostem stężenia tych związków rosła również liczebność tej grupy mikroorganizmów, wskazując na ich zdolność do wykorzystania wymienionych fenoli jako źródła węgla i energii.

Tabela 7. Wartości współczynników korelacji r-Pearsona. Uwzględniono wyłącznie statystycznie istotne współczynniki korelacji (n = 20)

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

¹bakterie heterotroficzne; ²promieniowce; ³grzyby; ⁴kwaskawowy; ⁵kwask *p*-kumarowy; ⁶kwask chlorogenowy; ⁷kwask ferulowy; ⁸kwask sinapowy; ⁹kwask galusowy; ¹⁰kwasku waniliowego; ¹¹catechina; ¹²kwask cynamonowy

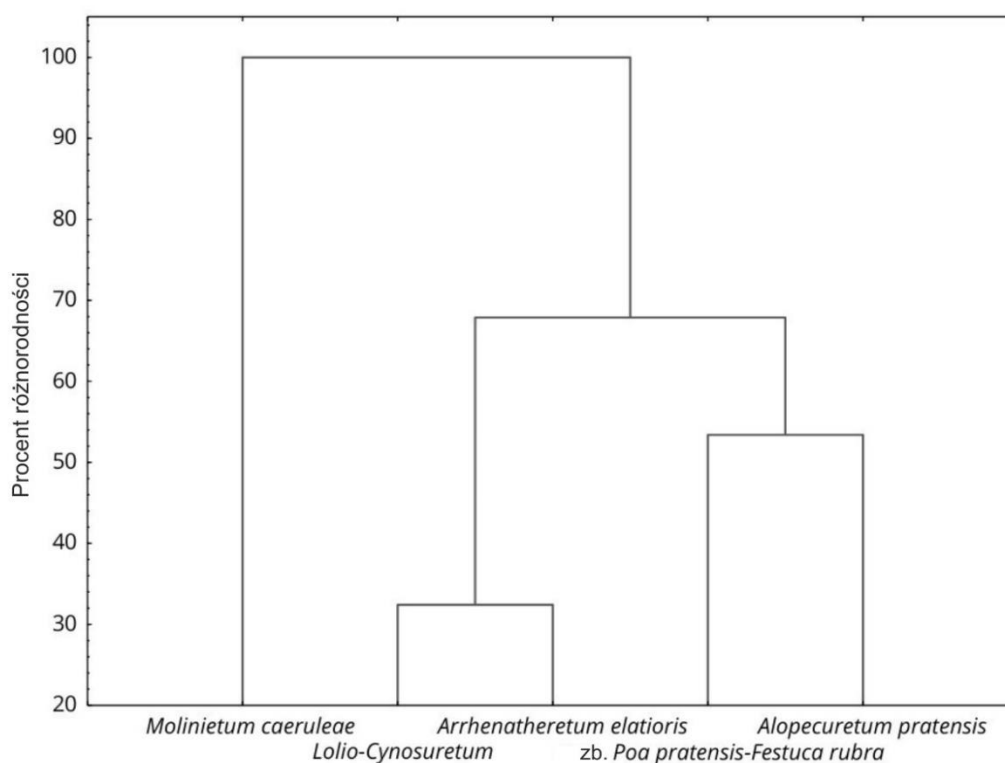
Katechina, poza dodatnim wpływem na bakterie heterotroficzne, była również dodatnio skorelowana z liczebnością grzybów (Tabela 7). Grzyby reagowały też pozytywnie na obecność kwasu galusowego, co sugeruje, że niektóre fenole mogą wspierać rozwój grzybów saprotroficznych lub symbiotycznych. Promieniowce, znane ze swojej zdolności do rozkładu złożonych związków organicznych, wykazały z kolei istotne korelacje z kwasem kawowym oraz cynamonowym. Obecność tych związków mogła sprzyjać rozwojowi promieniowców, pełniących ważną rolę w mineralizacji substancji organicznych w glebie. Powiązania te wskazują, iż różne grupy fenoli działają selektywnie na określone grupy mikroorganizmów, wpływając tym samym zarówno na strukturę, jak i aktywność całej mikrobioty glebowej.

Równie interesujące okazały się korelacje chemicznych właściwości gleby, a więc zawartości węgla organicznego i azotu ogólnego, z niektórymi związkami fenolowymi (Tabela 7). Zarówno węgiel, jak i azot były dodatnio skorelowane z zawartością kwasu ferulowego i cynamonowego. Im większa była zawartość materii organicznej w glebie, tym więcej w niej

występowało wspomnianych fenoli. Może to wynikać z faktu, iż związki te są produktami rozkładu ligniny i innych składników roślinnych, które gromadzą się w glebach o wysokim poziomie substancji organicznej. Wskazuje to zatem na bezpośredni związek pomiędzy jakością i ilością materii organicznej a fenolowym profilem gleby.

Zróznicowanie jednostek roślinnych na podstawie zawartości związków fenolowych w glebie

Analiza skupień potwierdziła, że zawartość związków fenolowych w glebie zależy od typu zbiorowiska roślinnego. *Molinietum caeruleae* zostało dzięki tej analizie wyraźnie oddzielone od pozostałych jednostek (Rycina 5).



Rycina 5. Analiza skupień dla analizowanych jednostek syntaksonomicznych

Oznacza to, że gleby w tym zbiorowisku charakteryzują się unikalnym profilem związków fenolowych, ubogim, z niską zawartością większości fenoli, z których jedynie katechina występowała w zauważalnym stężeniu. Ta odmienność może być wynikiem specyficznych warunków siedliskowych (np. większego uwilgotnienia, niższego pH) lub składu florystycznego wpływającego na mniejszą produkcję fenoli. Z kolei *Arrhenatheretum elatioris* i *Lolio-Cynosuretum* utworzyły wspólną grupę, co wskazuje na ich podobieństwo w składzie fenoli. W obu przypadkach wykryto m.in. umiarkowane ilości katechiny, kwasu kawowego,

wanilinowego i galusowego. Gleby spod tych zbiorowisk są chemicznie zróżnicowane, ale na tyle podobne, aby zostać zaklasyfikowane do jednej grupy. Zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* oraz *Alopecuretum pratensis* utworzyły odrębne, indywidualne klastry. Pomimo tego, że oba te zbiorowiska miały wysoką zawartość związków fenolowych, to różniły się między sobą profilem dominujących związków. W *Alopecuretum pratensis* najwyższą zawartość osiągały katechina i kwas syringowy, natomiast w *Poa pratensis-Festuca rubra* dominował kwas wanilinowy i obecny był również 2,5-DHBA. Otrzymane rezultaty różnicują te zbiorowiska pod względem chemicznym i sugerują o odmiennych procesach humifikacji oraz wpływu roślinności na skład fenolowy gleby.

4.4. Wpływ jednostek roślinności łąkowej na biochemiczne właściwości gleby oraz liczebność wybranych mikroorganizmów

Artykuł naukowy opublikowany przez Mencil, J.; Wojciechowska, A.; Mocek-Płociniak, A. (2025) Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley, *Agronomy*, 15, 1573. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071573>

Charakterystyka wybranych użytków zielonych z uwzględnieniem sezonowości

We wszystkich analizowanych zbiorowiskach liczba gatunków była wyższa jesienią aniżeli wiosną. Wartości wskaźnika H' były również wyższe w okresie jesiennym, co sugeruje, że panujące warunki w tym czasie sprzyjały większej różnorodności gatunkowej. Może to wynikać z wydłużonego sezonu wegetacyjnego lub łatwiejszej identyfikacji roślin w fazie generatywnej (Tabela 8).

Tabela 8. Bioróżnorodność wybranych jednostek roślinności użytków zielonych

Jednostka syntaks.	SR	SR w zdjęciu fitosocjologicznym W (zakres i średnia)	SR w zdjęciu fitosocjologicznym J (zakres i średnia)	H' W	H' J	
<i>Molinietum caeruleae</i>	57	17-20	19	22-29	26	2,25 2,45
<i>Alopecuretum pratensis</i>	44	10-22	16	12-22	17	1,72 1,79
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	54	16-20	18	14-24	19	2,00 2,06
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	36	8-12	11	9-16	13	1,49 1,48
zb. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>	50	12-22	19	15-24	19	2,17 2,19

Molinietum caeruleae cechowało się największą liczbą gatunków oraz najwyższym wskaźnikiem różnorodności (H') – zarówno wiosną ($H' = 2,25$), jak i jesienią ($H' = 2,45$). Liczba gatunków w poszczególnych zdjęciach fitosocjologicznych wynosiła w okresie wiosennym 17–20 i 22–29.

Alopecuretum pratensis to zespół o umiarkowanej liczbie gatunków (od 10 wiosną i 12 jesienią do 22 w obu terminach badań). Wskaźnik H' był niższy niż w *Molinietum caeruleae* i wynosił 1,72 (wiosna) i 1,79 (jesień).

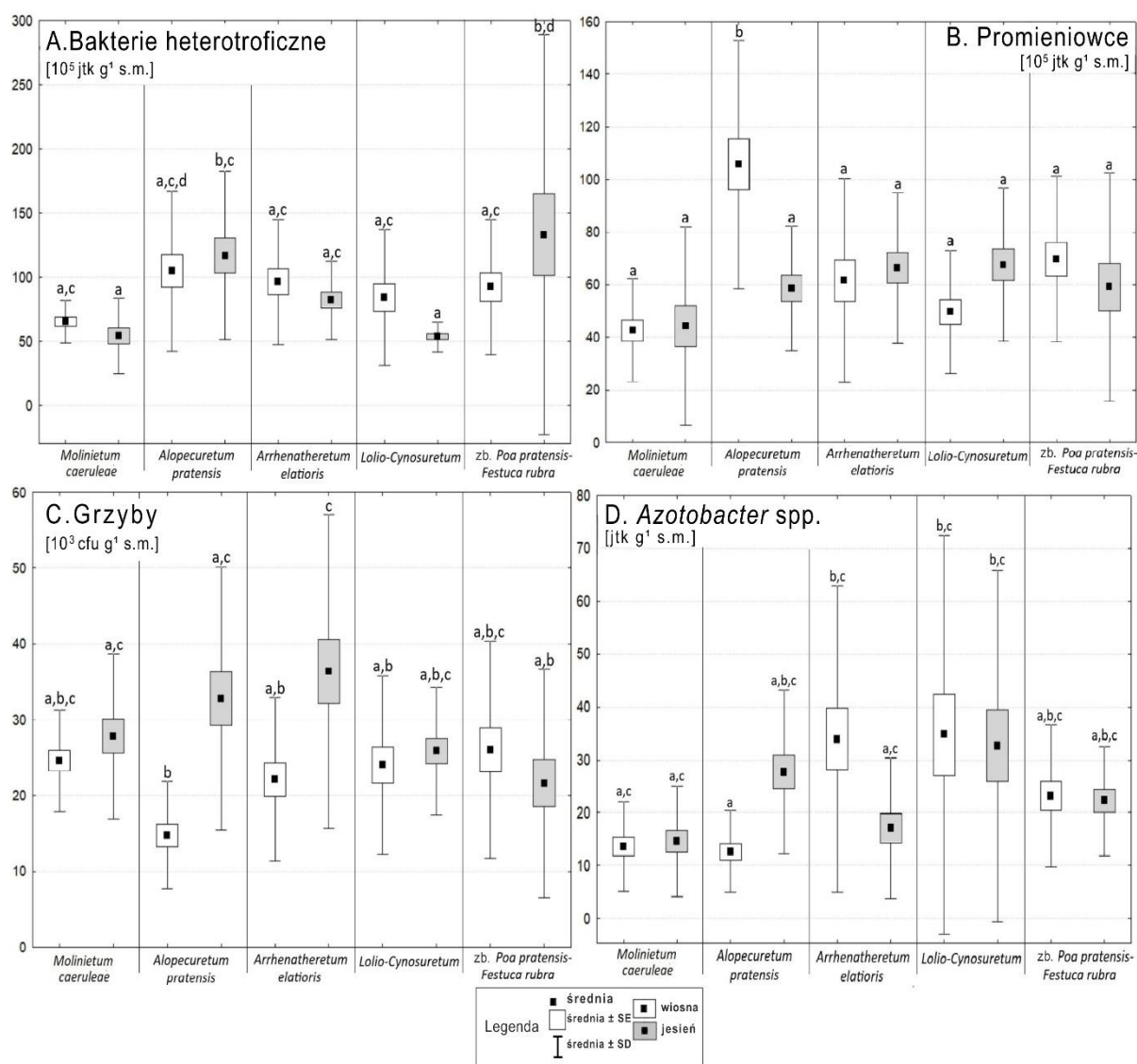
Arrhenatheretum elatioris charakteryzowało się stosunkowo wysoką liczbą gatunków wiosną 16–20, a jesienią 14–24, natomiast wskaźnik H' wyniósł 2,00 (wiosna) i 2,06 (jesień), co świadczyło o umiarkowanie dużej różnorodności florystycznej.

Lolio-Cynosuretum okazało się być zespołem o najmniejszym bogactwie gatunkowym, z liczbą gatunków w granicach 8–12 wiosną, a jesienią 9–16. Wskaźnik H' był również najniższy: 1,49 (wiosna) i 1,48 (jesień).

Zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* prezentowało średni poziom różnorodności florystycznej, z liczbą gatunków od 12 do 22 wiosną i od 15 do 24 jesienią. Indeks H' wyniósł 2,17 (wiosna) i 2,19 (jesień).

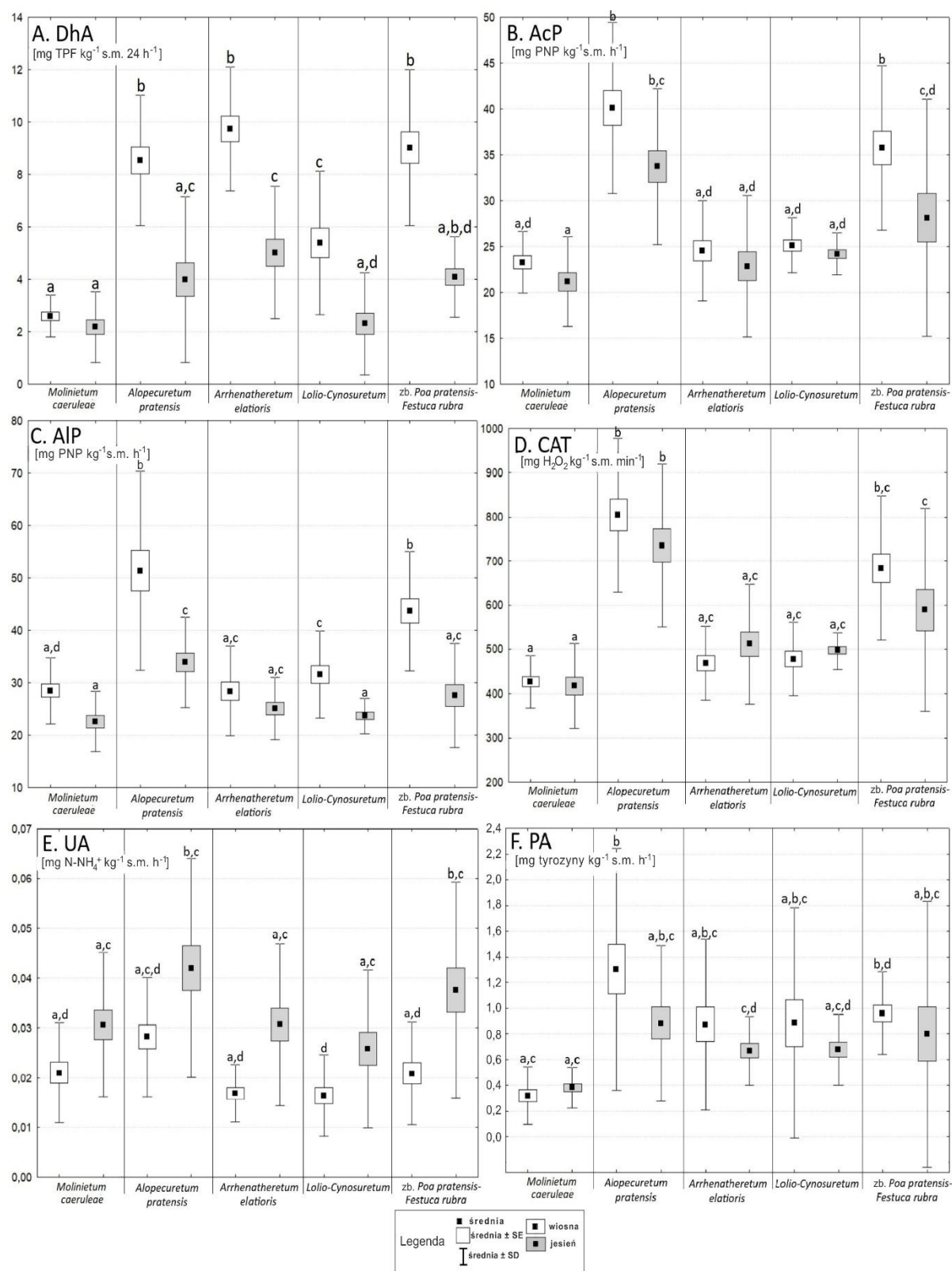
Liczebności wybranych grup mikroorganizmów glebowych oraz aktywność enzymatyczna gleb

Gleby pod *Molinietum caeruleae* charakteryzowały się najniższą liczebnością mikroorganizmów w trzech analizowanych grupach, zwłaszcza bakterii heterotroficznych, co utrzymywało się zarówno wiosną, jak i jesienią (Rycina 6).



Rycina 6. Liczebność drobnoustrojów w glebach (średnia ± SD i SE). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (ANOVA, $p < 0,05$, test Tukeya jako post hoc)

Pomimo tego, w analizowanych siedliskach odnotowano stosunkowo wysoką liczebność grzybów, co odróżniało je od pozostałych badanych zbiorowisk (Rycina 6). Aktywność enzymatyczna w tych glebach była również najniższa spośród wszystkich badanych jednostek roślinnych, co wskazuje na niską żyzność i aktywność biologiczną tych gleb, charakterystyczną dla siedlisk ekstensywnych i przyrodniczo cennych (Rycina 7).



Rycina 7. Aktywność enzymatyczna gleb (średnia ± SD i SE). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (ANOVA, $p < 0,05$, test Tukeya jako post hoc)

W przypadku *Alopecuretum pratensis*, gleby wykazywały najwyższą liczebność bakterii heterotroficznych i promieniowców (*Actinobacteria*) w okresie wiosennym (Rycina 6). Zbiorowisko to cechowało się również największą aktywnością enzymatyczną, szczególnie AcP i ALP, CAT oraz PA, zarówno wiosną, jak i jesienią (Rycina 7). Wysoka aktywność enzymów wynikała ze sporej zawartości materii organicznej i składników pokarmowych, co podkreśla produkcyjny charakter tego typu użytków zielonych.

Arrhenatheretum elatioris to zbiorowisko, w którym wiosną zaobserwowano najwyższą aktywność DhA, wskazującą na intensywny metabolizm mikroorganizmów glebowych w tym okresie (Rycina 7). Jesienią natomiast wyróżniała się wysoka liczebność grzybów (Rycina 6). W pozostałych parametrach gleby tego zbiorowiska wykazywały wartości pośrednie.

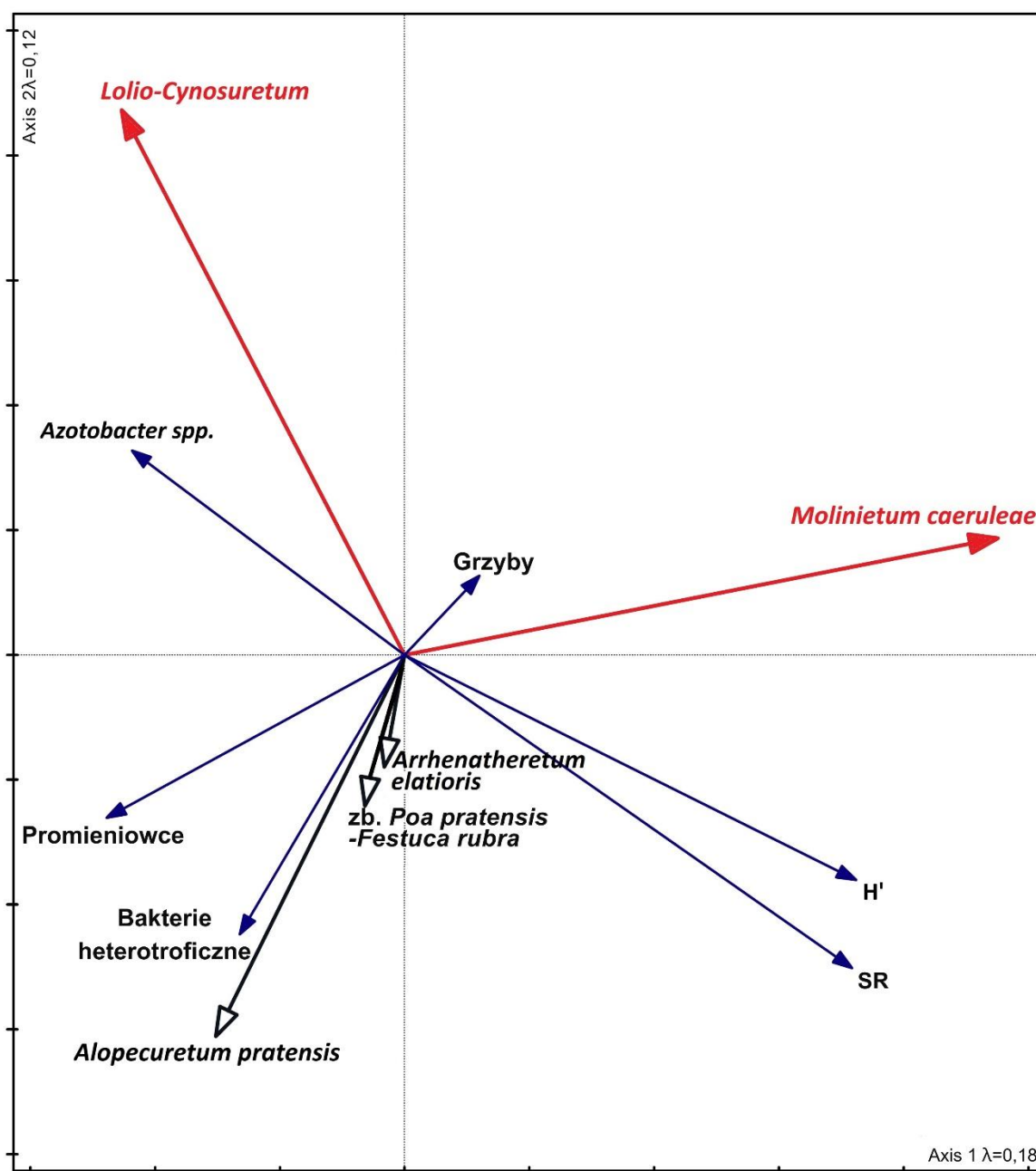
W glebach pod *Lolio-Cynosuretum* zaobserwowano najwyższą liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* spp. w obu sezonach (Rycina 6). Są to bakterie wolno żyjące, zdolne do wiązania azotu atmosferycznego, których obecność często wiąże się z glebami o wyższych wartościach pH, co zostało potwierdzone również w tej pracy. Ponadto, jesienią gleby tego zbiorowiska odznaczały się relatywnie sporą liczebnością promieniowców. Aktywność enzymatyczna była na umiarkowanym poziomie, ale UA wykazywała nieco wyższą aktywność jesienią, podobnie jak w pozostałych zbiorowiskach (Rycina 7).

Ostatnie analizowane zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra* wyróżniało się najwyższą liczebnością bakterii heterotroficznych w sezonie jesiennym oraz znaczną liczebnością grzybów w okresie wiosennym (Rycina 6). Zbiorowisko to cechowało się również stosunkowo wysoką aktywnością enzymatyczną, choć nieco niższą niż w *Alopecuretum pratensis* (Rycina 7).

Zależności między bioróżnorodnością, właściwościami gleby a porami roku

Gleby pod *Molinietum caeruleae* wyróżniały się największą różnorodnością gatunkową roślin oraz relatywnie wysoką liczebnością grzybów (Rycina 8).

Te dwa czynniki silnie różnicowały *Molinietum* względem pozostałych jednostek roślinnych. Choć nie odnotowano istotnych statystycznie korelacji między indeksem H' a mikroorganizmami czy enzymami, to wyraźne były ogólne tendencje wskazujące na naturalność i stabilność biologiczną tego siedliska.



Rycina 8. RDA przedstawia zróżnicowanie jednostek roślinnych ze względu na różnorodność roślin oraz liczebność wybranych drobnoustrojów glebowych. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zbiorowiska istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 17,7% zmienności, a oś druga – 12,2%

W *Alopecuretum pratensis* aktywność enzymów AcP i CAT wykazała istotne negatywne korelacje z różnorodnością roślin (H') (Tabela 9).

Tabela 9. Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy indeksem różnorodności danego zbiorowiska roślinnego H' a aktywnością enzymatyczną gleby. Poziomy istotności oznaczono następująco: *p < 0,05, **p < 0,01, ns (brak istotności) p > 0,05

Jednostka syntaksonomiczna	DhA	AcP	AIP	CAT	UA	PA
<i>Molinietum caeruleae</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>Alopecuretum pratensis</i>	ns	-0,33*	ns	-0,33**	ns	ns
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	ns	ns	ns	ns	-0,65**	ns
zb. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	ns	-0,63**	-0,51*	-0,62**	ns	ns

Analizowane gleby spod *Alopecuretum pratensis* były bogate w materię organiczną i składniki pokarmowe, co sprzyjało dużej liczebności mikroorganizmów i aktywności enzymów, ale mogło też ograniczać różnorodność florystyczną poprzez promowanie dominujących gatunków roślin. Powyższe rezultaty sugerują, że w siedliskach o dużej żyzności gleby, aktywność mikrobiologiczna rośnie, ale kosztem różnorodności botanicznej.

W glebach pod *Arrhenatheretum elatioris* zaobserwowano istotną, negatywną korelację pomiędzy wskaźnikiem H' a liczebnością bakterii heterotroficznych. Oznacza to, że im większa była różnorodność roślin, tym niższa była liczebność tych bakterii (Tabela 10).

Tabela 10. Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy indeksem różnorodności danego zbiorowiska roślinnego H' a liczebnością drobnoustrojów glebowych. Poziomy istotności oznaczono następująco: *p < 0,05, **p < 0,01, ns (brak istotności) p > 0,05

Jednostka syntaksonomiczna	Bakterie heterotroficzne	Promieniowce	Grzyby	<i>Azotobacter</i> spp.
<i>Molinietum caeruleae</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Alopecuretum pratensis</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	-0,53*	ns	ns	ns
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	ns	ns	ns	ns
zb. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	ns	ns	-0,63 **	ns

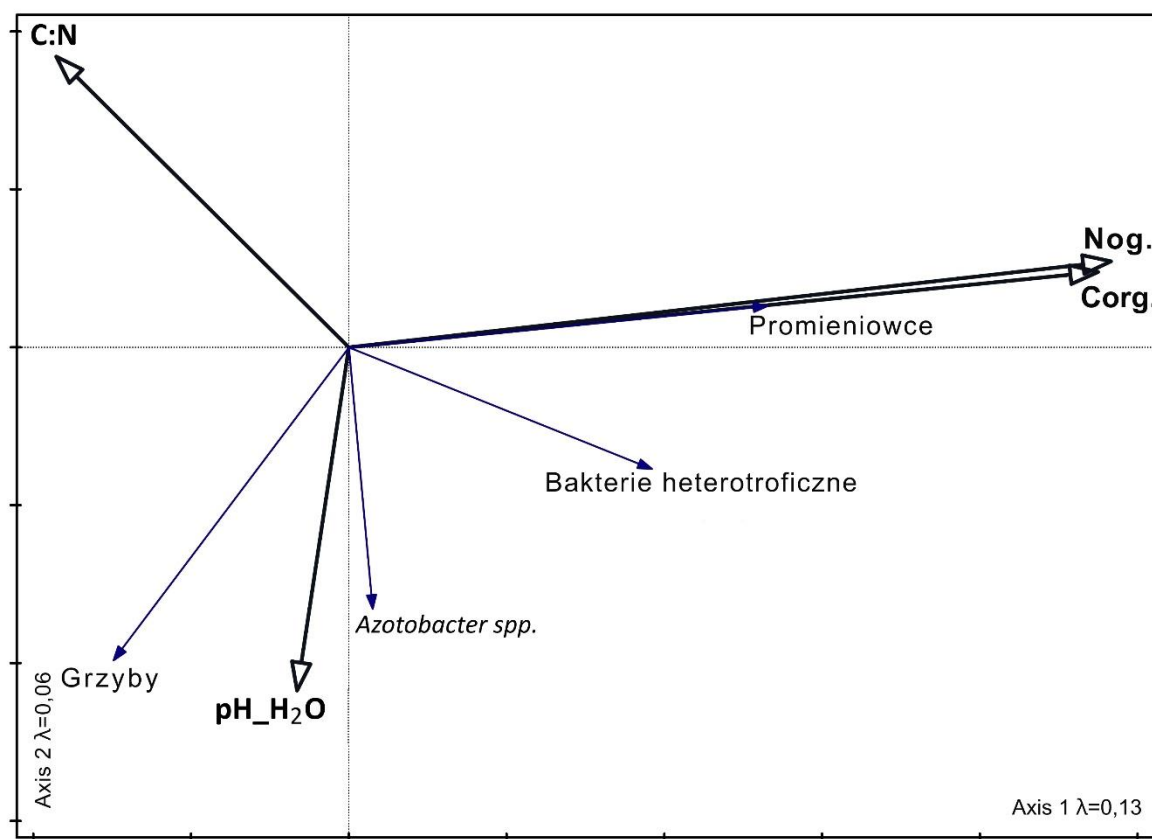
Może to wynikać z bardziej złożonego i konkurencyjnego środowiska glebowego w siedliskach bogatszych florystycznie. Pozostałe zależności w tym zbiorowisku nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej, ale zaobserwowano umiarkowane wartości aktywności enzymów i obecności mikroorganizmów.

W *Lolio-Cynosuretum* stwierdzono największą liczebność bakterii z rodzaju *Azotobacter* spp. w obu sezonach. Bakterie te preferują gleby o obojętnym lub lekko zasadowym pH, co potwierdza ich wysokie wartości właśnie w tym siedlisku. Gleby te były zatem mikrobiologicznie aktywne, mimo że samo zbiorowisko charakteryzowało się najniższą florystyczną różnorodnością. Dodatkowo, aktywność UA wykazywała ujemną korelację z indeksem H', co sugeruje, że większa roślinna różnorodność niekoniecznie wiąże się z większą aktywnością niektórych enzymów w tym siedlisku (Tabela 9).

W zbiorowisku *Poa pratensis-Festuca rubra* zauważono również negatywną korelację między różnorodnością roślin (H') a liczebnością grzybów (Tabela 10). Wskazuje to jednoznacznie, że w siedliskach o większej florystycznej złożoności grzyby ustępują innym grupom mikroorganizmów lub są mniej konkurencyjne w środowisku o większym zróżnicowaniu zasobów. Ponadto dla tego zbiorowiska aktywność trzech enzymów (AcP, AIP i CAT) była również ujemnie skorelowana z indeksem H'. Otrzymane rezultaty badań sugerują, że w bardziej zróżnicowanych siedliskach biologiczna aktywność enzymatyczna może być tłumiona przez większą złożoność środowiska (Tabela 9).

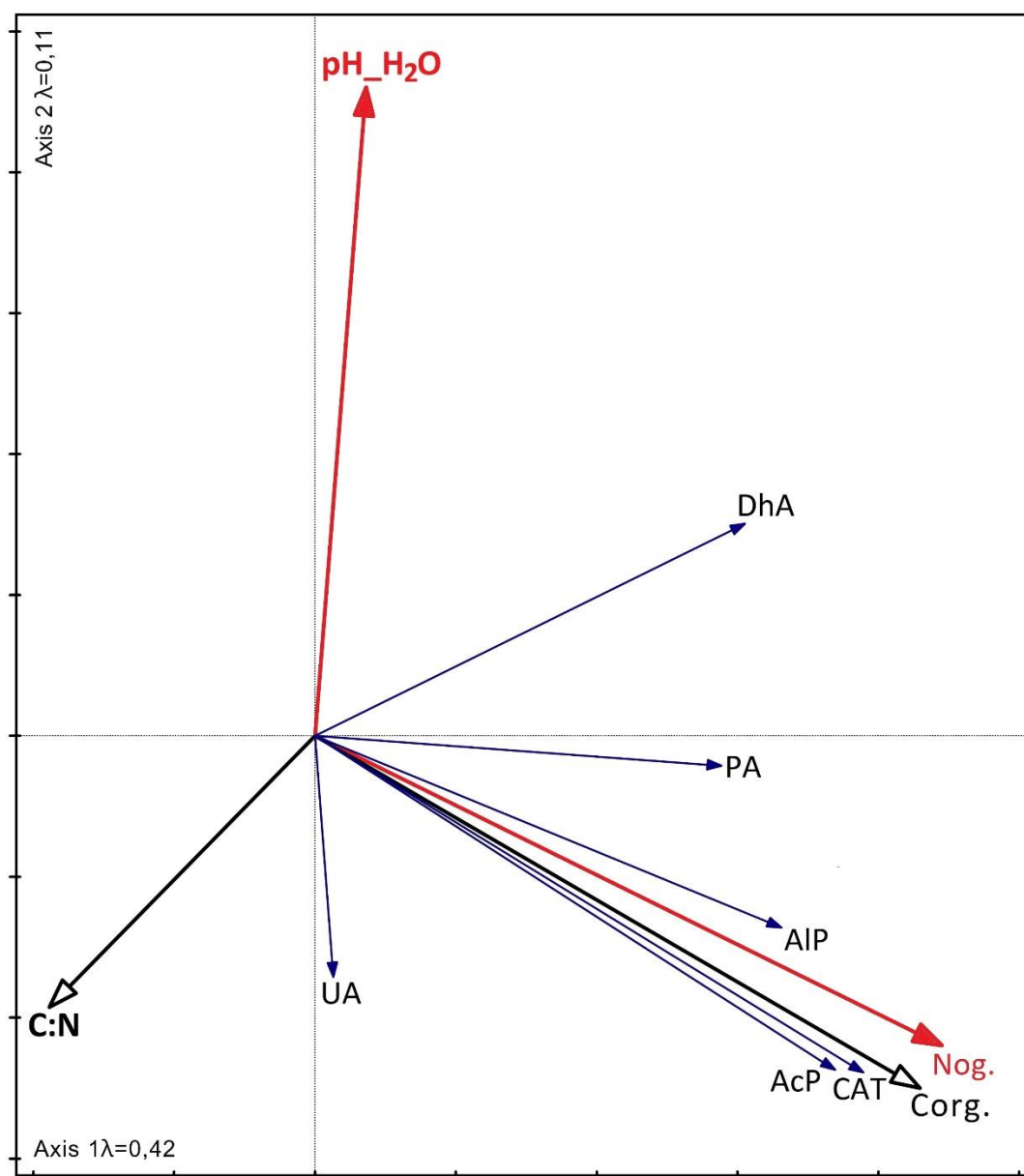
Ogólne zależności między liczebnością mikroorganizmów i aktywnością enzymatyczną a właściwościami chemicznymi gleb

Promieniowce wykazywały wyraźną preferencję do gleb bogatych w azot i węgiel organiczny, co potwierdza ich wrażliwość na poziom żyzności i zasobności siedliska. Wysoka liczebność tej grupy mikroorganizmów może wskazywać, że dostępność kluczowych składników pokarmowych, zwłaszcza azotu i związków węgla, stanowi istotny czynnik determinujący ich rozwój. Odmienny wzorzec zaobserwowano w przypadku *Azotobacter* spp. oraz grzybów, które osiągały większą liczebność w glebach o podwyższonym odczynie. Może to świadczyć o ich zdolności do lepszego funkcjonowania w środowisku mniej kwaśnym i bardziej sprzyjającym procesom biochemicznym (Rycina 9).



Rycina 9. RDA wskazuje na zależność pomiędzy liczebnością drobnoustrojów glebowych a badanymi parametrami gleby. Żadna z analizowanych zmiennych glebowych nie jest istotna dla zróżnicowania danych (test permutacyjny Monte Carlo, $p > 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 13,4% zmienności, a oś druga – 5,9%.

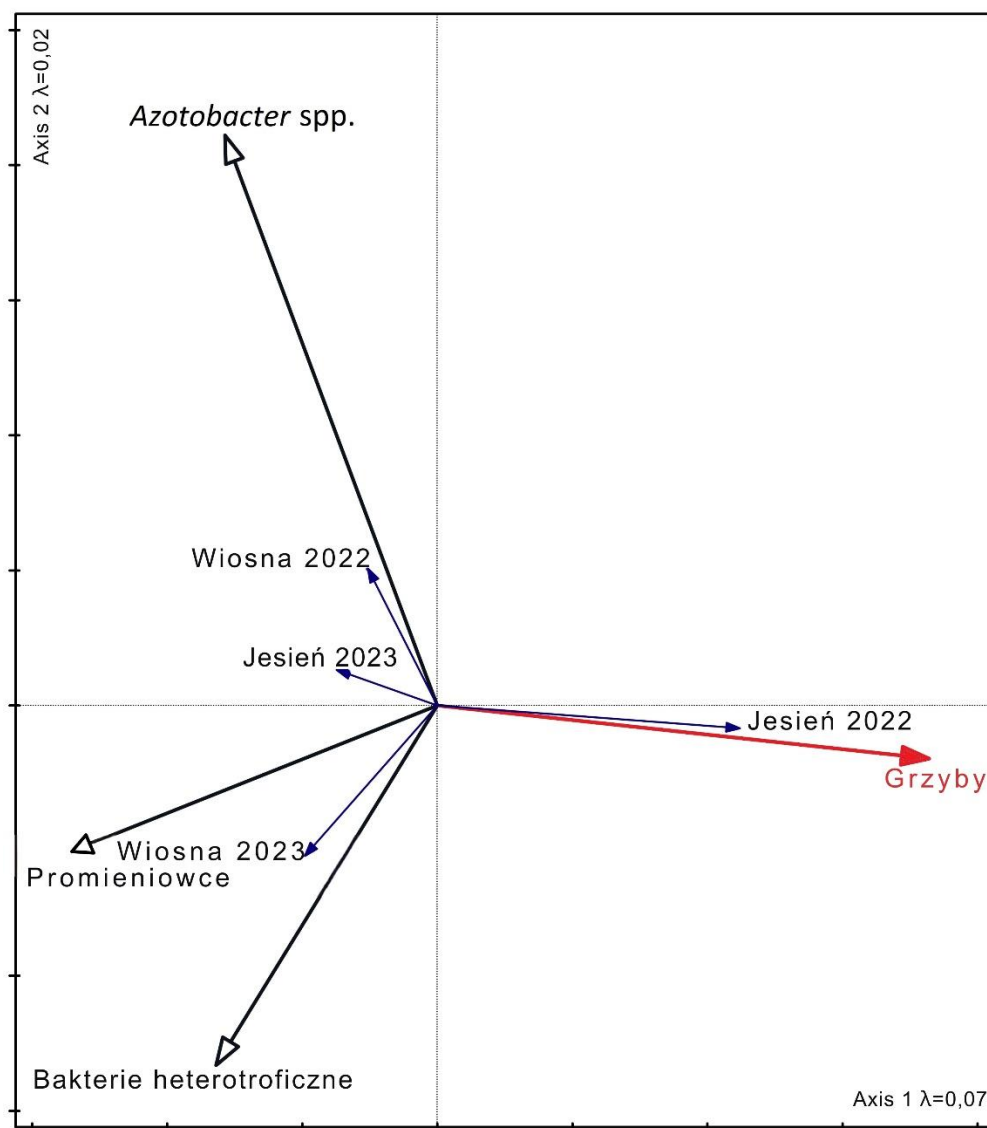
Analizy aktywności enzymatycznej ujawniły dodatkowe zależności. Aktywność fosfatazy kwaśnej, fosfatazy zasadowej oraz katalazy była istotnie skorelowana z zawartością azotu w glebie, co sugeruje, że intensywność procesów enzymatycznych w dużej mierze zależy od dostępności tego pierwiastka. Jednocześnie stwierdzono wyraźny wpływ odczynu gleby na dynamikę enzymów – wzrost wartości pH działał hamująco, prowadząc do obniżenia ich aktywności (Rycina 10). Taki mechanizm wskazuje, że równowaga pomiędzy zasobnością gleby w azot a jej odczynem jest kluczowa dla kształtowania aktywności enzymatycznej i w konsekwencji dla funkcjonowania całego mikrobiomu glebowego.



Rycina 10. RDA wskazuje na zależność pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a badanymi parametrami glebowymi. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zmienne istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 41,9% zmienności, a oś druga – 10,5%.

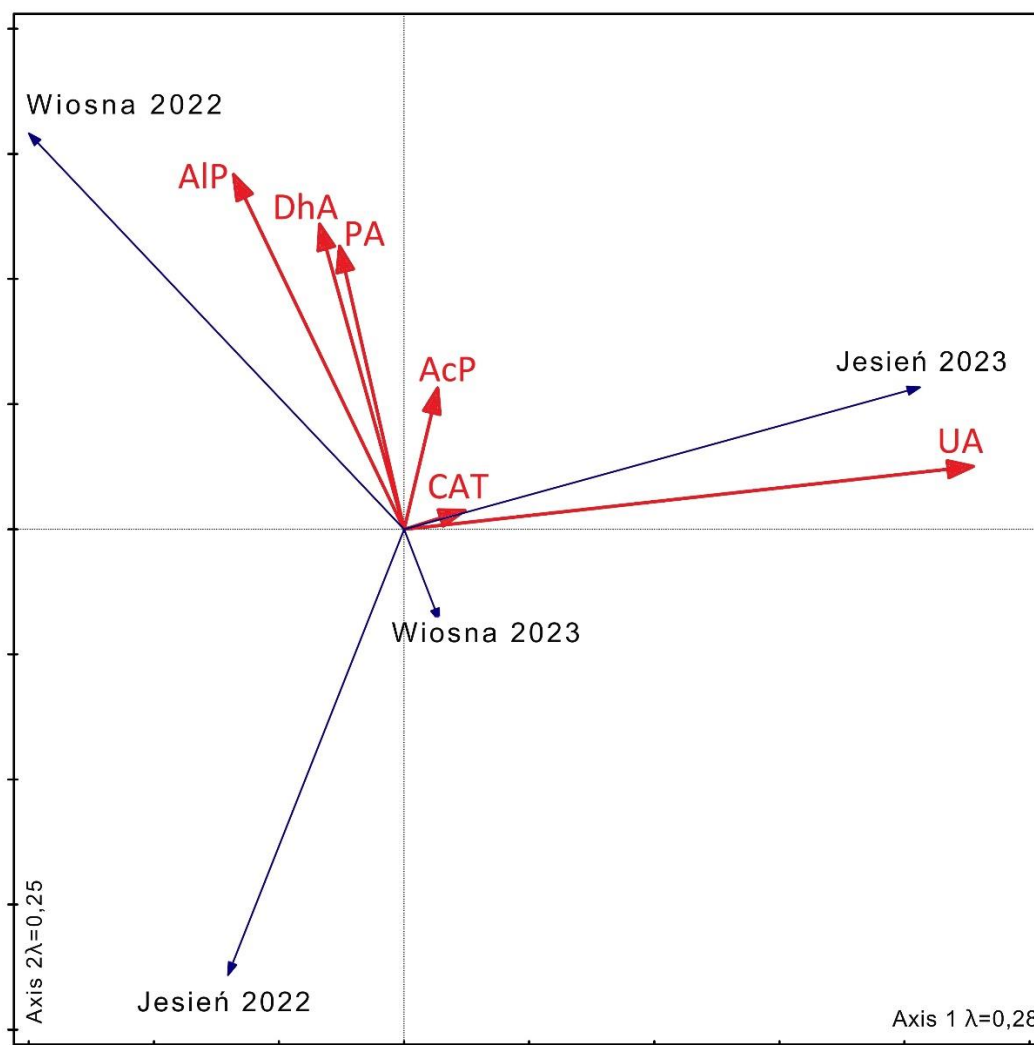
Wpływ sezonowości na liczebność mikroorganizmów i aktywność enzymatyczną gleb

Z analizy RDA wynikało, że jesienią 2022 roku zaobserwowano istotny wzrost liczebności grzybów, któremu towarzyszył jednoczesny spadek liczebności pozostałych grup mikroorganizmów. Zjawisko to zostało wyraźnie uwidocznione na Rycinie 11 i wskazuje na sezonowe zmiany w strukturze mikrobiologicznej gleby, mogące mieć związek z warunkami środowiskowymi panującymi w tym okresie.



Rycina 11. RDA wskazuje na zależność pomiędzy liczebnością drobnoustrojów glebowych a sezonem badawczym. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zmienną istotnie różniącą się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 6,8% zmienności, a oś druga – 2,4%

Z analizy danych wynika, że enzymy CAT oraz UA charakteryzowały się wyższą aktywnością jesienią 2023 roku, podczas gdy pozostałe badane enzymy wykazywały większą aktywność wiosną 2022. Zróżnicowanie to ilustruje silny wpływ sezonowych zmian temperatury i wilgotności na aktywność mikrobiologiczną w glebie (Rycina 12).



Rycina 12. RDA wskazuje na zależność pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a sezonem badawczym. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują wartości enzymów istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 28,1% zmienności, a oś druga – 24,6%.

5. Podsumowanie i wnioski

Powyższe publikacje koncentrują się na badaniach trwałych użytków zielonych w dolinie rzeki Obry, ze szczególnym uwzględnieniem zależności między typem roślinności, właściwościami chemicznymi gleby, liczebnością mikroorganizmów oraz procesami biochemicznymi zachodzącymi w warstwie powierzchniowej gleby.

Badania jednoznacznie wykazują, że roślinność łąkowa ma istotny wpływ na strukturę mikrobiomu, aktywność enzymatyczną gleby, a także na gromadzenie materii organicznej i związków fenolowych. Skład mikroorganizmów (bakterie heterotroficzne, grzyby, promienowce) oraz aktywność enzymów (m.in. ureazy, fosfataz, dehydrogenaz) zmieniają się sezonowo i są ściśle powiązane z warunkami siedliskowymi, takimi jak pH, zawartość węgla organicznego czy azotu ogólnego.

W szczególności podkreślono znaczenie związków fenolowych, naturalnie występujących w glebach z dużą ilością resztek roślinnych, które wpływają zarówno stymulująco, jak i hamująco na rozwój mikroorganizmów oraz przebieg procesów mineralizacji.

Rezultaty wszystkich powstałych publikacji jednoznacznie wskazują, że prawidłowe, zrównoważone użytkowanie trwałych użytków zielonych sprzyja zachowaniu bioróżnorodności, żyzności gleby, akumulacji węgla organicznego oraz spowolnieniu degradacji gleb murszowych, co ma istotne znaczenie w kontekście zmian klimatycznych.

Podsumowując, trwałe użytki zielone w dolinie rzeki Obry pełnią kluczową rolę ekologiczną, a ich odpowiednia ochrona oraz gospodarowanie mają znaczenie zarówno lokalne, jak i globalne, poprzez wpływ na klimat, bioróżnorodność czy zdrowie gleb.

Wyniki badań terenowych, a także laboratoryjnych umożliwiły weryfikację hipotezy badawczej i pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków końcowych, będących odpowiedzią na postawione, szczegółowe cele w dysertacji:

1. Zróżnicowanie roślinności wpływa na właściwości glebowe. Zbiorowiska roślinne kształtują liczebność mikrobioty glebowej, aktywność enzymatyczną, zawartość materii organicznej oraz profil fenolowy.
2. *Molinietum caeruleae* jest szczególnie bogate florystycznie przy jednoczesnej niskiej aktywności enzymatycznej i liczebności mikroorganizmów.
3. W analizowanych glebach odczyn gleby oraz zawartość węgla organicznego i azotu ogólnego były głównymi czynnikami determinującymi zarówno skład roślinności, jak i właściwości biochemiczne.

4. Liczebność mikroorganizmów oraz aktywność enzymów zależały od sezonu wegetacyjnego i siedliska. Wiosną dominowała aktywność enzymów związanych z obiegiem P i N (fosfatazy, dehydrogenazy), podczas gdy jesienią stwierdzono wzrost aktywności katalazy i ureazy. Zaobserwowano sezonową dynamikę mikrobiologiczną.
5. Związki fenolowe modulują aktywność mikroorganizmów. Obecność wybranych fenoli (np. katechiny, kwasu ferulowego) pozytywnie korelowała z liczebnością promieniowców oraz grzybów. Fenole pełnią zatem funkcję regulatorów obiegu N i dostępności składników pokarmowych.
6. Trwałe użytki zielone spełniają ważną funkcję bufora ekologicznego. Ich ochrona oraz zrównoważone użytkowanie sprzyjają zachowaniu bioróżnorodności, ograniczają emisję CO₂ i pozwalają utrzymać żyzność gleb o charakterze murszowym.

Ostrożne wnioskowanie wynika z faktu, iż w literaturze przedmiotu spotyka się niewiele opracowań o charakterze interdyscyplinarnym z zakresu szeroko pojętego łąkarstwa i mikrobiologii środowiska glebowego, stanowiącego różne etapy decesji materii organicznej w wyniku procesów murszenia płytkich utworów torfowych.

Bibliografia

1. Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12, 628379. DOI: 10.3389/fmicb.2021.628379
2. Al-Baldawy, M. S. M., Matloob, A. A. A. H., Almammory, M. K. N. (2023). The importance of nitrogen-fixing bacteria *Azotobacter chroococcum* in biological control to root rot pathogens (Review). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1259, 012110. DOI: 10.1088/1755-1315/1259/1/012110
3. Baghel, V., Thakur, J.K., Yadav, S.S., Manna, M.C., Mandal, A., Shirale, A.O., Sharma, P., Sinha, N.K., Mohanty, M., Singh, A.B., Patra, A.K. (2020). Phosphorus and potassium solubilization from rock minerals by endophytic Burkholderia sp. strain FDN2-1 in soil and shift in diversity of bacterial endophytes of corn root tissue with crop growth stage. *Geomicrobiology Journal*, 37, 550–563. DOI:10.1080/01490451.2020.1734691
4. Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., Van Wezel, G. P. (2016). Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80, 1–43. DOI: 10.1128/MMBR.00019-15
5. Barszczewski, J., Wasilewski, Z., Mendra, M. (2015). *Rational use of lowland pastures*. ITP. Falenty.
6. Bengtsson, J., Bullock, J. M., Egoh, B., Everson, C., Everson, T., O'Connor, T., O'Farrell, P. J., Smith, H. G., Lindborg, R. (2019). Grasslands—more important for ecosystem services than you might think. *Ecosphere*, 10, e02582. DOI: 10.1002/ecs2.2582
7. Borana, H., Kumhar, B. L., Kumhar, D. L., Jakhar, S. R. (2023). Grass based cropping system—source or sink for carbon sequestration to mitigate changing climate: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 12, 582–590.
8. Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Lyamlouli, K., Ouhdouch, Y., Hafidi, M., Kouisni, L. (2022). Multifunctional role of Actinobacteria in agricultural production sustainability: A review. *Microbiological Research*, 261, 127059. DOI: 10.1016/j.micres.2022.127059
9. Boukhatem, Z. F., Merabet, C., Tsaki, H. (2022). Plant growth promoting Actinobacteria, the most promising candidates as bioinoculants? *Frontiers in Agronomy*, 4, 849911. DOI: 10.3389/fagro.2022.849911

10. Braun-Blanquet, J. (1964). *Pflanzensoziologie: Grundzüge der Vegetationskunde*. Springer Verlag Wien, New York.
11. Burczyk, P., Gamrat, R., Gałczyńska, M., Saran, E. (2018). The role of grasslands in providing ecological sustainability of the natural environment. *Water-Environment-Rural Areas*, 18, 21–37.
12. Byrnes, R. C., Eastburn, D. J., Tate, K. W., Roche, L. M. (2018). A global meta-analysis of grazing impacts on soil health indicators. *Journal of Environmental Quality*, 47, 758–765. DOI: 10.2134/jeq2017.08.0313
13. Cania, B., Vestergaard, G., Suhadolc, M., Mihelič, R., Krauss, M., Fliessbach, A., Mäder, P., Szumelda, A., Schloter, M., Schulz, S. (2020). Site-specific conditions change the response of bacterial producers of soil structure-stabilizing agents to tillage intensity. *Frontiers in Microbiology*, 11, 568. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00568
14. Chaudhry, A.H., Nayab, S., Hussain, S.B., Ali, M., Pan, Z. (2021). Current Understandings on Magnesium Deficiency and Future Outlooks for Sustainable Agriculture. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 1819. DOI: 10.3390/ijms22041819
15. Chen, Q., Wang, S., Borer, E. T., Bakker, J. D., Seabloom, E. W., Harpole, W. S., Eisenhauer, N., Lekberg, Y., Buckley, Y. M., Catford, J. A., Roscher, C., Donohue, I., Power, S. A., Daleo, P., Ebeling, A., Knops, J. M. H., Martina, J. P., Eskelinen, A., Morgan J. W., Risch A. C., Caldeira M. C., Bugalho M. N., Virtanen R., Barrio I. C., Niu Y., Jentsch A., Stevens C. J., Gruner D. S., MacDougall A. S., Alberti J., Hautier, Y. (2023). Multi-dimensional responses of grassland stability to eutrophication. *Nature Communications*, 14, 6375. DOI: Morgan
16. Cheng, C., Liu, Z., Song, W., Chen, X., Zhang, Z., Li, B., Van Kleunen, M., Wu, J. (2024). Biodiversity increases resistance of grasslands against plant invasions under multiple environmental changes. *Nature Communications*, 15, 4506. DOI: 10.1038/s41467-024-48876-z
17. Costa, O. Y. A., Raaijmakers, J. M., Kuramae, E. E. (2018). Microbial extracellular polymeric substances: Ecological function and impact on soil aggregation. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1636. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01636
18. Daunoras, J., Kačergius, A., Gudiukaitė, R. (2024). Role of soil microbiota enzymes in soil health and activity changes depending on climate change and the type of soil ecosystem. *Biology*, 13, 85. DOI: 10.3390/biology13020085
19. De Bruijn, A. M. G., Calanca, P., Ammann, C., Fuhrer, J. (2012). Differential long-term effects of climate change and management on stocks and distribution of soil organic

- carbon in productive grasslands. *Biogeosciences*, 9, 1997–2012. DOI: 10.5194/bg-9-1997-2012
20. Dengler, J., Bergmeier, E., Willner, W., Chytrý, M. (2013). Towards a consistent classification of European grasslands. *Applied Vegetation Science*, 16, 518–520. DOI: 10.1111/avsc.12041
 21. Dietz, C. L., Jackson, R. D., Ruark, M. D., Sanford, G. R. (2024). Soil carbon maintained by perennial grasslands over 30 years but lost in field crop systems in a temperate Mollicsol. *Communications Earth & Environment*, 5, 360. DOI: 10.1038/s43247-024-01500-w
 22. Dumont, B., Franca, A., Lopez-i-Gelats, F., Mosnier, C., Pauler, C. M. (2022). Diversification increases the resilience of European grassland-based systems but is not a one-size-fits-all strategy. *Grass and Forage Science*, 77, 247–256.
 23. Eisenhauer, N., Mueller, K., Ebeling, A., Gleixner, G., Huang, Y., Madaj, A.-M., Roscher, C., Weigelt, A., Bahn, M., Bonkowski, M., Cesarz, S., Feilhauer H., Guimaraes-Steinicke C., Heintz-Buschart A., Hines J., Lange M., Meyer S. T., Mohanbabu N., Mommer L., Neuhauser S., Oelmann Y., Rahmanian S., Sasaki T., Scheu S., Schielzeth H., Schmid B., Schloter M., Schulz S., Unsicker S. B., Vogel C., Weisser W. W., Isbell, F. (2024). The multiple-mechanisms hypothesis of biodiversity–stability relationships. *Basic and Applied Ecology*, 79, 153–166. DOI: 10.1016/j.baae.2024.07.004
 24. Elliott, J., Tindale, S., Outhwaite, S., Nicholson, F., Newell-Price, P., Sari, N. H., Hunter, E., Sánchez-Zamora, P., Jin, S., Gallardo-Cobos, R., Miškolci, S., Frewer, L. J. (2024). European permanent grasslands: A systematic review of economic drivers of change, including a detailed analysis of the Czech Republic, Spain, Sweden, and UK. *Land*, 13, 116. DOI: 10.3390/land13010116
 25. Emadodin, I., Corral, D. E. F., Reinsch, T., Kluß, C., Taube, F. (2021). Climate change effects on temperate grassland and its implication for forage production: A case study from northern Germany. *Agriculture*, 11, 232. DOI: 10.3390/agriculture11030232
 26. European Commission. (2021). *Common Agricultural Policy (CAP): European Agricultural Guarantee Fund (EAGF) and European Agricultural Fund for Rural Development (EAFRD)*.
 27. Eurostat. (2020). *Agri-environmental indicator: Cropping patterns*. <https://ec.europa.eu/eurostat/statisticsexplained/> (30.05.2025).
 28. Fageria, N. K. (2014). *Nitrogen management in crop production*. CRC Press. Boca Raton.

29. Fan, L.-L., Mekrovar, O., Li, Y.-M., Li, K.-H., Ma, X.-X. (2021). Effect of nutrient addition on the productivity and species richness of grassland along an elevational gradient in Tajikistan. *Frontiers in Plant Science*, 12, 765077. DOI: 10.3389/fpls.2021.765077
30. Fenglerowa, W. (1970). Simple method for counting *Azotobacter* in soil samples. *Acta Microbiologica Polonica*, 14, 203–206.
31. Frąc, M., Hannula, S. E., Bełka, M., Jędrzycka, M. (2018). Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 9, 707. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00707
32. Fraser, M. D., Vallin, H. E., Roberts, B. P. (2022). Animal board invited review: Grassland-based livestock farming and biodiversity. *Animal*, 16, 100671. DOI: 10.1016/j.animal.2022.100671
33. Freitag, M., Hölzel, M., Neuenkamp, L., van der Plas, F., Manning, P., Abrahão, A., Bergmann, J., Boeddinghaus, R., Bolliger, R., Hamer, U., Kandeler, E., Kleinebecker, T., Knorr, K.-H., Marhan, S., Neyret, M., Prati, D., Le Provost, G., Saiz, H., van Kleunen, M., Schäfer, D., Klaus, V. H. (2023). Increasing plant species richness by seeding has marginal effects on ecosystem functioning in agricultural grasslands. *Journal of Ecology*, 111, 1968–1984. DOI: 10.1111/1365-2745.14154
34. Furtak, K., Gałązka, A. (2019). Enzymatic activity as a popular parameter used to determine the quality of the soil environment. *Polish Journal of Agronomy*, 37, 22–30. DOI: 10.26114/PJA.IUNG.385.2019.37.04
35. Gabryszuk, M., Barszczewski, J., Wróbel, B. (2022). Characteristics of grasslands and their use in Poland. *Journal of Water and Land Development*, 243–243. DOI: 10.24425/jwld.2021.139035
36. Gąsecka, M., Krzywińska-Bródka, A., Magdziak, Z., Czuchaj, P., Bykowska, J. (2023). Phenolic compounds and organic acid composition of *Syringa vulgaris* L. flowers and infusions. *Molecules*, 28, 5159. DOI: 10.3390/molecules28135159
37. Gerlach, R., Buhk, C., Schirmel, J., Jungkunst, H. F. (2023). Exploration of the response of soil properties and plant species composition to centuries-old traditional meadow irrigation. *Journal of Plant Ecology*, 16, rtac072. DOI: 10.1093/jpe/rtac072
38. Grabińska-Łoniewska, A. (1999). *Ćwiczenia laboratoryjne z mikrobiologii ogólnej*. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa.
39. Grgas, D., Rukavina, M., Bešlo, D., Štefanac, T., Crnek, V., Šikić, T., Habuda-Stanić, M., Landeka Dragičević, T. (2023). The bacterial degradation of lignin—A review. *Water*, 15, 1272. DOI: 10.3390/w15071272

40. Grobelak, A., Napora, A., Kacprzak, M. (2015). Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. *Ecological Engineering*, 84, 22–28. DOI: 10.1016/j.ecoleng.2015.07.019
41. Grzegorzczak, S. (2016). Użytkowanie ekosystemów trawiastych a kształtowanie środowiska. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych*, 586, 19–32.
42. Grzyb, A., Wolna-Maruwka, A., Niewiadomska, A. (2020). Environmental factors affecting the mineralization of crop residues. *Agronomy*, 10, 1951. DOI: 10.3390/agronomy10121951
43. GUS. (2024). *Analizy statystyczne. Ochrona środowiska 2024*. Główny Urząd Statystyczny, Warszawa.
44. Habel, J. C., Dengler, J., Janišová, M., Török, P., Wellstein, C., Wieszik, M. (2013). European grassland ecosystems: threatened hotspots of biodiversity. *Biodiversity and Conservation*, 22, 2131–2138. DOI: 10.1007/s10531-013-0537-x
45. Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 4, 9.
46. Han, W., Chen, L., Su, X., Liu, D., Jin, T., Shi, S., Li, T., Liu, G. (2022). Effects of soil physico-chemical properties on plant species diversity along an elevation gradient over alpine grassland on the Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Frontiers in Plant Science*, 13, 822268. DOI: 10.3389/fpls.2022.822268
47. Hauer-Jákli, M., Tränkner, M. (2019). Critical leaf magnesium thresholds and the impact of magnesium on plant growth and photo-oxidative defense: A systematic review and meta-analysis from 70 years of research. *Frontiers in Plant Science*, 10, 766. DOI: 10.3389/fpls.2019.00766
48. Hennekens, S. M., Schaminée, J. H. J. (2001). Turboveg, a comprehensive data base management system for vegetation data. *Journal of Vegetation Science*, 12, 589–591. DOI: 10.2307/3237010
49. Hoffmann, G., Teichert, K. (1961). Ein kolorimetrisches Verfahren zur Bestimmung der Ureaseaktivität in Böden. *Zeitschrift für Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde*, 91, 55–63. DOI: 10.1002/jpln.19610950107
50. Horan, B. (Ed.). (2018). *Sustainable meat and milk production from grasslands: Proceedings of the 27th General Meeting of the European Grassland Federation, Cork, Ireland, 17–21 June 2018*. Wageningen Academic Publishers.
51. Hu, J., Zhou, Q., Cao, Q., Hu, J. (2022). Effects of ecological restoration measures on vegetation and soil properties in semi-humid sandy land on the southeast Qinghai-Tibetan

- Plateau, China. *Global Ecology and Conservation*, 33, e02000. DOI: 10.1016/j.gecco.2022.e02000
52. Hu, T., Malone, S. L., Rumpel, C., Chabbi, A. (2024). Maximizing soil organic carbon stocks through optimal ploughing and renewal strategies in (Ley) grassland. *Communications Earth & Environment*, 5, 38. DOI: 10.1038/s43247-024-01202-3
 53. Ibáñez De Aldecoa, A. L., Zafra, O., González-Pastor, J. E. (2017). Mechanisms and regulation of extracellular DNA release and its biological roles in microbial communities. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1390. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01390
 54. IMGW PIB. (2022). *Rocznik meteorologiczny 2022*. IMGW PIB. Warszawa.
 55. IMGW PIB. (2023). *Rocznik meteorologiczny 2023*. IMGW PIB. Warszawa.
 56. IPCC. (2023). *Sixth assessment report*. Intergovernmental Panel on Climate Change.
 57. Isbell, F., Calcagno, V., Hector, A., Connolly, J., Harpole, W. S., Reich, P. B., Scherer-Lorenzen, M., Schmid, B., Tilman, D., Van Ruijven, J., Weigelt, A., Wilsey, B. J., Zavaleta, E. S., Loreau, M. (2011). High plant diversity is needed to maintain ecosystem services. *Nature*, 477, 199–202. DOI: 10.1038/nature10282
 58. Jackowiak, B. (2023). Man-made changes in the flora and vegetation of Poland: Current review. *Diversity*, 15, 618. DOI: 10.3390/d15050618
 59. Jeanneret, P., Aviron, S., Alignier, A., Lavigne, C., Helfenstein, J., Herzog, F., Kay, S., Petit, S. (2021). Agroecology landscapes. *Landscape Ecology*, 36, 2235–2257. DOI: 10.1007/s10980-021-01248-0
 60. Jodłowski J. (2003). *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski, 1:50000. Wolsztyn (540)*. PIB, Warszawa.
 61. Johnson, J. L., Temple, K. L. (1964). Some variables affecting the measurement of “catalase activity” in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 28, 207–209. DOI: 10.2136/sssaj1964.03615995002800020024x
 62. Kabała, C., Charzyński, P., Chodorowski, J., Drewnik, M., Glina, B., Greinert, A., Hulisz, P., Jankowski, M., Jonczak, J., Łabaz, B., Łachacz, A., Marzec, M., Mendyk, Ł., Musiał, P., Musielok, Ł., Smreczak, B., Sowiński, P., Świtoniak, M., Uzarowicz, Ł., Waroszewski, J. (2019). Polish soil classification, 6th edition – Principles, classification scheme and correlations. *Soil Science Annual*, 70, 71–97. DOI: 10.2478/ssa-2019-0009
 63. Kiem, R., Kögel-Knabner, I. (2003). Contribution of lignin and polysaccharides to the refractory carbon pool in C-depleted arable soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 101–118. DOI: 10.1016/S0038-0717(02)00242-0

64. Kinsbergen, D. T. P., Kooijman, A. M., Morriën, E., English, K., Oostermeijer, J. G. B. (2025). Abiotic and biotic drivers of soil microbial diversity in an intensively grazed natural ecosystem. *npj Biodiversity*, 4, 10. DOI: 10.1038/s44185-025-00081-x
65. Klarzyńska, A. A., Kryszak, A. (2015). Floristic diversity of extensively used fresh meadows (6510) in the Wielki Łęg Obrzański complex. *Acta Agrobotanica*, 115–123. DOI: 10.5586/aa.2015.019
66. Klootwijk, C. W. (Ed.). (2024). *Why grasslands? Proceedings of the 30th General Meeting of the European Grassland Federation, Leeuwarden, the Netherlands, 9–13 June 2024*. Koninklijke Brill BV.
67. Kondracki, J. (2009). *Geografia regionalna Polski*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
68. Koorem, K., Sepp, S., Bueno, C. G., Davison, J., Liu, S., Meng, Y., Semchenko, M., Vasar, M., Zobel, M., Moora, M. (2024). Plant mycorrhizal status indicates partner selectivity in arbuscular mycorrhizal interaction networks. *Functional Ecology*. DOI: 10.1111/1365-2435.14729
69. Kotańska, M., Kowalska, A., Szlachta, A. (2016). Przemiany roślinności łąk z klasy *Molinio-Arrhenatheretea* po zaniechaniu użytkowania w rejonach Boguchwały i Tarnobrzega (Polska południowo-wschodnia). *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica*, 23, 83–99.
70. Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F. (2006). World map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15, 259–263. DOI: 10.1127/0941-2948/2006/0130
71. Kozaczyk, P., Stachowski, P., Liberacki, D. (2015). Ocena potrzeb modernizacji i konserwacji Północnego Kanału Obry. *Inżynieria Ekologiczna*, 43, 139–145. DOI: 10.12912/23920629/58915
72. Kryszak, A., Klarzyńska, A., Kryszak, J., Strychalska, A., Szymańczyk, J. (2011). Zbiorowiska roślinne skarp kanałów i rowów melioracyjnych Wielkiego Łęgu Obrzańskiego. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie*, 11, 159–177.
73. Krzysztofka M. (1993). *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski, 1:50000. Kościan (542)*. PIG, Warszawa.
74. Kuhad, R. C., Kuhar, S., Sharma, K. K., Shrivastava, B. (2013). Microorganisms and enzymes involved in lignin degradation vis-à-vis production of nutritionally rich animal feed: An overview. In R. C. Kuhad, A. Singh (Eds.), *Biotechnology for environmental*

- management and resource recovery* (pp. 3–44). Springer. DOI: 10.1007/978-81-322-0876-1_1
75. Kurasiak-Popowska, D., Graczyk, M., Przybylska-Balcerek, A., Stuper-Szablewska, K., Sz wajkowska-Michalek, L. (2022). An analysis of variability in the content of phenolic acids and flavonoids in camelina seeds depending on weather conditions, functional form, and genotypes. *Molecules*, 27, 3364. DOI: 10.3390/molecules27113364
 76. Laidlaw, A. S., Šebek, L. B. J. (2012). Grassland for sustainable animal production. *Grassland Science in Europe*, 17, 47–58.
 77. Lange, M., Eisenhauer, N., Sierra, C. A., Bessler, H., Engels, C., Griffiths, R. I., Mellado-Vázquez, P. G., Malik, A. A., Roy, J., Scheu, S., Steinbeiss, S., Thomson, B. C., Trumbore, S. E., Gleixner, G. (2015). Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. *Nature Communications*, 6, 6707. DOI: 10.1038/ncomms7707
 78. Lauber, C. L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N. (2009). Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 5111–5120. DOI: 10.1128/AEM.00335-09
 79. Lehmann, J., Kleber, M. (2015). The contentious nature of soil organic matter. *Nature*, 528, 60–68. DOI: 10.1038/nature16069
 80. Lenoir, I., Fontaine, J., Lounès-Hadj Sahraoui, A. (2016). Arbuscular mycorrhizal fungal responses to abiotic stresses: A review. *Phytochemistry*, 123, 4–15. DOI: 10.1016/j.phytochem.2016.01.002
 81. Lewin, G. R., Carlos, C., Chevrette, M. G., Horn, H. A., McDonald, B. R., Stankey, R. J., Fox, B. G., Currie, C. R. (2016). Evolution and ecology of Actinobacteria and their bio-energy applications. *Annual Review of Microbiology*, 70, 235–254. DOI: 10.1146/annu-rev-micro-102215-095748
 82. Li, C., Li, X., Shi, Y., Yang, Y., Li, H. (2022a). Effects of nitrogen addition on soil carbon-fixing microbial diversity on different slopes in a degraded alpine meadow. *Frontiers in Plant Science*, 13, 921278. DOI: 10.3389/fpls.2022.921278
 83. Li, M., Wang, X., Chen, J. (2022b). Assessment of grassland ecosystem services and analysis on its driving factors: A case study in Hulunbuir grassland. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 10, 841943. DOI: 10.3389/fevo.2022.841943
 84. Li, T., Ge, L., Zhao, R., Peng, C., Zhou, X., Li, P., Liu, Z., Song, H., Tang, J., Zhang, C., Li, Q., Wang, M., Zou, Z. (2024). Phenolic compounds weaken the impact of drought on

- soil enzyme activity in global wetlands. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1372866. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1372866
85. Liao, P., Ros, M. B. H., Van Gestel, N., Sun, Y., Zhang, J., Huang, S., Zeng, Y., Wu, Z., Van Groenigen, K. J. (2020). Liming reduces soil phosphorus availability but promotes yield and P uptake in a double rice cropping system. *Journal of Integrative Agriculture*, *19*, 2807–2814. DOI: 10.1016/S2095-3119(20)63222-1
 86. Liu, Y., Zhang, M., Zhao, Y., Wei, J., Zhou, S., Shi, X. (2025). Effect of environmental factors on grassland biodiversity and biomass in the Zhangye Region. *Agronomy*, *15*, 476. DOI: 10.3390/agronomy15020476
 87. Macias-Benitez, S., Garcia-Martinez, A. M., Caballero Jimenez, P., Gonzalez, J. M., Tejada Moral, M., Parrado Rubio, J. (2020). Rhizospheric organic acids as biostimulants: Monitoring feedbacks on soil microorganisms and biochemical properties. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 633. DOI: 10.3389/fpls.2020.00633
 88. Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., Missaoui, A. (2020). Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, *9*, 97. DOI: 10.3390/plants9010097
 89. Mapa glebowo-rolnicza Polski. Geoportal. <https://mapy.geoportal.gov.pl/imapnext/imap/> (15.04.2025)
 90. Marcos, M. S., Carrera, A. L., Bertiller, M. B., Olivera, N. L. (2020). Grazing enhanced spatial heterogeneity of soil dehydrogenase activity in arid shrublands of Patagonia, Argentina. *Journal of Soils and Sediments*, *20*, 883–888. DOI: 10.1007/s11368-019-02440-1
 91. Martin, J. P. (1950). Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*, *69*, 215–232.
 92. Mashiane, K. K., Ramoelo, A., Adelabu, S., Daemane, E. (2023). Estimating mountainous plant species richness and diversity for monitoring global change in a protected grassland park. *African Journal of Ecology*, *61*, 636–644. DOI: 10.1111/aje.13152
 93. Matuszkiewicz, W. (2023). *Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski*. PWN, Warszawa.
 94. Mayel, S., Jarrah, M., Kuka, K. (2021). How does grassland management affect physical and biochemical properties of temperate grassland soils? A review study. *Grass and Forage Science*, *76*, 215–244. DOI: 10.1111/gfs.12512
 95. Mitsuta, A., Lourenço, K. S., Chang, J., Ros, M., Schils, R., Uchida, Y., Kuramae, E. E. (2025). Liming enhances the abundance and stability of nitrogen-cycling microbes: The

- buffering effect of long-term lime application. *Biology and Fertility of Soils*, 61, 761–772. DOI: 10.1007/s00374-025-01889-2
96. Młynkowiak, E., Kutyna, I. (2011). Zróżnicowanie zbiorowisk łąkowych klasy *Molinio-Arrhenatheretea* w krajobrazie rolniczym zachodniej części Pojezierza Drawskiego. *Grassland Science in Poland*, 14, 85–103.
 97. Moreno, J. L., García, C., Hernández, T. (2003). Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. *European Journal of Soil Science*, 54, 377–386. DOI: 10.1046/j.1365-2389.2003.00533.x
 98. Naga Raju, M., Golla, N., Vengatampalli, R. (2017). Soil protease. In *Soil enzymes, Springer Briefs in Environmental Science* (pp. 19–24). Springer. DOI: 10.1007/978-3-319-42655-6_5
 99. Neupane A., Herndon E.M., Whitman T., Faiia A.M., Jagadamma S. (2023). Manganese effects on plant residue decomposition and carbon distribution in soil fractions depend on soil nitrogen availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 178, 108964. DOI: 10.1016/j.soilbio.2023.108964
 100. Nippert, J., Wedel, E., Keen, R., Bachle, S. (2022). Climate change in grassland ecosystems: Current impacts and potential actions for a sustainable future. In *Climate actions* (p. 36). CRC Press Boca Raton.
 101. Ogwu, M. C., Kosoe, E. A. (2025). Integrating green infrastructure into sustainable agriculture to enhance soil health, biodiversity, and microclimate resilience. *Sustainability*, 17, 3838. DOI: 10.3390/su17093838
 102. Paluch, J. (2006). *Wielkopolskie spółki wodne 1842–1918*. Wągrowiec.
 103. Pan, L., Cai, B. (2023). Phosphate-solubilizing bacteria: Advances in their physiology, molecular mechanisms and microbial community effects. *Microorganisms*, 11, 2904. DOI: 10.3390/microorganisms11122904
 104. Pawłowski, B. (1977). Skład i budowa zbiorowisk roślinnych oraz metody ich badania. In W. Szafer, K. Zarzycki (Eds.), *Szata roślinna Polski*. PWN, Warszawa.
 105. Pazúr, R., Nováček, J., Bürgi, M., Kopecká, M., Lieskovský, J., Pazúrová, Z., Feranec, J. (2024). Changes in grassland cover in Europe from 1990 to 2018: Trajectories and spatial patterns. *Regional Environmental Change*, 24, 51. DOI: 10.1007/s10113-024-02197-5
 106. Peeters, A. (2012). Past and future of European grasslands. The challenge of the CAP towards 2020. In P. Goliński, M. Warda, P. Stypiński (Eds.), *Proceedings of the 24th General Meeting of the European Grassland Federation* (pp. 17–32).

107. Polowy, K., Molińska-Glura, M. (2023). Data mining in the analysis of tree harvester performance based on automatically collected data. *Forests*, 14, 165. DOI: 10.3390/f14010165
108. Qiu, K., Xie, Y., Xu, D., Pott, R. (2018). Ecosystem functions including soil organic carbon, total nitrogen and available potassium are crucial for vegetation recovery. *Scientific Reports*, 8, 7607. DOI: 10.1038/s41598-018-25875-x
109. Sapek, A., Sapek, B. (1997). *Metody analizy chemicznej gleb organicznych*. Mat. Instr. IMUZ, Falenty.
110. Sardans, J., Peñuelas, J. (2021). Potassium control of plant functions: Ecological and agricultural implications. *Plants*, 10, 419. DOI: 10.3390/plants10020419
111. Schils, R. L. M., Bufo, C., Rhymer, C. M., Francksen, R. M., Klaus, V. H., Abdalla, M., Milazzo, F., Lellei-Kovács, E., Berge, H. T., Bertora, C., Chodkiewicz, A., Dămățircă, C., Feigenwinter, I., Fernández-Rebollo, P., Ghiasi, S., Hejduk, S., Hiron, M., Janicka, M., Pellaton, R., Smith, K. E., Thorman, R., Vanwalleghe, T., Williams, J., Zavattaro, L., Kampen, J., Derkx, R., Smith, P., Whittingham, M. J., Buchmann, N., Price, J. P. N. (2022). Permanent grasslands in Europe: Land use change and intensification decrease their multifunctionality. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 330, 107891. DOI: 10.1016/j.agee.2022.107891
112. Shannon, C. E., Weaver, W. (1949). *A mathematical theory of communication*. University of Illinois Press. Urbana, IL.
113. Shi, H., Yang, J., Li, Q., PinChu, C., Song, Z., Yang, H., Luo, Y., Liu, C., Fan, W. (2023). Diversity and correlation analysis of different root exudates on the regulation of microbial structure and function in soil planted with *Panax notoginseng*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1282689. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1282689
114. Siebert, J., Sünemann, M., Hautier, Y., Risch, A. C., Bakker, J. D., Biederman, L., Blumenthal, D. M., Borer, E. T., Bugalho, M. N., Broadbent, A. A. D., Caldeira, M. C., Cleland, E., Davies, K. F., Ekelinen, A., Hagenah, N., Knops, J. M. H., MacDougall, A. S., McCulley, R. L., Moore, J. L., Power, S. A., Price, J. N., Seabloom, E. W., Standish, R., Stevens, C. J., Zimmermann, S., Eisenhauer, N. (2023). Drivers of soil microbial and detritivore activity across global grasslands. *Communications Biology*, 6, 1220. DOI: 10.1038/s42003-023-05607-2
115. Simard, S. W., Beiler, K. J., Bingham, M. A., Deslippe, J. R., Philip, L. J., Teste, F. P. (2012). Mycorrhizal networks: Mechanisms, ecology and modelling. *Fungal Biology Reviews*, 26, 39–60. DOI: 10.1016/j.fbr.2012.01.001

116. Simelton, E., Carew-Reid, J., Coulier, M., Damen, B., Howell, J., Pottinger-Glass, C., Tran, H. V., Van Der Meiren, M. (2021). NBS framework for agricultural landscapes. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 678367. DOI: 10.3389/fenvs.2021.678367
117. Sivasakthi, S., Saranraj, P., Sivasakthivelan, P. (2017). Biological nitrogen fixation by *Azotobacter* sp. – A review. *Indo-Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 3, 1274–1284.
118. Šmilauer, P., Lepš, J. (2014). *Multivariate analysis of ecological data using CANOCO 5*. Cambridge University Press.
119. Solangi, F., Zhu, X., Solangi, K. A., Iqbal, R., Elshikh, M. S., Alarjani, K. M., Elsalahy, H. H. (2024). Responses of soil enzymatic activities and microbial biomass phosphorus to improve nutrient accumulation abilities in leguminous species. *Scientific Reports*, 14, 11139. DOI: 10.1038/s41598-024-61446-z
120. Soons, M. B., Hefting, M. M., Dorland, E., Lamers, L. P. M., Versteeg, C., Bobbink, R. (2017). Nitrogen effects on plant species richness in herbaceous communities are more widespread and stronger than those of phosphorus. *Biological Conservation*, 212, 390–397. DOI: 10.1016/j.biocon.2016.12.006
121. Soussana, J. F., Allard, V., Pilegaard, K., Ambus, P., Amman, C., Campbell, C., Ceschia, E., Clifton-Brown, J., Czobel, S., Domingues, R., Flechard, C., Fuhrer, J., Hensen, A., Horvath, L., Jones, M., Kasper, G., Martin, C., Nagy, Z., Neftel, A., Raschi, A., Baronti, S., Rees, R. M., Skiba, U., Stefani, P., Manca, G., Sutton, M., Tuba, Z., Valentini, R. (2007). Full accounting of the greenhouse gas (CO₂, N₂O, CH₄) budget of nine European grassland sites. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 121, 121–134. DOI: 10.1016/j.agee.2006.12.022
122. StatSoft, Inc. (2009). *STATISTICA (data analysis software system), version 9.0*. www.statsoft.com
123. Styczeń, L. (2001). *Stan czystości wód w zlewni Południowego Kanału Obry*.
124. Sumbul, A., Ansari, R. A., Rizvi, R., Mahmood, I. (2020). *Azotobacter*: A potential bio-fertilizer for soil and plant health management. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 3634–3640. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.08.004
125. Szałajdewicz J. (2004). *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski, 1:50000. Rakoniewice (541)*. PIG, Warszawa.
126. Szuleta, M., Kitczak, T., Łazar, E., Kirkiewicz, A. (2017). Floristic characteristics and some chemical properties of soil and sward of meadows located in the Natura 2000 area in the valley of river Parsęta in Sulikowo. *Grassland Science in Poland*, 20, 183–197.

127. Tabassum, B., Khan, A., Tariq, M., Ramzan, M., Iqbal Khan, M. S., Shahid, N., Aaliya, K. (2017). Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Applied Soil Ecology*, 121, 102–117. DOI: 10.1016/j.apsoil.2017.09.030
128. Tabatabai, M. A., Bremner, J. M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry*, 1, 301–307. DOI: 10.1016/0038-0717(69)90012-1
129. Tälle, M., Deák, B., Poschlod, P., Valkó, O., Westerberg, L., Milberg, P. (2016). Grazing vs. mowing: A meta-analysis of biodiversity benefits for grassland management. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 222, 200–212. DOI: 10.1016/j.agee.2016.02.008
130. Tang, H., Hassan, M. U., Feng, L., Nawaz, M., Shah, A. N., Qari, S. H., Liu, Y., Miao, J. (2022). The critical role of arbuscular mycorrhizal fungi to improve drought tolerance and nitrogen use efficiency in crops. *Frontiers in Plant Science*, 13, 919166. DOI: 10.3389/fpls.2022.919166
131. ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P. (2012). *CANOCO Reference manual and user's guide: Software ordination (version 5.0)*. Biometrics, Wageningen, České Budějovice.
132. Thalmann, A. (1968). Zur Methodik der bestimmung der dehydrogenaseaktivität im boden mittels triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtschaftliche Forschung*, 21, 249–258.
133. Tichý, L., Holt, J., Nejezchlebová, M. (2011). JUICE program for management, analysis and classification of ecological data. 2nd edition of the program manual. Vegetation Science Group, Masaryk University. Brno, Czech Republic.
134. Valenzuela-Aragon, B., Cardinale, M., Rolli, E., Rustioni, L., Francioli, D. (2025). The role of arbuscular mycorrhizal fungi in abiotic stress management in viticulture under climatic shifts. *Plant Stress*, 16, 100863. DOI: 10.1016/j.stress.2025.100863
135. Veen, P., Jefferson, R., de Smidt, J., van der Straaten, J. (2009). *Grasslands in Europe: Of high nature value*. KNNV Publishing. Zeist (Netherlands).
136. Wahdan, S. F. M., Heintz-Buschart, A., Sansupa, C., Tanunchai, B., Wu, Y.-T., Schädler, M., Noll, M., Purahong, W., Buscot, F. (2021). Targeting the active rhizosphere microbiome of *Trifolium pratense* in grassland evidences a stronger-than-expected belowground biodiversity-ecosystem functioning link. *Frontiers in Microbiology*, 12, 629169. DOI: 10.3389/fmicb.2021.629169
137. Wang, C., Lv, J., Coulter, J. A., Xie, J., Yu, J., Li, J., Zhang, J., Tang, C., Niu, T., Gan, Y. (2020). Slow-release fertilizer improves the growth, quality, and nutrient utilization of

- wintering Chinese chives (*Allium tuberosum* Rottler ex Spreng.). *Agronomy*, 10, 381. DOI: 10.3390/agronomy10030381
138. Wang, H., Chen, Y. (2024). Protecting plants from pathogens through arbuscular mycorrhiza: Role of fungal diversity. *Microbiological Research*, 289, 127919. DOI: 10.1016/j.micres.2024.127919
 139. Wang, H., Ma, S., Shao, G., Dittert, K. (2021). Use of urease and nitrification inhibitors to decrease yield-scaled N₂O emissions from winter wheat and oilseed rape fields: A two-year field experiment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 319, 107552. DOI: 10.1016/j.agee.2021.107552
 140. Wang, L., Hamel, C., Lu, P., Wang, J., Sun, D., Wang, Y., Lee, S.-J., Gan, G. Y. (2023). Using enzyme activities as an indicator of soil fertility in grassland – An academic dilemma. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1175946. DOI: 10.3389/fpls.2023.1175946
 141. Wang, M., Lu, N., An, N., Fu, B. (2022). Plant functional and phylogenetic diversity regulate ecosystem multifunctionality in semi-arid grassland during succession. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 791801. DOI: 10.3389/fenvs.2021.791801
 142. Wang, W., Bi, S., Li, F., Degen, A. A., Li, S., Huang, M., Luo, B., Zhang, T., Qi, S., Qi, T., Bai, Y., Liu, P., Shang, Z. (2025). Soil organic matter composition affects ecosystem multifunctionality by mediating the composition of microbial communities in long-term restored meadows. *Environmental Microbiome*, 20, 22. DOI: 10.1186/s40793-025-00678-6
 143. Wang, X., Chi, Y., Song, S. (2024). Important soil microbiota's effects on plants and soils: A comprehensive 30-year systematic literature review. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1347745. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1347745
 144. Weisser, W. W., Roscher, C., Meyer, S. T., Ebeling, A., Luo, G., Allan, E., Beßler, H., Barnard, R. L., Buchmann, N., Buscot, F., Engels, C., Fischer, C., Fischer, M., Gessler, A., Gleixner, G., Halle, S., Hildebrandt, A., Hillebrand, H., De Kroon, H., Lange, M., Leimer, S., Le Roux, X., Milcu, A., Mommer, L., Niklaus, P. A., Oelmann, Y., Proulx, R., Roy, J., Scherber, C., Scherer-Lorenzen, M., Scheu, S., Tschardtke, T., Wachendorf, M., Wagg, C., Weigelt, A., Wilcke, W., Wirth, C., Schulze, E.-D., Schmid, B., Eisenhauer, N. (2017). Biodiversity effects on ecosystem functioning in a 15-year grassland experiment: Patterns, mechanisms, and open questions. *Basic and Applied Ecology*, 23, 1–73. DOI: 10.1016/j.baae.2017.06.002

145. Wenyika, P., Enesi, R. O., Gorim, L. Y., Dyck, M. (2025). Effects of liming on soil biota and related processes in agroecosystems: A review. *Discover Soil*, 2, 37. DOI: 10.1007/s44378-025-00063-2
146. Wróbel, B., Świechowska, I., Krupa, A. (2021). *Produkcyjny i przyrodniczy aspekt użytkowania łąk i pastwisk w gospodarstwach ekologicznych*. Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie oddział w Poznaniu.
147. Wróbel, B., Zielewicz, W., Paszkiewicz-Jasińska, A. (2025). Improving forage quality from permanent grasslands to enhance ruminant productivity. *Agriculture*, 15, 1438. DOI: 10.3390/agriculture15131438
148. Wyczółkowski, A. J., Dąbek-Szreniawska, M. (2005). Enzymy biorące udział w mineralizacji azotu organicznego. *Acta Agrophysica. Monographiae*, 3, 37–61.
149. Wyszowska, J., Wyszowski, M. (2010). Activity of soil dehydrogenases, urease, and acid and alkaline phosphatases in soil polluted with petroleum. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 73, 1202–1210. DOI: 10.1080/15287394.2010.492004
150. Yang, X., Li, Z., Cheng, C. (2016). Effect of conservation tillage practices on soil phosphorus nutrition in an apple orchard. *Horticultural Plant Journal*, 2, 331–337. DOI: 10.1016/j.hpj.2016.11.005
151. Yang, Y., Tilman, D., Furey, G., Lehman, C. (2019). Soil carbon sequestration accelerated by restoration of grassland biodiversity. *Nature Communications*, 10, 718. DOI: 10.1038/s41467-019-08636-w
152. Yuvaraj, M., Ramasamy, M. (2020). Role of fungi in agriculture. In *Biostimulants in plant science* (p. 12). IntechOpen.
153. Zhang, B., Wu, X., Tai, X., Sun, L., Wu, M., Zhang, W., Chen, X., Zhang, G., Chen, T., Liu, G., Dyson, P. (2019). Variation in actinobacterial community composition and potential function in different soil ecosystems belonging to the arid Heihe River Basin of Northwest China. *Frontiers in Microbiology*, 10, 2209. DOI: 10.3389/fmicb.2019.02209
154. Zhang, R., Tian, D., Wang, J., Niu, S. (2023). Critical role of multidimensional biodiversity in contributing to ecosystem sustainability under global change. *Geography and Sustainability*, 4, 232–243. DOI: 10.1016/j.geosus.2023.05.002
155. Zhou, S., Dong, Y., Yang, H., Yang, S., Julihaiti, A., Liu, Z., Nie, T., Jiang, A., Wu, Y., An, S. (2024). Effects of grazing exclusion on soil properties, fungal community structure, and diversity in different grassland types. *Ecology and Evolution*, 14, e11056. DOI: 10.1002/ece3.11056

156. Zhou, W., Han, G., Liu, M., Li, X. (2019). Effects of soil pH and texture on soil carbon and nitrogen in soil profiles under different land uses in Mun River Basin, Northeast Thailand. *PeerJ*, 7, e7880. DOI: 10.7717/peerj.7880
157. Zieliński, M., Józwiak, W., Żak, A., Rokicki, T. (2025). Development of eco-schemes as an important environmental measure in areas facing natural or other specific constraints under the Common Agriculture Policy 2023–2027: Evidence from Poland. *Sustainability*, 17, 2781. DOI: 10.3390/su17062781
158. Ziółkowska, A., Dębska, B., Banach-Szott, M. (2020a). Content of phenolic compounds in meadow vegetation and soil depending on the isolation method. *Molecules*, 25, 5462. DOI: 10.3390/molecules25225462
159. Ziółkowska, A., Dębska, B., Banach-Szott, M. (2020b). Transformations of phenolic compounds in meadow soils. *Scientific Reports*, 10. DOI: 10.1038/s41598-020-76316-7
160. Zwetsloot, M. J., Ucross, J. M., Wickings, K., Wilhelm, R. C., Sparks, J., Buckley, D. H., Bauerle, T. L. (2020). Prevalent root-derived phenolics drive shifts in microbial community composition and prime decomposition in forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 145, 107797. DOI: 10.1016/j.soilbio.2020.107797

Spis tabel i rycin

Tabela 1. Dokładna lokalizacja punktów badawczych

Tabela 2. Klasyfikacja fitosocjologiczna wybranych punktów badawczych

Tabela 3. Wskaźniki bioróżnorodności wybranych zbiorowisk roślinności łąkowej. Statystycznie istotne różnice w wartościach wskaźników bioróżnorodności pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami ($p \leq 0,05$; ANOVA I z testem post hoc Tukeya). Różnice w wartości wskaźnika D nie były oceniane

Tabela 4. Właściwości chemiczne gleb. Statystycznie istotne różnice w parametrach glebowych pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami ($p \leq 0,05$; test Kruskala-Wallisa z porównaniami post hoc Dunna)

Tabela 5. Analiza dyskryminacyjna (CVA) parametrów glebowych i jednostek syntaksonomicznych roślinności ($n=4$). Statystycznie istotne czynniki oznaczono pogrubieniem ($p \leq 0,05$). Efekty warunkowe wykluczają wpływ najbardziej skorelowanych zmiennych.

Tabela 6. Charakterystyka chemicznych i mikrobiologicznych właściwości gleby (średnia $\pm$ SD). Statystycznie istotne różnice w badanych parametrach pomiędzy jednostkami syntaksonomicznymi roślinności łąkowej oznaczono różnymi literami ($n = 4$)

Tabela 7. Wartości współczynników korelacji r-Pearsona. Uwzględniono wyłącznie statystycznie istotne współczynniki korelacji ($n = 20$)

Tabela 8. Bioróżnorodność wybranych jednostek roślinności użytków zielonych

Tabela 9. Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy indeksem różnorodności danego zbiorowiska roślinnego H' a aktywnością enzymatyczną gleby. Poziomy istotności oznaczono następująco: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns (brak istotności) $p > 0,05$

Tabela 10. Współczynnik korelacji Pearsona pomiędzy indeksem różnorodności danego zbiorowiska roślinnego H' a liczebnością drobnoustrojów glebowych. Poziomy istotności oznaczono następująco: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, ns (brak istotności) $p > 0,05$

Rycina 1. Lokalizacja (A) obiektu i (B) punktów badawczych

Rycina 2. Struktura grup socjologicznych (siedliskowych) analizowanych jednostek syntaksonomicznych roślinności. ChCl – gatunki charakterystyczne dla klasy, ChO – gatunki charakterystyczne dla rzędu, Inne – gatunki z innych syntaksonów występujące w bardzo małej liczbie

Rycina 3. Analiza dyskryminacyjna (CVA) parametrów glebowych i jednostek roślinności łąkowej. Istotne statystycznie czynniki w modelu oznaczono gwiazdkami * ($p \leq 0,05$)

Rycina 4. Wyniki analizy korelacji pomiędzy indeksem różnorodności gatunkowej a) całkowitą zawartością węgla organicznego oraz b) całkowitą zawartością azotu. Równania regresji przedstawiono na wykresach, r – współczynnik korelacji Pearsona ($p < 0,05$), R^2 – współczynnik determinacji

Rycina 5. Analiza skupień dla analizowanych jednostek syntaksonomicznych

Rycina 6. Liczebność drobnoustrojów w glebach (średnia $\pm$ SD i SE). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (ANOVA, $p < 0,05$, test Tukeya jako post hoc)

Rycina 7. Aktywność enzymatyczna gleb (średnia $\pm$ SD i SE). Wartości oznaczone tą samą literą nie różnią się statystycznie istotnie (ANOVA, $p < 0,05$, test Tukeya jako post hoc)

Rycina 8. RDA przedstawia zróżnicowanie jednostek roślinnych ze względu na różnorodność roślin oraz liczebność wybranych drobnoustrojów glebowych. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zbiorowiska istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 17,7% zmienności, a oś druga – 12,2%

Rycina 9. RDA wskazuje na zależność pomiędzy liczebnością drobnoustrojów glebowych a badanymi parametrami gleby. Żadna z analizowanych zmiennych glebowych nie jest istotna dla zróżnicowania danych (test permutacyjny Monte Carlo, $p > 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 13,4% zmienności, a oś druga – 5,9%.

Rycina 10. RDA wskazuje na zależność pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a badanymi parametrami glebowymi. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zmienne istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 41,9% zmienności, a oś druga – 10,5%.

Rycina 11. RDA wskazuje na zależność pomiędzy liczebnością drobnoustrojów glebowych a sezonem badawczym. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują zmienną istotnie różniącą się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 6,8% zmienności, a oś druga – 2,4%

Rycina 12. RDA wskazuje na zależność pomiędzy aktywnością enzymatyczną gleby a sezonem badawczym. Wektory oznaczone na czerwono reprezentują wartości enzymów istotnie różniące się od pozostałych (test permutacyjny Monte Carlo, $p < 0,05$). λ – wartość własna osi; oś pierwsza wyjaśnia 28,1% zmienności, a oś druga – 24,6%.

Załączniki

Załącznik 1. Podsumowująca tabela fitosocjologiczna

Gatunek rośliny	<i>Molinietum caeruleae</i>			<i>Alopecuretum pratensis</i>			<i>Arrhenatheretum elatioris</i>			<i>Lolio-Cynosuretum</i>			zb. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>		
	No. ¹	C ²	D _{sr} ³	No. ¹	C ²	D _{sr} ³	No. ¹	C ²	D _{sr} ³	No. ¹	C ²	D _{sr} ³	No. ¹	C ²	D _{sr} ³
Gatunki charakterystyczne dla klasy <i>Molinio-Arrhenatheretea</i>															
<i>Achillea millefolium</i>	4	III	25	3	II	37.5	9	III	28.1	2	I	3.8	12	IV	37.5
<i>Anthoxanthum odoratum</i>							2	I	6.3	4	II	12.5	3	III	9.4
<i>Avenula pubescens</i>							10	III	31.3						
<i>Cardamine pratensis</i>	12	V	50	15	V	44.4	6	II	18.8				5	II	13.1
<i>Centaurea jacea</i>	2	I	1.7				2	I	1.3						
<i>Cerastium holosteoides</i>	9	IV	37.5	7	III	21.9	11	IV	62.5	5	II	13.1	7	III	21.9
<i>Festuca pratensis</i>	9	IV	329.2	2	I	6.3				10	III	31.3	6	III	46.9
<i>Holcus lanatus</i>	2	I	7.3	14	V	212.5	8	III	81.3	7	III	21.9	7	III	21.9
<i>Lathyrus pratensis</i>	1	I	4.2	4	II	12.5	1	I	3.1				2	I	6.3
<i>Odontites serotina</i>	3	II	12.5												
<i>Plantago lanceolata</i>	6	III	62.5	7	III	21.9	13	IV	40.6	7	III	21.8	9	III	218.8
<i>Prunella vulgaris</i>	7	II	29.2												
<i>Ranunculus acris</i>				14	V	43.8	13	IV	68.8	5	II	13.1	14	IV	100
<i>Rumex acetosa</i>				9	III	28.1	12	IV	65.6				9	III	28.1

<i>Trifolium pratense</i>				4	II	12.5	16	V	106.3				12	IV	37.5
<i>Vicia cracca</i>	2	I	8.3	4	II	12.5	2	I	1.3				2	I	6.3
Gatunki charakterystyczne dla rzędu <i>Molinietales</i>															
<i>Alopecurus pratensis</i>				16	V	4844	12	IV	121.9	12	IV	65.6	15	V	159.4
<i>Carex cespitosa</i>	8	IV	33.3												
<i>Cirsium oleraceum</i>				2	I	3.8									
<i>Deschampsia caespitosa</i>	10	IV	41.7										3	II	9.4
<i>Equisetum palustre</i>	2	I	1.7										1	I	0.6
<i>Filipendula ulmaria</i>	1	I	0.8	4	II	10				1	I	0.6			
<i>Lathyrus palustris</i>	4	II	13.3												
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	5	III	14.2	9	III	25.6	4	II	40.6	2	I	6.3	15	V	156.9
<i>Lysimachia vulgaris</i>	8	IV	33.3				1	I	3.1						
<i>Lythrum salicaria</i>	3	II	5.8												
<i>Molinia caerulea</i>	12	V	3583												
<i>Poa palustris</i>				13	IV	125	2	I	6.3	1	I	3.1	13	IV	309.4
<i>Symphytum officinale</i>							1	I	3.1						
<i>Thalictrum flavum</i>	2	I	5	3	II	9.4							6	II	18.8
<i>Viola pumila</i>	2	I	8.3												
Gatunki charakterystyczne dla rzędu <i>Arrhenatherales</i>															
<i>Arrhenatherum elatius</i>							16	V	4063				3	I	37.5
<i>Bellis perennis</i>										11	IV	34.4	9	III	84.4

<i>Bromus hordaceus</i>							6	II	18.8	9	III	28.1			
<i>Dactylis glomerata</i>	1	I	4.2	5	II	15.6	13	IV	40.6	8	III	25	4	II	12.5
<i>Daucus carota</i>				3	II	6.9				1	I	0.6			
<i>Festuca rubra</i>	12	V	50										9	III	112.5
<i>Galium mollugo</i>				7	III	21.9	16	V	106.3	4	II	12.5	12	IV	37.5
<i>Geranium pratense</i>							1	I	0.6						
<i>Heracleum sphondylium</i>				4	II	12.5	13	IV	40.6	1	I	0.6	5	II	15.6
<i>Leontodon autumnalis</i>	5	II	17.5							3	I	9.4			
<i>Leucanthemum vulgare</i>							5	II	15.6				2	I	6.3
<i>Lolium perenne</i>	1	I	4.2	5	II	43.8	10	III	31.3	16	V	3938	2	I	6.3
<i>Poa pratensis</i>	10	IV	550	15	V	925	15	V	668.8	16	V	515.6	16	V	3563
<i>Polygala comosa</i>	1	I	0.8												
<i>Saxifraga granulata</i>							4	II	10						
<i>Taraxacum officinale</i>	2	I	8.3	12	IV	65.6	15	V	46.9	10	IV	143.8	13	IV	40.6
<i>Trifolium dubium</i>							2	I	6.3						
<i>Trifolium repens</i>	2	I	8.3	8	III	25	3	II	37.5	10	IV	115.6	12	IV	278.1
Gatunki charakterystyczne dla rzędów <i>Trifolio fragiferae</i>-<i>Agrostietalia stoloniferae</i> i <i>Plantaginetalia majoris</i>															
<i>Agrostis stolonifera</i>	10	IV	154.2							6	II	18.8	7	III	21.9
<i>Alopecurus geniculatus</i>				2	I	6.3				1	II	3.1			
<i>Carex hirta</i>										4	II	12.5			
<i>Festuca arundinacea</i>	4	II	13.3	4	II	68.8									

<i>Inula britannica</i>	3	I	50												
<i>Plantago major</i>				2	I	6.3	7		21.9	9	III	84.4	6	II	18.8
<i>Poa annua</i>										3	I	9.4			
<i>Potentilla anserina</i>	11	V	334.2				4	II	12.5						
<i>Potentilla reptans</i>	3	I	12.5				1	I	3.1	1	I	3.1	2	I	6.3
<i>Ranunculus repens</i>	9	IV	150	8	III	25	8	III	25	6	II	18.8	16	V	50
<i>Rumex crispus</i>				4	II	12.5	1	I	0.6	1	I	0.6	1	I	3.1
<i>Triticum repens</i>										1	I	3.1	1	I	3.1
Gatunki charakterystyczne dla klasy <i>Phragmitetea</i>															
<i>Carex acuta</i>	8	IV	70.8	8	III	25	1	I	3.1				9	III	28.1
<i>Galium palustre</i>	2	I	1.7										3	II	9.4
<i>Iris pseudacorus</i>	2	I	5												
<i>Mentha aquatica</i>	12	V	50										4	II	12.5
<i>Peucedanum palustre</i>	3	I	2.5												
<i>Phalaris arundinacea</i>	2	I	5	11	IV	90.6	1	I	3.1				11	IV	231.3
<i>Phragmites australis</i>	12	V	50				1	I	0.6						
<i>Rumex hydrolapathum</i>				2	I	6.3									
<i>Sium latifolium</i>													2	I	1.3
Inne															
<i>Artemisia vulgaris</i>													1	I	0.6
<i>Bromus inermis</i>										1	I	3.1			

<i>Calystegia sepium</i>	6	III	15	2	I	6.3									
<i>Capsella bursa-pastoris</i>				5	II	13.1	3	II	9.4	2	I	3.8	1	I	3.1
<i>Cerastium arvense</i>							1	I	3.1						
<i>Chenopodium album</i>							1	I	0.6						
<i>Cirsium arvense</i>	1	I	4.2				2	I	6.3						
<i>Conyza canadensis</i>							1	I	0.6						
<i>Cynoglossum officinale</i>							1	I	0.6						
<i>Echinochloa crus-galli</i>							1	I	0.6						
<i>Eupatorium cannabinum</i>	4	II	10												
<i>Glechoma hederacea</i>	2	I	8.3	4	II	12.5	1	I	3.1				1	I	3.1
<i>Hydrocotyle vulgaris</i>	11	V	120.8												
<i>Hypericum perforatum</i>	1	I	0.8												
<i>Hypochoeris radicata</i>	6	III	15												
<i>Juncus articulatus</i>	10	IV	41.7												
<i>Lactuca serriola</i>	1	I	0.8												
<i>Linaria vulgaris</i>							2	I	6.3				1	I	3.1
<i>Luzula multiflora</i>	3	II	12.5												
<i>Melandrium album</i>							6	II	15.6				1	I	0.6
<i>Melandrium rubrum</i>	1	I	0.8												
<i>Polygonum persicaria</i>	1	I	0.8	3	I	6.9				2	I	6.3	2	I	6.3
<i>Rorippa palustris</i>				2	I	6.3									

<i>Rubus gracilis</i>	3	II	12.5												
<i>Rumex obtusifolius</i>				4	II	12.5							1	I	0.6
<i>Stellaria media</i>				4	II	12.5	2	I	6.3	1	I	0.6	1	I	3.1
<i>Urtica dioica</i>				3			1	I	0.6						
<i>Veronica arvensis</i>				3	I	9.4	2	I	6.3	3	II	9.4	2	I	6.3
<i>Veronica chamaedrys</i>				3	II	9.4	6	II	18.8						
<i>Veronica persica</i>							2	I	6.3						
<i>Vicia hirsuta</i>	2	I	1.7										3	I	4.4
<i>Vicia sepium</i>				2	I	6.3									

¹ – liczba wystąpień, ² – stałość fitosocjologiczna, ³ – średni współczynnik pokrycia

16	gatunki wyróżniające daną jednostkę syntaksonomiczną
11	inne gatunki z wysokim współczynnikiem pokrycia w danej jednostce syntaksonomicznej

Spis opublikowanych artykułów wchodzących w skład dysertacji doktorskiej

**Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands
under Different Use Practices: A Review**

Mencel, J., Mocek-Płóćiniak, A., Kryszak, A.

Agronomy, 12, 1136. (2022)

<https://doi.org/10.3390/agronomy12051136>



Review

Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review

Justyna Mencil ^{1,*} , Agnieszka Mocek-Plóćiniak ¹ and Anna Kryszak ²¹ Department of Soil Science and Microbiology, Poznań University of Life Sciences, Szydlowska 50, 60-656 Poznań, Poland; agnieszka.mocek-plociniak@up.poznan.pl² Department of Grassland and Natural Landscape Sciences, Poznań University of Life Sciences, Dojazd 11, 60-631 Poznań, Poland; anna.kryszak@up.poznan.pl

* Correspondence: justyna.mencil@up.poznan.pl

Abstract: The usage of grassland significantly affects the microbial and biochemical parameters of soil epipedons. The use of grasslands (by mowing, grazing, and mowing and grazing) affects the dominance of bacteria in abundance relative to fungal populations. This was particularly noticeable when manual mowing was applied. In general, the highest number of microorganisms occurred during spring and summer, which should be associated with the intensity of growth of root systems of grass vegetation. It was noted that the grazing system caused an increase in the enzymatic activity of urease and slightly less dehydrogenases and acid and alkaline phosphatase. Therefore, microbial abundance and enzymatic activity are considered as indicator parameters to evaluate the biological soil environment. They are highly probable estimates of soil fertility and ecosystem biodiversity.

Keywords: grassland; use of meadows and pastures; bacteria; fungi; enzyme activity



Citation: Mencil, J.; Mocek-Plóćiniak, A.; Kryszak, A. Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review. *Agronomy* **2022**, *12*, 1136. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051136>

Academic Editor: Nicolas Chemidlin Prevost-Boure

Received: 20 April 2022

Accepted: 6 May 2022

Published: 8 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Grassland is one of the largest ecosystems in the world. It covers about 3.5 billion hectares (ha), which is 26% of the world's land area and 70% of agricultural land [1]. Meadows and pastures are ecosystems closely related to human activity. Most of them developed as a result of using cleared forest areas for agricultural purposes. Due to the growth of the human population and the dynamic development of civilization, fertile land began to be used for growing crops in fields, whereas marginal lands of lower fertility as well as wetlands were used as meadows and pastures. Their maintenance and use are related to pastoralism and animal husbandry [2].

Grasslands can be divided into natural, semi-natural, and anthropogenic ones. Grasslands used for agricultural purposes for more than 5 years are defined as permanent, whereas those used for a short time on arable lands and in a crop rotation system are defined as alternate lands [3].

The sward of grasslands is dominated by grasses as well as sedges, rushes, dicotyledons, and small shrubs, which can be chewed by grazing animals. The form of grassland use determines the species structure of the sward. Species of tall grasses predominate in hay meadows. On the other hand, species of short grasses predominate in the sward of pastures, whereas the share of selected species of tall grasses is small [2,4]. Apart from grasses, legumes play an important role in the floristic composition of the sward of grasslands. They form symbiotic systems with bacteria of the *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, and *Sinorhizobium* genera, thanks to which they can fix atmospheric nitrogen. Thus, they enrich the soil with nitrogen and contribute to the intensive development of plants and the formation of protein-rich biomass. Apart from that, the grassland sward also includes species of herbs and weeds—the functional group characterized by a higher content of protein, carbohydrates, minerals, vitamins, and other active substances which are beneficial for animal health [2,4,5].

Permanent grasslands can be used as hay meadows and pastures as well as for both of these purposes in an alternating manner. Their species composition depends on the form and intensity of their use [2,6–8]. It affects the quality and quantity of animal feed obtained from these grasslands [9,10].

Apart from being a source of feed, grasslands have many other ecosystem functions, which are important for humans. They have key functions in nature: climatic, hydrological, protective, filtration and phytosanitary, scenic, aesthetic, and biocenotic. Grasslands are a refuge for numerous species of plants and animals, including rare and protected ones [6,11,12].

The richness and floristic diversity of plant communities are mostly influenced by the habitat conditions, including the type of soil and its abundance of nutrients, water conditions, and the presence of soil microorganisms [13,14]. Microorganisms and plant cover determine the nature and direction of biogeochemical processes as well as physicochemical changes occurring in soils [15]. Moreover, they have considerable influence on the fertility of soil and its yield potential as well as the yield of crops [14]. Bioactivity and interactions occurring in the soil environment are the basis of various ecosystem functions, including the circulation of nutrients, pathogen control, water infiltration, and the formation of trophic chains.

Bacteria, which are prokaryotic organisms, easily adapt to a given environment. They widely colonize both natural and anthropogenic environments. Bacteria of the *Azotobacter* spp. and *Azospirillum* spp. genera are particularly important. These free-living soil microorganisms are capable of fixing atmospheric nitrogen and making it available in an absorbable form to higher plants. *Azotobacter* are aerobic bacteria, producing a wide range of compounds, vitamins, and siderophores stimulating the growth and development of plants [16]. They are used as a potential indicator of soil fertility [17]. These microorganisms strongly react to chemical and physical factors in soil. Therefore, fluctuations in their population are a good indicator of changes occurring in the environment. There are seven known species of bacteria of the *Azotobacter* genus, among which *Azotobacter chroococcum* is believed to be the most common in various soils around the world. The abundance of *Azotobacter* in neutral and alkaline soils rarely exceeds several thousand cells per 1 g of soil. These bacteria are almost absent from acidic soils (pH < 6) or occur in them in small amounts [16]. *Azospirillum* spp. bacteria (also widespread around the world) occur in large populations—up to 10^7 cells per g of rhizosphere soil. These bacteria are associated with the roots, stems, and leaves of various plants (mainly cereals and grasses), grown both in temperate and tropical climates [18–20]. This group of bacteria is equally important because they can activate the mechanisms fighting plant pathogens (bioprotectants). Apart from that, they improve the uptake of nutrients (biofertilizers) and are capable of producing plant hormones (biostimulants) [18].

Actinobacteria, which belong to the group of Gram-positive bacteria, are commonly found in soil, composts, water, and bottom sediments. They contribute to the degradation of plant and animal residues as well as hard-to-degrade compounds (lignin, chitin, cellulose, higher fatty acids). They are capable of synthesizing various enzymes, e.g., nitrogenase, as well as substances with antibiotic effects, e.g., erythromycin. Actinobacteria participate in the formation of humic compounds in soil [21]. Organic matter is one of the basic components of soil. It consists of dead plant and animal remains as well as decomposition products and secondary synthesis of humus compounds. The humus positively influences the formation of the aggregate structure of soils, improving water and air relations. In addition, humus influences soil color and, thanks to its dark color, improves soil thermal properties. Organic matter is a source of plant nutrients (mainly nitrogen and phosphorus) and influences the physicochemical properties, e.g., stabilizes the soil pH. Soils rich in organic matter have a higher biological activity [22,23]. Actinobacteria also produce a wide range of secondary metabolites, which play an important role in the soil environment. For example, they improve the availability of fertilizer ingredients and many other micronutrients, thus promoting plant growth [24].

Fungi play a fundamental role in various physiological processes, in the uptake of minerals and water, chemical transformations, and the biosynthesis of biostimulants supporting plants during their exposure to environmental stresses (drought, salinity, contamination with organic and mineral xenobiotics). Plants associated with mycorrhizal fungi are capable of more intensive uptake of nutrients and are better supplied with water, macro- and micronutrients. They are characterized by greater resistance to drought, frost, high temperature, acid rain, heavy metals, and pathogens [20].

Soil enzymes are another important indicator in the ecology of soil microorganisms, as they determine the direction of biochemical changes occurring in soil. They participate in the circulation of elements and play an important role in the synthesis and decomposition of humus, the releasing and supplying of mineral substances to plants, the fixation of molecular nitrogen, detoxification of xenobiotics, nitrification, and denitrification [25,26]. Biochemical reactions occurring in grassland soils are conditioned by various complex factors, which often interact with each other (Figure 1) [27–35].

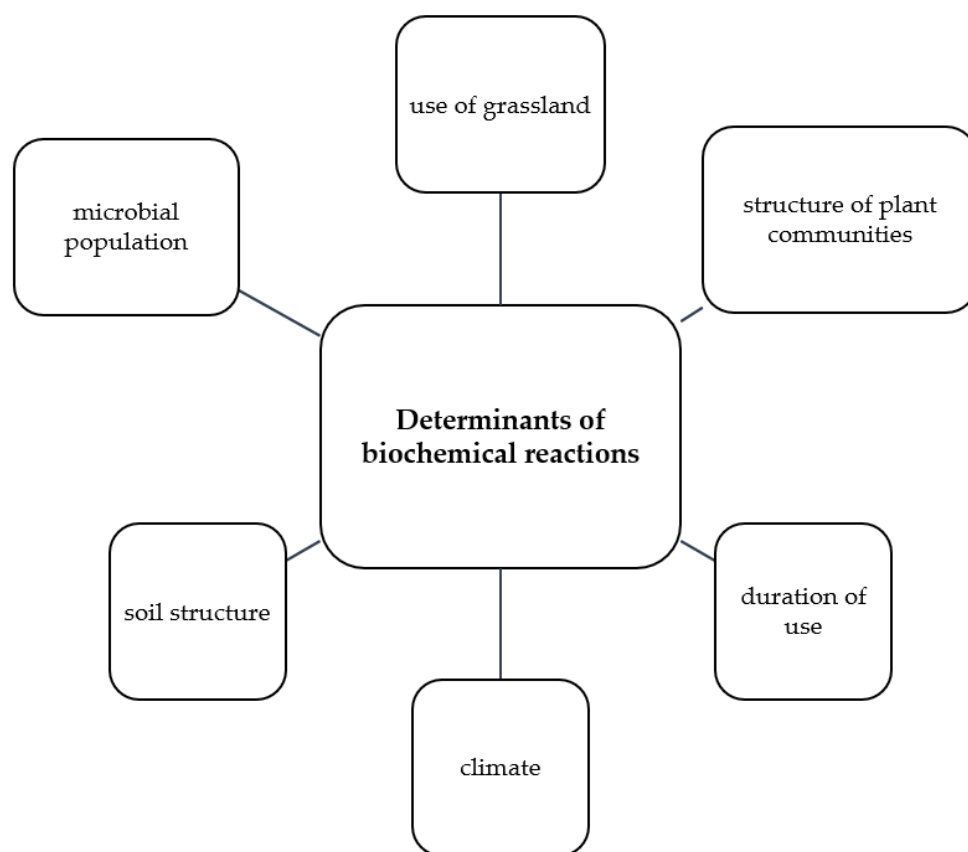


Figure 1. Determinants of biochemical reactions occurring in grassland soils.

Currently, there is a lack of sufficient research on the correlation between grassland usage and biological activity in topsoil in terms of microbiota abundance and activity, especially in Poland. Therefore, this paper focuses primarily on studies conducted in Poland and compares them with results obtained in other countries and explains how various forms of use of meadows and pastures influenced selected biological parameters of superficial soil horizons.

2. Types of Grassland Use

Grassland is characterized by complex interactions between plants and soil, between plants and animals, and between soil and animals [36]. The use of grassland involves the removal of biomass while leaving minimal amounts of plant residues and related nutrients [37].

The direction of use and habitat conditions affect the floristic composition of the sward. According to Tälle [8], in southern Europe, the floristic richness of meadow communities is more influenced by mowing, whereas in Central Europe, it is more influenced by grazing. Some authors [38] indicated that mowing and grazing have similar effects on the number of grassland species. They also observed that when grassland was used for mowing, the Shannon index used for the assessment of biodiversity assumed higher values.

Li et al. [39] found that the yield of the aerial biomass of the sward decreased significantly as the intensity of grazing increased. On the other hand, the highest species biodiversity in the sward was observed when it was moderately used as a pasture. A positive effect of the extensive use of the sward was also observed in the UK [40].

However, it is important to note that, so far, there have been no results of studies on interactions between the direction of use of grassland and its floristic diversity and the biochemical processes occurring in soil as a result of the microbial activity [38].

2.1. Use of Grasslands by Mowing

The biomass harvested from meadows is used for the production of hay or silage with a higher dry matter content. The intensity of use and habitat conditions affect the biodiversity of meadows and their natural and functional value [41,42].

Mowing is an important factor influencing the formation of meadow communities with their characteristic combination of species. The hay meadows should be dominated by tall grasses with high productivity, but there should also be low grasses with strong ground cover and rich foliage [6]. In view of the fact that this treatment is cyclical, the date of the first mowing and the frequency of these procedures have a particularly significant influence on the botanical composition of meadows [6,43].

The date of mowing meadows depends on their species composition. Under the optimal habitat conditions, i.e., with a supply of water and tropism, a high yield of biomass can be harvested from meadows. In view of the fact that the development phase of the dominant grass species, i.e., the beginning of the heading phase, is the main determinant of mowing time, the number of mowings depends on the species composition of the sward. It is noteworthy that under optimal habitat conditions of Central Europe, there may be even as many as three or four mowings. Extensive use of grasslands is recommended, i.e., mowing twice a year, in order to maintain high biodiversity of the sward. However, the number of mowings depends on the sward regrowth rate, which is mainly determined by the water conditions [44].

2.2. Use of Grasslands by Grazing

Grazing also has a significant influence on the sward of grasslands. The pasture is a place where plants and animals interact. By removing biomass, animals affect not only the species composition of the grassland sward but also the physicochemical conditions of soil and its biological characteristics [45,46].

Grazing animals leave their solid and liquid excrements on grazed areas, providing nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, and magnesium to the soil. Twardy and Mikołajczyk-Rusin [47] emphasized that rational pasture use makes it possible to reduce the need for mineral fertilizers.

Grazing is one of the factors limiting the intensive processes of decomposition of organic matter and its mineralization on organic soils. The pressure from grazing animals' hooves compacts the topsoil, which promotes the formation of a dense and elastic sward. On mineral soils, however, intensive animal browsing has a negative effect on the physical and chemical properties of the turf, e.g., it reduces the porosity of the soil and thus limits water and air retention [48–50].

The proper botanical composition of grasslands guarantees a diversified fodder base for animals. A good pasture should consist of 30% tall grasses, 50% low grasses, 10–20% legumes, and 10% other dicotyledonous plants, the so-called herbs and weeds group. The most preferable tall grass species are *Festuca pratensis*, *Phleum pratense*, and *Dactylis*

glomerata, while short grasses are *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, and *Festuca rubra* [51]. As was the case with meadows, the intensity of use of pastures depends mostly on the habitat conditions. The starting date of grazing is determined by the pasture maturity, i.e., when the height of the sward is about 10–12 cm. The number of grazings is determined by the sward regrowth rate, which depends mainly on the climatic conditions. The duration of grazing, which should be short, is an important factor influencing the species composition of the sward. The species diversity of the pasture is influenced by the grazing system, i.e., the quarter (rotational), dosed, free, or continuous system. The dosed system, which is the most intensive, results in a considerable simplification of the sward species composition. Due to the high density of grazing animals, it has the greatest influence on the physical, chemical, and biological properties of soil [2,7] because it enables almost complete eating of the sward. The method of feeding is based on systematic, according to a predetermined grazing schedule, separation of animals from the pasture by means of portable fencing [52].

2.3. Alternate Use of Grassland by Mowing and Grazing

Sometimes, when the weather conditions are favorable, the alternate use of grasslands as hay meadows and as pastures is promoted in order to maintain the right proportion between the tall and short plant species in the sward [53]. According to Kamiński and Chrzanowski [54], alternate use of grasslands by mowing and grazing is characterized by the highest share of tall grasses in the sward, and the remaining species constitute about 25%, which ensures the optimum level of yielding and provides a high quality of forage obtained.

Thanks to this use, it is possible to regulate the floristic composition of the sward and prevent the appearance of undesirable species, i.e., weeds. For example, on fertile soils with a high content of humus and on peat soils, this system of grassland use prevents the development of species of low natural and functional value, such as umbellifers, e.g., *Heracleum sphondylium* and *Aegopodium podagraria*, and complex plants, e.g., *Cirsium palustre* and *Cirsium oleraceum* [54].

Periodic changes in the use of grasslands, i.e., the alternate use of these areas as hay meadows and as pastures, prevent the development of weeds and the loss of species with high forage value. Thanks to this alternate use, it is possible to maintain the species structure of plants and the diversity of the plant community [2,6].

3. The Occurrence of Microorganisms in Grassland Soils

Soil microorganisms are responsible for the mineralization of organic compounds and the course of various biogeochemical cycles. They have an influence on the biodiversity of entire ecosystems, including the plant cover. They are responsible for the productivity of soil and its structure, and they also affect the circulation of elements in nature. The count and species composition of soil microorganisms depend mainly on the physicochemical properties of the pedon, the amount of nutrients, the type of soil, and the species composition of the plant community. Plants significantly influence the species composition of soil microbial communities through the release or loss of compounds from plant roots to the surrounding soil environment and decomposition of litter and roots [55–57].

3.1. Bacteria

As results from scientific research suggest, the populations of soil bacteria in grasslands used as pastures decrease with the soil depth. Hu et al. [38] observed that bacteria were the most abundant microbes found in grassy plots used for free grazing. Their share in the total amount of soil microorganisms exceeded 60% and amounted to $7.35 (\pm 0.44) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$. The content of Gram-positive bacteria ($2.52 (\pm 0.3) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$) was about half lower than the content of Gram-negative bacteria ($4.68 (\pm 0.31) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$). However, their count tended to decrease along with the depth of the pedon, which was related to the profile distribution of humus. The researchers found that the total count of actinobacteria in the soil of grasslands used for grazing amounted to $0.89 (\pm 0.11) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$, whereas in the soil

of the grasslands that were not used as pastures, the population of these microorganisms was $0.91 (\pm 0.11) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$, and it was relatively stable up to a soil depth of 30 cm. Significant correlations were found between organic matter, TN, TP, AP, NO_3^- -N, and total PLFAs, bacteria, G^+ bacteria, G^- bacteria, actinomycetes, and G^-/G^+ . These results indicate the effect of grass vegetation and changes in soil physicochemical properties on microbial biomass.

The research conducted at the USDA ARS High Plains Grasslands Research Station [58] compared the effects of continuous light grazing and continuous heavy grazing. The analysis of the pattern of the content of cellular phospholipids—PLFA (phospholipid-derived fatty acids)—proved that the counts of Gram-positive and Gram-negative bacteria in the intensive grazing system were lower than in the light grazing system. The same dependence was observed in the total bacterial count. Apart from that, Ingram et al. [58] and Liu et al. [59] noted that, in general, there were more microorganisms in the 0–5 cm soil layer than in the 5–15 cm layer, which was characteristic of steppe areas. It is probably due to the higher root density in the topsoil. Plant roots stimulate microbial activity by providing them with water-soluble compounds, including organic acids, sugars, or amino acids. It follows that in no other part of the soil will microbial activity be as dynamic as in the root zone. The researchers observed that actinobacteria were the second most numerous group of soil microorganisms, regardless of the intensity of grassland use. As was the case with fungi, the largest communities of actinobacteria were found in light grazing soils, whereas intensive grazing was accompanied by the smallest communities of actinobacteria. The authors of the study noted that light to moderate grazing favors both the maintenance of soil physicochemical properties and the availability of resources for soil biota and processes controlled by them [58].

Qu et al. [30] found that the diversity of the bacterial population depended on the intensity of grazing and the botanical composition of the sward. The research conducted on grazing grasslands at the Grassland Ecological Research Station of Northeast Normal University (Jilin Province, China) showed that there were larger concentrations of bacteria under specific grass species (*Leymus chinensis*, *Phragmites australis*, *Calamagrostis epigeios*, *Chloris virgata*). Apart from that, the research showed that the lighter grazing system was better for both the diversity of bacteria and the species composition of plant communities. In the intensive grazing system, the indicators of plant biodiversity and the counts of bacterial populations decreased gradually. However, the plant species composition was the key factor influencing the variability of the microbial composition, whereas the intensity of use was of secondary importance. The soil N/P ratio, total nitrogen, and pH also significantly influenced the composition of bacterial communities, which affected the species composition of plant communities growing in a specific pasture.

In a paper synthesizing the results of the responses of soil microbial community size and SR to grazing, it was found that both the moderate and intensive systems of using grassland as pastures had a negative influence on the populations of soil bacteria because their counts decreased by 0.28% and 28.12%, respectively. The analysis of the counts of bacteria and soil depth showed that grazing significantly reduced the microbial communities—by 8.17%, 21.20%, 18.12%, and 69.52% at soil depths of 0–10, 10–20, 20–30, and >30 cm, respectively. The authors emphasized that soil microbial community size can determine soil carbon dynamics under grazing. Furthermore, they indicated that grazing intensity can be useful in predicting soil C [60].

Musiał et al. [19] conducted a study on the grasslands located in Brody, at the Experimental Station of the Poznań University of Life Sciences, Poland, and observed that the type of grassland use and the weather conditions significantly influenced the microbiological composition of soil. During the three-year experiment, *Azotobacter* spp. bacteria reacted significantly to the type of grassland use. At the beginning of the first year of the experiment, the count of these bacteria in the soil under mown grassland decreased significantly—during the first mowing cycle, it amounted to $24.7 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM}$ of soil, whereas the count of these bacteria in the soil under the grassland used as a pasture was $55.5 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM}$ of

soil. However, during the research, *Azotobacter* began to react differently to the soil use, and the count of these bacteria changed. At the end of 2006, the *Azotobacter* population was significantly higher under the mown grassland ($49.1 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM of soil}$) than under the grassland used for grazing ($29.7 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM of soil}$). However, the grassland use did not cause significant differences in the total count of bacterial populations. Out of the twelve grassland use cycles during the three years of the study, there were three mowing cycles with higher counts of bacteria—the last cycle in 2006, the first in 2007, and the last in 2008. By contrast, there were only two cycles with higher counts of bacteria in the grasslands used for grazing. The researchers found that among all microorganisms under analysis, actinobacteria were the most sensitive to the way the plant community was used. The highest abundance of actinobacteria was noted during the fourth mowing cycle combined with grazing. In general, there were larger populations of actinobacteria under the mown grassland. The greatest disproportion was observed during the last mowing cycle in the last year of the study (2008), when the count of actinobacteria under the mown meadows was $102.4 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM of soil}$, whereas the count of these microorganisms under pastures amounted to $43.9 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM of soil}$. The researchers also noted a high abundance of actinobacteria during dry periods. The authors observed a regularity in the effect of actinobacteria on inorganic N content, irrespective of the sward management system, which significantly underlines the importance of this group of microorganisms in N transformations in muck soil. According to Solecka et al. [61], actinobacteria can adapt to climatic conditions (humidity, sunlight, and temperature).

The comparison of the effects of manual and mechanical mowing of meadows showed that the mowing method influenced only the count of proteolytic bacteria. The highest count of these bacteria was found in the soil under unmown grasslands, whereas the lowest count was found in the soil under mechanically mown grasslands. Phosphate solubilizing bacteria reacted in the opposite way. There were greater counts of these bacteria in the soil under the mown meadows than in the unused meadows. The populations of vegetative forms of bacteria and ammonifying bacteria increased after mowing. By contrast, the *Azotobacter* bacteria were more abundant before mowing [62]. However, a higher abundance of proteolytic bacteria was found in soil with no mowing, which is most likely due to the slow mineralization dynamics of organic compounds. Kizilova et al. [63] reported that in mountain meadow soils, this is due to the high accumulation of C and N in poorly moistened organic matter.

According to Chmolewska et al. [64], the mown meadows (in the late summer, most of them are extensively grazed) in the Outer Carpathians (the Beskid Sądecki Mountains) had 47% of bacteria in the total count of soil microorganisms, whereas the share of bacteria under fallow land amounted to 46%. The authors noted that this difference was statistically significant. The fact that the relative PLFA content of the bacteria in the hay meadows was higher than in the fallow meadows may have been caused by the volume of the plant root biomass. The share of actinobacteria in the total count of microorganisms in the soils under the hay meadows in the Outer Carpathians was only about 5%. The researchers indicated that actinobacteria were the main factor affecting the similarity of the communities of soil microorganisms.

Ilmarinen et al. [65] conducted a study on the soil microbiome under meadows located in central Finland, which were mown with different frequencies. The researchers observed that the method of use (no mowing, mowing once a year, mowing twice a year) did not have much influence on the bacterial respiration (BR) and substrate-induced respiration (SIR) of soil microbes. BR and SIR are measures of the amount of carbon dioxide released from soil that is released by the decomposition of soil organic matter and plant litter. The difference is that in SIR, glucose is additionally induced into soil samples. These parameters are used to estimate the biomass of soil microorganisms [65,66].

The research conducted by Bei et al. [67], at the Environmental Monitoring and Climate Impact Research Station Linden, Germany, showed that the occurrence of soil microorganisms in meadows mown twice a year had a seasonal nature. The authors pointed to the

domination of bacteria over other soil microorganisms, and this observation was consistently confirmed by their research. As the seasons of the year changed (winter–summer), the bacterial population increased considerably. However, the α -biodiversity at the genus level remained almost identical between the two seasons.

3.2. Fungi

According to Hu et al. [38], fungi had the smallest share among the entire microbial population analyzed in the study conducted on the grassland located in Taibus Banner in Inner Mongolia. The total count of fungi in the soil of the grasslands used as pastures was $0.75 (\pm 0.24) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$. The most fungi were found in the upper soil layers. Their count tended to decrease significantly along with the soil depth. The total count of fungi in the soil of the grasslands not used as pastures was $0.75 (\pm 0.24) \text{ nmol g}^{-1} \text{ DW}$. The fungal population also tended to decrease with the soil depth, but this trend was less noticeable than in the grasslands used as pastures. The authors indicated a strong and positive correlation of soil water and belowground biomass with fungi.

In the soils belonging to the USDA ARS High Plains Grasslands Research Station, the count of fungi in the top layer amounted to $2.6\text{--}3.2 \text{ nmol g}^{-1}$. The highest abundance of fungi was noted in pastures used for light grazing, whereas the lowest was observed in those used more intensively. However, in the grasslands used for more intensive grazing, the fungal population in the lower soil layer (5–15 cm) was slightly greater than in the 0–5 cm layer. In addition, it was found that lightly grazed conditions had higher fungal concentrations and a lower ratio of bacteria to fungi compared to heavily grazed conditions [58].

Zhao et al. [60] proved that the light and moderate grazing intensity increased the total abundance of fungal communities by 17.01% and 0.80%, respectively, whereas intensive grazing decreased the abundance of these communities by 16.48%. Moreover, the researchers observed that the total count of fungi decreased with the soil depth as follows: 16.64%, 12.96%, and 56.66% at depths 10–20, 20–30, and >30 cm, respectively. However, the abundance of fungal communities in the top layer (0–10 cm) increased by 22.45%. It is worth noting that the authors noted strong correlations between grazing duration and response rates of total microbial community size. Grazing duration was more significant than SOC or TN.

According to Musiał et al. [19], despite the high variability during the three-year study period, the abundance of fungi was similarly influenced by the sward management system. In the first year of the experiment, there was a visible response after the third mowing and grazing cycle. The fungi content in the soil under the mown grasslands amounted to $8.6 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM}$ of soil. It was five times greater than in the soil under the grasslands used as pastures, where it amounted to $1.6 \text{ cfu g}^{-1} \text{ DM}$. This trend was also observed in the following years of the research. The authors emphasized that the greatest increase in fungal abundance occurred in response to the expansion of *Dactylis glomerata* in mowed grassland. They explained this by the drying and soaking process, which then creates favorable conditions for the proliferation of mold fungi [68,69].

The share of fungi in the hay meadows of the Outer Carpathians amounted to 11% of the total structural biodiversity of the microorganisms analyzed with the PLFA method. The content of arbuscular mycorrhizal fungi ranged from $5.24 \text{ nM g dwt}^{-1}$ to $10.68 \text{ nM g dwt}^{-1}$, depending on the meadow under analysis. The authors suggested that the effect of microbial community structure on higher respiration rates in meadow soils may be related to the assumption that mycorrhiza is involved in total soil respiration [64]. Berg and McLaugherty [70] suggested that mycorrhizal fungi are responsible for respiration bursts following decomposition of humus.

Ilmarinen et al. [65] indicated that regardless of the frequency of mowing Finnish meadows, it had a neutral effect on the population of mycorrhizal fungi. Grassland use by mowing had no effect on the overall AM colonization rate of plant roots nor on the intensity of AM colonization and the abundance of parent fungi in colonized root parts. It

may have been caused by the species composition of the meadows and the fungal reaction to defoliation.

The winter and summer analyses of the occurrence of fungi in meadows mown twice a year showed a high diversity of the species composition. According to Bei et al. [67], the growth of the fungal population may have been caused by the summer growth of roots followed by arbuscular mycorrhization.

According to Józefowska et al. [62], the occurrence of fungi in the meadows mown twice a year in the Carpathians depended on the mowing method and date. The measurements taken in June showed higher values for all mowing methods than the measurements taken in October. In June, the highest count of fungi was measured in the manually mown meadows, whereas the lowest was noted in the mechanically mown meadows. The analyses conducted in October showed the highest count of fungi in the mechanically mown meadows and the lowest in the unmown ones.

The results of the research conducted in the Romanche River valley in the central French Alps show differences between the grasslands used alternately as hay meadows and pastures (mown meadows) and the meadows used for light grazing (unmown meadows). The MPN (most probable number) statistical method was used for the analysis of the area of mown and unmown grasslands. The two types of grassland use resulted in significant differences in the count of mycorrhizal diaspores. The count of the diaspores of arbuscular mycorrhizal fungi in 100 g of soil on the grasslands used in the alternate hay meadow and pasture system was 15 times greater than in the unmown grasslands. However, the authors found that cessation of mowing negatively affected AMF infection potential as well as plant growth. In addition, cessation of mowing resulted in an increase in endophyte infection on leaves and a decrease in mycorrhizal density, which may suggest links between these groups of fungal symbionts [71].

4. Enzyme Activity in Grassland Soils

The enzyme activity is a sensitive indicator of the function of the ecosystem. It shows what changes take place in the soil and reflects the trends and nature of biogeochemical cycles. By analyzing the enzyme activity it is possible to determine changes in the biological and physicochemical properties of soils [25]. The activity of enzymes depends on their abundance, catalytic efficiency, and the presence of other compounds than enzymes. The catalytic efficiency is affected by the species of soil microorganisms, temperature, pH, the abundance of water and air in soil, and the content of mineral and organic compounds. These parameters are largely stimulated by the way of grassland use [72].

Dehydrogenases (oxidoreductases) are very sensitive to external factors. Therefore, their activity is used as an ecotoxicological indicator. These enzymes play an important role in the transformation of organic carbon. Apart from that, they are a metabolite involved in the production of ATP. Dehydrogenases are very important as their activity levels are taken as an indicator of overall microbial activity due to their intracellular presence in all living microbial cells [26,73].

Phosphatases (hydrolases) are responsible for stimulating the transformation of organic phosphorus compounds into inorganic phosphates, which are an available form of this element to plants and soil organisms. There are acid phosphatase (pH 4–6) and alkaline phosphatase (pH 8–10). The presence of these enzymes in soil is a measure of organic phosphorus mineralization and soil biological activity. Acid phosphatase is secreted mainly by plant roots and fungi. Alkaline phosphatase is a good indicator of the soil pH [26,74]. In addition, plant-growth-promoting endophytes of the genera *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, and *Rhodococcus* improve phosphorus assimilation and stimulate plant growth and development. Many endophytic bacteria, by secreting small-molecule organic acids and phosphatases, facilitate phosphate solubilization and thus provide phosphorus to plants [75,76].

Urease (hydrolases) can be found mainly in plant cells and soil microorganisms such as fungi and bacteria. The availability of urease in soil indicates nitrogen transformation.

Therefore, it can be used as a measure of the availability of nitrogen to plants. The level of urease activity shows the level of androgenization of the soil environment because the only factor limiting the activity of this enzyme is the availability of urea in soil [26,77].

Proteases (hydrolases) are responsible for the hydrolysis of peptide bonds. They are mostly found in bacteria and, to a lesser extent, in fungi. There are two main groups of proteases: peptidases, which release extreme amino acids and dipeptide units from proteins and peptides, and proteases (proteinases), which cleave the internal peptide bonds of protein molecules released by microorganisms. These compounds indicate the rate of mineralization of organic nitrogen compounds in soil [26,78].

Catalase (oxidoreductases) protects cells from H_2O_2 —their natural substrate which has toxic properties. These enzymes are present in plant and animal cells. Catalase is also produced by many prokaryotic and eukaryotic organisms [26,79,80].

Bielińska et al. [81] analyzed the soils at three research sites—Kały (PLH060010), Stawska Góra (PLH060018), and Zachodniowołyńska Dolina Bugu (Western Volhynia Bug River Valley) (PLH060035)—and observed differences in the levels of their enzyme activity. The highest enzymatic activity of soil was observed in Gródek, and this was associated with a significantly higher content of total organic carbon and nitrogen. Other authors also indicate that the level of soil enzyme activity is closely related to the content of organic matter in the soil [81–83]. However, in general, the soils where sheep were grazed were characterized by higher activity of dehydrogenases, acid and alkaline phosphatases, and urease than the wasteland soils. In the second year of the research, at one of the sites, the urease activity amounted to $19.40 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ on wastelands, whereas on pastures, it was $26.38 \text{ mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Table 1).

Table 1. Effect of grassland use on enzymatic activity.

Use of Grassland	Enzyme	Enzyme Response	Reference
Extensive grazing	Dehydrogenases	increase	[72,81,84–86]
	Alkaline phosphatase	increase	[64,84,87,88]
	Acid phosphatase	increase	[64,72,84,88,89]
	Urease	increase	[64,72,81,84,85,89,90]
	Proteases	no response	[90,91]
	Catalase	decrease	[87,92]
Mowing	Dehydrogenases	increase	[62,86,93,94]
	Alkaline phosphatase	increase	[64,95–97]
	Acid phosphatase	increase	[64,95]
	Urease	decrease	[97]
	Proteases	decrease	[94,98]
	Catalase	increase	[92,94,97]

It may have been caused by the influx of urea (urease substrate) into the soil environment. The main sources of urea (the final product of protein metabolism in terrestrial animals) in the soils on which sheep are grazed are animal excrements, as well as fragments of the tissues and cells of the soil micro-, meso-, and macrofauna, plant residues, and microbial cells [71]. The highest activities of dehydrogenases and acid and alkaline phosphatases were also noted at the same site due to the high content of organic matter. Animal excrements in the soil environment are an additional source of organic matter, macro- and microelements, and an additional source of enzymes secreted by numerous species of bacteria and fungi, which can be found, for example, in sheep urine and feces [85]. Livestock grazing may improve the diversity of herbaceous plants by compacting the soil and thinning out dense groups of trees and shrubs. In addition, animals also contribute to the seed dispersal of many plants; for example, sheep in their wool and on their hooves

carry seeds [99]. Bielińska et al. [81] observed a reaction to the change in the grassland use as early as the first year of the research, whereas in the second year, the enzyme activity in the grasslands used as pastures was 1.5 times higher. The differences in the enzyme activity may have been caused by different types of soil and the botanical composition. Due to the fact that vegetation has a diverse species composition and there are different species of bacteria inhabiting plant roots, substrates specific to enzymatic reactions accumulate in soil.

Cui and Holden [90] in their study analyzed, among other things, the effect of grassland stocking rate on the enzymatic activity of soils. The researchers found that this factor had no effect on the protease activity, but it significantly increased the urease activity (Table 1). The greater the animal's density was, the higher the urease activity was because larger amounts of urea, which is the main substrate for this enzyme, were supplied to the soil environment. Apart from that, the researchers found that increased animal density had a positive effect on the activity of nitrogen-related enzymes in both the top and deeper soil layers. On the other hand, the carbon-related enzymes exhibited increased activity only in the deeper soil layers, i.e., 10–20 cm.

The research comparing the enzyme activity in non-grazing soils (grazing finished in one field in 1998 and in the other field in 2002) and in soils used as pastures revealed a significant decrease in the enzyme activity, reflecting the grassland use. The highest enzyme activity was noted in the places where grazing ended earliest (Table 1). The research was conducted at three soil depths. The activity of urease and alkaline phosphatase decreased with the soil depth, but catalase exhibited the highest activity in the middle soil layer, i.e., at 10–20 cm. There were significant differences in the activity of urease and alkaline phosphatase in the topsoil [87].

Chmolewska et al. [64] compared the enzyme activity in wastelands and meadows mown once a year (in the late summer, most of them are extensively grazed) and observed that even though the meadow was mown so rarely, the procedure caused an increase in the enzyme activity. Acid and alkaline phosphatases and urease reacted positively to mowing and light grazing (Table 1). Urease exhibited the greatest difference in the activity level, whereas alkaline phosphatase exhibited the smallest difference in the activity level.

According to Futa et al. [84], the use of grassland as pastures significantly increased the activity of soil enzymes. The researchers analyzed soils used as pastures for horses, sheep, and both horses and sheep in the same year. For sheep, the soil pH was 6.17–7.17 and for horses pH = 6.96–7.35, which did not significantly affect the enzymatic activity of the tested soils. The soils on which horses were grazed exhibited the highest enzyme activity. It was two to three times greater than in the meadow which was not used as a pasture. Sheep grazing resulted in the lowest activity of soil enzymes. Among the three enzymes under analysis, urease exhibited the highest activity, followed by dehydrogenases and phosphatases (Table 1). The research revealed a correlation between the activity of enzymes and the content of organic matter (organic carbon and total nitrogen) in the soil. The researchers noted lower enzyme activities in the second year of the study, which may have been caused by the humidity of the environment (lower rainfall) and the seasonal dynamics in the content of soil nutrients.

The research comparing the enzyme activity in sheep pastures with different conditions of plant communities revealed significant differences in the activity of dehydrogenases and urease, as compared with the control soils. The activities of these enzymes both in the sward with stable plant communities and the swards with disturbed plant development were 1.5 times higher than in the control samples (Table 1). There was a high acid phosphatase activity in the soils with stable plant development, which is characteristic of the roots of young plants [72].

According to Józefowska et al. [62], the method of mowing the meadow (hand mowing with a scythe and mechanical mowing with a lawnmower) and the way in which it is done affects the content of dehydrogenases in the soil (Table 1). The researchers observed that both the activity of microbial biomass carbon (MBC) and the dehydrogenases activity

(DHA) were generally higher in the autumn. Apart from that, the research showed that the mowing method significantly influenced the ratio of dehydrogenases to MBC and total organic carbon. Contrary to the count of microorganisms, the highest enzyme activity was observed when mechanical mowing was applied, both in the summer and autumn.

Herold et al. [88] observed that the microbial biomass and its structure as well as the enzyme activity depended on the soil parameters to a greater extent than on the way the meadows were used.

It is not easy to assess the quality of grassland soils due to the complexity of the soil environment and, above all, due to the variability of its conditions. Numerous studies have shown that grazing has a positive influence on the biochemical parameters of the soil environment. Nevertheless, further long-term monitoring is necessary for a complete, reliable, and objective characterization of the environmental processes occurring in permanent grasslands.

5. Conclusions

The main reason for the change in microbial diversity was the intensity of use and the way grasslands are used. Light grazing and mowing may increase the population of microorganisms, whereas intensive grazing has a negative influence on their abundance and biodiversity. Bacteria are the most numerous population of soil microorganisms regardless of the way meadows are used (intensity of use). The second most numerous group of microorganisms are fungi. Free grazing and mowing increase the activity of enzymes responsible for the metabolism of soil organic matter.

The variety of functions that grasslands perform is related to the principles of sustainable management (water conservation, food production, environmental protection), which is extremely important in times of rapid climate change. Therefore, protective measures and legal regulation of grassland use should be taken into consideration to preserve it in the best possible condition. It is necessary to limit very intensive grazing, which sterilizes soil, and instead promote light grazing and mowing, which stimulate both soil and plant biodiversity. The natural and economic conditions of the area have a great influence on the structural differentiation and change in the way the land is used. In recent years, there has been a steady and systematic decrease in the area used as grassland. This phenomenon should cause concern among both farmers and other social groups and should be monitored.

Author Contributions: Writing—original draft preparation, J.M.; writing—review and editing, A.M.-P., A.K. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding. This research was co-financed within the framework of Ministry of Science and Higher Education Programme as “Regional Initiative Excellence” in years 2019–2022, project number 005/RID/2018/19.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. FAO. Are Grasslands under Threat? Brief Analysis of FAO Statistical Data on Pasture and Fodder Crops. 2008. Available online: http://www.Fao.Org/Uploads/Media/Grass_stats_1.Pdf (accessed on 1 February 2022).
2. Wróbel, B.; Świechowska, I.; Krupa, A. *The Production-Related and Natural Aspects of the Use of Meadows and Pastures in 507 Organic Farms*; Agricultural Advisory Centre in Brwinów: Poznań, Poland, 2021.
3. Khalil, M.I.; Cordovil, C.M.D.S.; Francaviglia, R.; Beverley, H.; Klumpp, K.; Koncz, P.; Llorente, M.; Madari, B.E.; Muñoz-Rojas, M.; Nerger, R. Grasslands. In *Recarbonizing Global Soils: A Technical Manual of Recommended Sustainable Soil Management*; FAO: Italy, Rome, 2021; Volume 3, ISBN 978-92-5-134893-2.

4. Klarzyńska, A.A.; Kryszak, A. Floristic Diversity of Extensively Used Fresh Meadows (6510) in the Wielki Łęg Obrzański Complex. *Acta Agrobot.* **2015**, *68*, 115–123. [\[CrossRef\]](#)
5. Szuleta, M.; Kitczak, T.; Łazar, E.; Kirkiewicz, A. Floristic characteristics and some chemical properties of soil and sward of meadows located in the Natura 2000 area in the valley of river Parsęta in Sulikowo. *Grassl. Sci. Pol.* **2017**, *20*, 183–197.
6. Wróbel, B.; Terlikowski, J.; Weso, P.; Barszczewski, J. Rational Use of Lowland Meadows. *ITP Falenty* **2015**, 24.
7. Barszczewski, J.; Wasilewski, Z.; Mendra, M. Rational Use of Lowland Pastures. *ITP Falenty* **2015**, 24.
8. Tälle, M.; Deák, B.; Poschlod, P.; Valkó, O.; Westerberg, L.; Milberg, P. Grazing vs. Mowing: A Meta-Analysis of Biodiversity Benefits for Grassland Management. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2016**, *222*, 200–212. [\[CrossRef\]](#)
9. Burczyk, P.; Gamrat, R.; Gałczyńska, M.; Saran, E. The role of grasslands in providing ecological sustainability of the natural environment. *Water-Environ.-Rural Areas* **2018**, *18*, 21–37.
10. Byrnes, R.C.; Eastburn, D.J.; Tate, K.W.; Roche, L.M. A Global Meta-Analysis of Grazing Impacts on Soil Health Indicators. *J. Environ. Qual.* **2018**, *47*, 758–765. [\[CrossRef\]](#)
11. Laidlaw, A.S.; Šebek, L.B.J. Grassland for Sustainable Animal Production. *Grassl. Sci. Eur.* **2012**, *17*, 47–58.
12. Grzegorzczak, S. The role of grassland ecosystems in environmental management. *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.* **2016**, *586*, 19–32.
13. Grzelak, M.; Bocian, T. Geobotanical diversity of semi-natural communities of the “Bystra” Noteć valley and their role in the landscape. *Ann. UMCS* **2006**, *61*, 257–266.
14. Marinari, S.; Mancinelli, R.; Campiglia, E.; Grego, S. Chemical and Biological Indicators of Soil Quality in Organic and Conventional Farming Systems in Central Italy. *Ecol. Indic.* **2006**, *6*, 701–711. [\[CrossRef\]](#)
15. Kucharski, J.; Barabasz, W.; Bielinska, E.J. The Biological and Biochemical Properties of Soil. In *Gleboznawstwo*; Mocek, A., Ed.; PWN: Warszawa, Poland, 2015; pp. 232–280.
16. Kozieł, M.; Gałazka, A.; Martyniuk, S. Free-Living Atmospheric Nitrogen-Fixing Bacteria of the Azotobacter Genus—534 Occurrence, Abundance, and Significance. *Stud. Rep. IUNG-PIB* **2018**, *56*, 57–70. [\[CrossRef\]](#)
17. Martyniuk, S. Is Conventional (Intensive) Agriculture Deterimental to Soil Microorganisms? *Pol. J. Agron.* **2014**, *17*, 25–29.
18. Łyszcz, M.; Gałazka, A. The Biological Fixation of Atmospheric Nitrogen. *Stud. Rep. IUNG-PIB* **2016**, *49*, 59–70. [\[CrossRef\]](#)
19. Musiał, M.; Kryszak, J.; Grzebisz, W.; Wolna-Maruwka, A.; Łukowiak, R. Effect of Pasture Management System Change on In-Season Inorganic Nitrogen Pools and Heterotrophic Microbial Communities. *Agronomy* **2020**, *10*, 724. [\[CrossRef\]](#)
20. Yuvaraj, M.; Ramasamy, M. Role of Fungi in Agriculture. In *Biostimulants in Plant Science*; Mirmajlessi, S.M., Radhakrishnan, R., Eds.; IntechOpen: London, UK, 2020; p. 12. [\[CrossRef\]](#)
21. Lenart-Boroń, A.; Banach, T. Actinobacteria Streptomyces Spp in the Heavy Metal-Contaminated Environment. *Kosmos. Probl. Nauk Biol.* **2014**, *63*, 87–93.
22. Ukalska-Jaruga, A.; Smreczak, B.; Strzelecka, J. Effect of Organic Matter on Soil Quality Used for Agricultural Purposes. *Stud. Rep. IUNG-PIB* **2017**, *54*, 25–39. [\[CrossRef\]](#)
23. Podlesny, J.; Kowalska, B.; Niewiadomska, A.; Barabasz, W. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa—Państwowy Instytut Badawczy. In *Protection of Soil Biodiversity for the Health of Present and Future Generations*; Institute of Soil Science and Plant Cultivation State Research Institute: Pulawy, Poland, 2019; ISBN 978-83-7562-318-5.
24. Bhatti, A.A.; Haq, S.; Bhat, R.A. Actinomycetes Benefaction Role in Soil and Plant Health. *Microb. Pathog.* **2017**, *111*, 458–467. [\[CrossRef\]](#)
25. Russel, S.; Wyczółkowski, A.J. *Methods of Determining the Activity of Soil Enzymes*; Acta Agrophysica: Lublin, Poland, 2005; Volume 120.
26. Bielinska, E.J.; Futa, B.; Mocek-Plócinia, A. *Soil Enzymes As Bioindicators of Soil Quality and Health*; Libropolis Scientific 550 Publishers Society: Lublin, Poland, 2014; ISBN 978-83-63761-25-7.
27. Andrés, P.; Moore, J.C.; Cotrufo, F.; Denef, K.; Haddix, M.L.; Molowny-Horas, R.; Riba, M.; Wall, D.H. Grazing and Edaphic Properties Mediate Soil Biotic Response to Altered Precipitation Patterns in a Semiarid Prairie. *Soil Biol. Biochem.* **2017**, *113*, 263–274. [\[CrossRef\]](#)
28. Jing, Z.; Cheng, J.; Su, J.; Bai, Y.; Jin, J. Changes in Plant Community Composition and Soil Properties under 3-Decade Grazing Exclusion in Semiarid Grassland. *Ecol. Eng.* **2014**, *64*, 171–178. [\[CrossRef\]](#)
29. McSherry, M.E.; Ritchie, M.E. Effects of Grazing on Grassland Soil Carbon: A Global Review. *Glob. Chang. Biol.* **2013**, *19*, 1347–1357. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Qu, T.; Du, W.; Yuan, X.; Yang, Z.; Liu, D.; Wang, D.; Yu, L. Impacts of Grazing Intensity and Plant Community Composition on Soil Bacterial Community Diversity in a Steppe Grassland. *PLoS ONE* **2016**, *11*, 16. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Schuman, G.E.; Derner, J.D. Carbon Sequestration and Rangelands: A Synthesis of Land Management and Precipitation Effects. *J. Soil Water Conserv.* **2007**, *62*, 77–85.
32. Stavi, I.; Ungar, E.D.; Lavee, H.; Sarah, P. Grazing-Induced Spatial Variability of Soil Bulk Density and Content of Moisture, Organic Carbon and Calcium Carbonate in a Semi-Arid Rangeland. *CATENA* **2008**, *75*, 288–296. [\[CrossRef\]](#)
33. Steffens, M.; Kölbl, A.; Totsche, K.U.; Kögel-Knabner, I. Grazing Effects on Soil Chemical and Physical Properties in a Semiarid Steppe of Inner Mongolia (P.R. China). *Geoderma* **2008**, *143*, 63–72. [\[CrossRef\]](#)
34. Valls Fox, H.; Bonnet, O.; Crooms, J.P.G.M.; Fritz, H.; Shrader, A.M. Legacy Effects of Different Land-Use Histories Interact with Current Grazing Patterns to Determine Grazing Lawn Soil Properties. *Ecosystems* **2015**, *18*, 720–733. [\[CrossRef\]](#)

35. Li, G.; Zhang, Z.; Shi, L.; Zhou, Y.; Yang, M.; Cao, J.; Wu, S.; Lei, G. Effects of Different Grazing Intensities on Soil C, N, and P in an Alpine Meadow on the Qinghai—Tibetan Plateau, China. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 2584. [\[CrossRef\]](#)
36. Mayel, S.; Jarrah, M.; Kuka, K. How Does Grassland Management Affect Physical and Biochemical Properties of Temperate Grassland Soils? A Review Study. *Grass Forage Sci.* **2021**, *76*, 215–244. [\[CrossRef\]](#)
37. Zhang, L.; Hou, L.; Laanbroek, H.J.; Guo, D.; Wang, Q. Effects of Mowing Heights on N₂O Emission from Temperate Grasslands in Inner Mongolia, Northern China. *AJCC* **2015**, *4*, 397–407. [\[CrossRef\]](#)
38. Hu, X.; Li, X.-Y.; Zhao, Y.; Gao, Z.; Zhao, S.-J. Changes in Soil Microbial Community during Shrub Encroachment Process in the Inner Mongolia Grassland of Northern China. *CATENA* **2021**, *202*, 10. [\[CrossRef\]](#)
39. Li, W.; Huang, H.Z.; Zhang, Z.N.; Wu, G.L. Effects of Grazing on the Soil Properties and C and N Storage in Relation to Biomass Allocation in an Alpine Meadow. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **2011**, *11*, 27–39. [\[CrossRef\]](#)
40. Stroh, P.A.; Bragg, J.; Carey, P.; Laidlaw, C.; Lester, M.; Mountford, J.O.; Smith, G.; Sparks, T.H.; Warrington, S.; Hughes, F.M.R. The Effects of Extensive Grazing on The Vegetation of a Landscape-Scale Restoration Site. *Eur. J. Ecol.* **2021**, *7*, 88–104. [\[CrossRef\]](#)
41. Eriksson, O.; Bolmgren, K.; Westin, A.; Lennartsson, T. Historic Hay Cutting Dates from Sweden 1873–1951 and Their Implications for Conservation Management of Species-Rich Meadows. *Biol. Conserv.* **2015**, *184*, 100–107. [\[CrossRef\]](#)
42. Tälle, M. Conservation of Semi-Natural Grasslands: Effects of Different Management Methods on Biodiversity. Ph.D. Thesis, Linköping University, Linköping, Sweden, 2018.
43. Jankowska-Huflejt, H.; Domański, P.J. Present and possible directions of utilising permanent grasslands in Poland. *Water Environ. Rural Areas* **2008**, *8*, 31–49.
44. Nieróbca, A.; Kozyra, J.; Mizak, K.; Wróblewska, E. Changes in the Length of the Growing Season in Poland. *Water Environ. Rural Areas* **2013**, *13*, 81–94.
45. Dubeux, J.C.B.; Sollenberger, L.E.; Gaston, L.A.; Vendramini, J.M.B.; Interrante, S.M.; Stewart, R.L. Animal Behavior and Soil Nutrient Redistribution in Continuously Stocked Pensacola Bahiagrass Pastures Managed at Different Intensities. *Crop Sci.* **2009**, *49*, 1503–1510. [\[CrossRef\]](#)
46. Yang, Y.; Wu, L.; Lin, Q.; Yuan, M.; Xu, D.; Yu, H.; Hu, Y.; Duan, J.; Li, X.; He, Z.; et al. Responses of the Functional Structure of Soil Microbial Community to Livestock Grazing in the Tibetan Alpine Grassland. *Glob. Chang. Biol.* **2013**, *19*, 637–648. [\[CrossRef\]](#)
47. Twardy, S.; Mikołajczyk-Rusin, K. Mountain pastures use as a way for sustainable management of permanent grasslands in Carpathian areas. *Water-Environ.-Rural Areas* **2018**, *18*, 93–108.
48. Franzluebbers, A.J.; Paine, L.K.; Winsten, J.R.; Krome, M.; Sanderson, M.A.; Ogles, K.; Thompson, D. Well-Managed Grazing Systems: A Forgotten Hero of Conservation. *J. Soil Water Conserv.* **2012**, *67*, 100A–104A. [\[CrossRef\]](#)
49. Behnke, R.H. Grazing Into the Anthropocene or Back to the Future? *Front. Sustain. Food Syst.* **2021**, *5*, 638806. [\[CrossRef\]](#)
50. Metera, E.; Sakowski, T.; Słoniewski, K.; Romanowicz, B. Grazing as a Tool to Maintain Biodiversity of Grassland—A Review. *Anim. Sci. Pap. Rep.* **2010**, *28*, 315–334.
51. Radkowska, I. Use of pastures in organic dairy farming. *Wiadomości. Zootech.* **2013**, *51*, 43–54.
52. Stachowicz, T. *Rational Use of Grassland on an Organic Farm*; Agricultural Advisory Centre in Brwinów Branch in Radom: Radom, Poland, 2010; ISBN 978-83-60185-69-8.
53. Tälle, M.; Fogelfors, H.; Westerberg, L.; Milberg, P. The Conservation Benefit of Mowing vs Grazing for Management of Species-Rich Grasslands: A Multi-Site, Multi-Year Field Experiment. *Nord. J. Bot.* **2015**, *33*, 761–768. [\[CrossRef\]](#)
54. Kamiński, J.; Chrzanowski, S. The effect of mowing and grazing on physical soil properties and species composition of plant communities on reclaimed peatland. *Water-Environ.-Rural Areas* **2007**, *7*, 75–86.
55. Frąc, M.; Jezierska-Tys, S. Microbial diversity of soil environment. *Postępy Mikrobiol. Adv. Microbiol.* **2010**, *49*, 47–58.
56. Nannipieri, P.; Ascher, J.; Ceccherini, M.T.; Landi, L.; Pietramellara, G.; Renella, G. Microbial Diversity and Soil Functions. *EJSS* **2017**, *68*, 12–26. [\[CrossRef\]](#)
57. Nazir, N.; Kamili, A.N.; Zargar, M.Y.; Khan, I.; Shah, D.; Tyub, S. Effect of Root Exudates on Rhizosphere Soil Microbial Communities. *J. Res. Dev.* **2016**, *16*, 9.
58. Ingram, L.J.; Stahl, P.D.; Schuman, G.E.; Buyer, J.S.; Vance, G.F.; Ganjegunte, G.K.; Welker, J.M.; Derner, J.D. Grazing Impacts on Soil Carbon and Microbial Communities in a Mixed-Grass Ecosystem. *SSSA J.* **2008**, *72*, 939–948. [\[CrossRef\]](#)
59. Liu, N.; Zhang, Y.; Chang, S.; Kan, H.; Lin, L. Impact of Grazing on Soil Carbon and Microbial Biomass in Typical Steppe and Desert Steppe of Inner Mongolia. *PLoS ONE* **2012**, *7*, 9. [\[CrossRef\]](#)
60. Zhao, F.; Ren, C.; Shelton, S.; Wang, Z.; Pang, G.; Chen, J.; Wang, J. Grazing Intensity Influence Soil Microbial Communities and Their Implications for Soil Respiration. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2017**, *249*, 50–56. [\[CrossRef\]](#)
61. Solecka, J.; Ziemska, J.; Rajnisz, A.; Laskowska, A.; Guśpiel, A. Actinomycetes—Occurrence and production of biologically active compounds. *Postępy Mikrobiol. Adv. Microbiol.* **2013**, *52*, 83–91.
62. Józefowska, A.; Zaleski, T.; Zarzycki, J.; Frączek, K. Do Mowing Regimes Affect Plant and Soil Biological Activity in the Mountain Meadows of Southern Poland? *J. Mt. Sci.* **2018**, *15*, 2409–2421. [\[CrossRef\]](#)
63. Kizilova, A.K.; Stepanov, A.L.; Makarov, M.I. Biological Activity of Alpine Mountain-Meadow Soils in the Teberda Reserve. *Eurasian Soil Sci.* **2006**, *39*, 67–70. [\[CrossRef\]](#)
64. Chmolewska, D.; Elhottová, D.; Krištůfek, V.; Kozak, M.; Kapustka, F.; Zubek, S. Functioning Grouped Soil Microbial Communities According to Ecosystem Type, Based on Comparison of Fallows and Meadows in the Same Region. *Sci. Total Environ.* **2017**, *599–600*, 981–991. [\[CrossRef\]](#)

65. Ilmarinen, K.; Mikola, J.; Nissinen, K.; Vestberg, M. Role of Soil Organisms in the Maintenance of Species-Rich Seminal Grasslands through Mowing. *Restor. Ecol.* **2009**, *17*, 78–88. [\[CrossRef\]](#)
66. Creamer, R.E.; Schulte, R.P.O.; Stone, D.; Gal, A.; Krogh, P.H.; Lo Papa, G.; Murray, P.J.; Pérès, G.; Foerster, B.; Rutgers, M.; et al. Measuring Basal Soil Respiration across Europe: Do Incubation Temperature and Incubation Period Matter? *Ecol. Indic.* **2014**, *36*, 409–418. [\[CrossRef\]](#)
67. Bei, Q.; Moser, G.; Müller, C.; Liesack, W. Seasonality Affects Function and Complexity but Not Diversity of the Rhizosphere Microbiome in European Temperate Grassland. *Sci. Total Environ.* **2021**, *784*, 9. [\[CrossRef\]](#)
68. Hammerl, V.; Kastl, E.-M.; Schlöter, M.; Kublik, S.; Schmidt, H.; Welzl, G.; Jentsch, A.; Beierkuhnlein, C.; Gschwendtner, S. Influence of Rewetting on Microbial Communities Involved in Nitrification and Denitrification in a Grassland Soil after a Prolonged Drought Period. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 2280. [\[CrossRef\]](#)
69. Jurburg, S.D.; Natal-da-Luz, T.; Raimundo, J.; Morais, P.V.; Sousa, J.P.; van Elsas, J.D.; Salles, J.F. Bacterial Communities in Soil Become Sensitive to Drought under Intensive Grazing. *Sci. Total Environ.* **2018**, *618*, 1638–1646. [\[CrossRef\]](#)
70. Berg, B.; McClaugherty, C. *Plant Litter: Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*, 2nd ed.; Springer: Berlin, Germany, 2008; ISBN 978-3-540-74922-6.
71. Binet, M.N.; Sage, L.; Malan, C.; Clément, J.C.; Redecker, D.; Wipf, D.; Geremia, R.A.; Lavorel, S.; Mouhamadou, B. Effects of Mowing on Fungal Endophytes and Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Subalpine Grasslands. *Fungal Ecol.* **2013**, *6*, 248–255. [\[CrossRef\]](#)
72. Bielinska, E.J.; Gruszecki, T. The Impact of Extensive Grazing of Sheep on the Enzymatic Activity of Soils Selected Habitats Natura 2000 (in Polish). *Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol.* **2011**, *567*, 11–19.
73. Bini, D.; dos Santos, C.A.; do Carmo, K.B.; Kishino, N.; Andrade, G.; Zangaro, W.; Nogueira, M.A. Effects of Land Use on Soil Organic Carbon and Microbial Processes Associated with Soil Health in Southern Brazil. *Eur. J. Soil Biol.* **2013**, *55*, 117–123. [\[CrossRef\]](#)
74. Bielinska, E.J.; Mocek-Plóćiniak, A. *Phosphatases in Soil Environmental (in Polish). Monography*; Wyd. Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu: Poznań, Poland, 2009.
75. Santoyo, G.; Moreno-Hagelsieb, G.; del Carmen Orozco-Mosqueda, M.; Glick, B.R. Plant Growth-Promoting Bacterial Endophytes. *Microbiol. Res.* **2016**, *183*, 92–99. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
76. Tian, J.; Ge, F.; Zhang, D.; Deng, S.; Liu, X. Roles of Phosphate Solubilizing Microorganisms from Managing Soil Phosphorus Deficiency to Mediating Biogeochemical P Cycle. *Biology* **2021**, *10*, 158. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
77. Rana, M.A.; Mahmood, R.; Ali, S. Soil Urease Inhibition by Various Plant Extracts. *PLoS ONE* **2021**, *16*, e0258568. [\[CrossRef\]](#)
78. Jesmin, T.; Margenot, A.J.; Mulvaney, R.L. A Comprehensive Method for Casein-Based Assay of Soil Protease Activity. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **2022**, *53*, 507–520. [\[CrossRef\]](#)
79. Olson, K.R.; Gao, Y.; DeLeon, E.R.; Arif, M.; Arif, F.; Arora, N.; Straub, K.D. Catalase as a Sulfide-Sulfur Oxido-Reductase: An Ancient (and Modern?) Regulator of Reactive Sulfur Species (RSS). *Redox Biol.* **2017**, *12*, 325–339. [\[CrossRef\]](#)
80. Hadwan, M.H. Simple Spectrophotometric Assay for Measuring Catalase Activity in Biological Tissues. *BMC Biochem.* **2018**, *19*, 7. [\[CrossRef\]](#)
81. Bielińska, E.J.; Futa, B.; Chmielewski, S.; Patkowski, K.; Gruszecki, T.M. Quantification of Biodiversity Related to the Active Protection of Grassland Habitats in the Eastern Lublin Region of Poland Based on the Activity of Soil Enzymes. *Pol. J. Soil Sci.* **2017**, *50*, 55. [\[CrossRef\]](#)
82. Domżał, H.; Bielinska, E.J. Physicochemical and Chemical Properties of Soils. *Acta Agrophysica* **2007**, *145*, 65–77.
83. Głina, B.; Piernik, A.; Mocek-Plóćiniak, A.; Maier, A.; Glatzel, S. Drivers Controlling Spatial and Temporal Variation of Microbial Properties and Dissolved Organic Forms (DOC and DON) in Fen Soils with Persistently Low Water Tables. *Glob. Ecol. Conserv.* **2021**, *27*, e01605. [\[CrossRef\]](#)
84. Futa, B.; Patkowski, K.; Bielińska, E.J.; Gruszecki, T.M.; Pluta, M.; Kulik, M.; Chmielewski, S. Sheep and Horse Grazing in a Large-Scale Protection Area and Its Positive Impact on Chemical and Biological Soil Properties. *Pol. J. Soil Sci.* **2017**, *49*, 111–122. [\[CrossRef\]](#)
85. Futa, B.; Tajchman, K.; Steiner-Bogdaszewska, Ż.; Drozd, L.; Gruszecki, T.M. Preliminary Results of Effect of Rotational Grazing of Farmed Red Deer (*Cervus Elaphus*) on the Biochemical Status of Soil. *Agronomy* **2021**, *11*, 558. [\[CrossRef\]](#)
86. Wolińska, A.; Stepniewska, Z.; Szymańska, E. Dehydrogenase Activity of Soil Microorganisms and the Total DNA Level in Soil of Different Use. *J. Agric. Sci. Technol.* **2013**, *3*, 613–622.
87. Qin, Y.; Niu, D.; Kang, J.; Zhou, Y.; Li, X. Effects of Livestock Exclusion on Soil Physical and Biochemical Properties of a Desert Rangeland. *Pol. J. Environ. Stud.* **2015**, *24*, 2587–2595. [\[CrossRef\]](#)
88. Herold, N.; Schöning, I.; Gutknecht, J.; Alt, F.; Boch, S.; Müller, J.; Oelmann, Y.; Socher, A.S.; Wilcke, W.; Wubet, T.; et al. Soil Property and Management Effects on Grassland Microbial Communities across a Latitudinal Gradient in Germany. *Appl. Soil Ecol.* **2014**, *73*, 41–50. [\[CrossRef\]](#)
89. Garcia, M.R.L.; Sampaio, A.A.M.; Nahas, E. Impact of Different Grazing Systems for Bovine Cattle on the Soil Microbiological and Chemical Characteristics. *Rev. Bras. Zootec.* **2011**, *40*, 1568–1575. [\[CrossRef\]](#)
90. Cui, J.; Holden, N.M. The Relationship between Soil Microbial Activity and Microbial Biomass, Soil Structure and Grassland Management. *Soil Tillage Res.* **2015**, *146*, 32–38. [\[CrossRef\]](#)

91. Olivera, N.L.; Prieto, L.; Carrera, A.L.; Cisneros, H.S.; Bertiller, M.B. Do Soil Enzymes Respond to Long-Term Grazing in an Arid Ecosystem? *Plant Soil* **2014**, *378*, 35–48. [[CrossRef](#)]
92. Maryshevych, O.; Shpakivska, I. Impact of the Pastoral Land Use on Soil Properties in Skolivski Beskydy Mts. (Ukrainian Part of the Eastern Carpathians). *Rocz. Bieszcz.* **2011**, *19*, 349–357.
93. Józefowska, A.; Zaleski, T.; Zarzycki, J. Does the Different Mowing Regime Affect Soil Biological Activity and Floristic Composition of Thermophilous Pieniny Meadow? In Proceedings of the Geophysical Research Abstracts, Vienna, Austria, 17–22 April 2016; Volume 18.
94. Paz-Ferreiro, J.; Trasar-Cepeda, C.; Leirós, M.C.; Seoane, S.; Gil-Sotres, F. Biochemical Properties in Managed Grassland Soils in a Temperate Humid Zone: Modifications of Soil Quality as a Consequence of Intensive Grassland Use. *Biol. Fertil. Soils* **2009**, *45*, 711–722. [[CrossRef](#)]
95. Gilmullina, A.; Rumpel, C.; Blagodatskaya, E.; Chabbi, A. Management of Grasslands by Mowing versus Grazing—Impacts on Soil Organic Matter Quality and Microbial Functioning. *Appl. Soil Ecol.* **2020**, *156*, 103701. [[CrossRef](#)]
96. Cui, H.; Sun, W.; Delgado-Baquerizo, M.; Song, W.; Ma, J.-Y.; Wang, K.; Ling, X. Contrasting Effects of N Fertilization and Mowing on Ecosystem Multifunctionality in a Meadow Steppe. *Soil Ecol. Lett.* **2020**, *2*, 268–280. [[CrossRef](#)]
97. Yu, P.; Liu, S.; Han, K.; Guan, S.; Zhou, D. Conversion of Cropland to Forage Land and Grassland Increases Soil Labile Carbon and Enzyme Activities in Northeastern China. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2017**, *245*, 83–91. [[CrossRef](#)]
98. Vranová, V.; Formánek, P.; Rejšek, K.; Pavelka, M. Impact of Land-Use Change on Proteolytic Activity of Mountain Meadows. *Soil Water Res.* **2009**, *4*, 122–125. [[CrossRef](#)]
99. Molik, E.; Ślezińska-Iwanicz, R.; Nahajło, K. Large-scale sheep grazing as an example of centuries-old management by methods of sustainable development in the Silesian and Żywiec Beskids. *Wiadomości. Zootech.* **2018**, *56*, 132–137.

Differentiation of grassland vegetation in relation to the physico-chemical properties of peat soils in the Odra River valley, western Poland

Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płóćiniak, A.

Soil Science Annual, 75(2), 190113. (2024)

<https://doi.org/10.37501/soilsa/190113>

Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland

Justyna Mencil^{1*}, Agnieszka Klarzyńska², Agnieszka Piernik³, Agnieszka Mocek-Plóćiniak¹

¹ Poznań University of Life Sciences, Department of Soil Science and Microbiology, Szydlowska 50, 60-656 Poznań, Poland

² Poznań University of Life Sciences, Department of Grassland and Natural Landscape, Dojazd 11, 60-632 Poznań, Poland

³ Nicolaus Copernicus University in Toruń, Department of Geobotany and Landscape Planning, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland

* Corresponding author: Justyna Mencil, MSc., justyna.mencil@up.poznan.pl, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2466-8753>

Abstract

Received: 2024-04-24

Accepted: 2024-06-16

Published online: 2024-06-16

Associated editor: Andrzej Łachacz

Keywords:

Murshic soils

Floristic diversity

Plant communities

Molinio-Arrhenatheretea

The aim of the study was to present the phytosociological structure of selected grassland communities on shallow peat soils undergoing the of mursh-forming (murshing) process (humification and peat mineralization). The study area was located between the North, Middle and South channels of the Obra River (Wielkopolska Lowland, western Poland). Soil surveys were conducted in May and September 2022 and phytosociological surveys in May and September 2022–2023. Soil samples for laboratory analysis were taken from the uppermost soil horizons at a depth of 0–20 cm in 20 study points. 76 phytosociological relevés were taken. Five vegetation syntaxonomic units were distinguished: *Molinietum caeruleae*, com. *Poa pratensis-Festuca rubra*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and *Alopecuretum pratensis*. The vegetation units with the highest diversity values and number of species recorded in the relevés was *Molinietum caeruleae*, while the poorest in species with lowest Shannon-Wiener index was *Lolio-Cynosuretum*. The soils were classified as Umbric Gleysols, Mollic/Umbic Gleysols, Histic Gleysols, Histic Gleysols (Murshic). The highest contents of TOC and TN were recorded for community *Poa pratensis-Festuca rubra* and the lowest for *Arrhenatheretum elatioris*. The pH values indicated slightly acidic soils in the case of the following vegetation units: *Alopecuretum pratensis*, *Molinietum caeruleae*, *Lolio-Cynosuretum*, com. *Poa pratensis-Festuca rubra* and slightly alkaline soils in the case of *Arrhenatheretum elatioris*. The results of the discriminant analysis demonstrated that the most important statistically significant factor for vegetation syntaxonomic units differentiation was soil pH measured both in H₂O and KCl. *Molinietum caeruleae* association was present on the soils poor in mineral components and organic matter of relatively high C:N ratio. Shannon-Wiener index was significantly negatively correlated with TOC and TN. It is advisable to continue to maintain the studied sites as grassland vegetation. Grassland communities can survive in the murshing process, provided they are correctly used (regular mowing, grazing, and fertilizing) and water relations are regulated. Grasslands, besides to enriching soils with nutrients, create the best conditions for limiting the decomposition of organic matter in accumulation and humus levels of mursh nature, which is extremely important in the face of climate change.

1. Introduction

Grasslands are important terrestrial ecosystems and integral components of the global environment, playing a crucial role in biodiversity conservation, climate change mitigation, water regulation, wildlife habitat, human livelihoods and ecosystem services (Kumar et al., 2017; Mencil et al., 2022a, 2022b; Yang et al., 2020). Despite such an important role, grasslands found in Europe are one of the most endangered ecosystems. In Poland, where the present study was conducted, they have significantly reduced their acreage, currently accounting for only 21.5% of agricultural land (GUS, 2023).

Grasslands are carbon sinks, sequestering atmospheric carbon dioxide through photosynthesis and storing it in organic matter in the soil. Grasses have shallow, horizontally distributed roots. In contrast, species of meadow communities other than grasses (so primarily dicotyledonous species) have deep root systems that can sequester carbon underground while helping to mitigate climate change by removing it from the atmosphere (Borana et al., 2023; Khalil et al., 2021; Mencil et al., 2022a, 2022b; Smith, 2014). Various factors affect the carbon content of grassland soils, these include species composition, soil structure, climate, soil type or management practices (Bengtsson et al., 2019; Lal, 2020; Liu et al., 2023; Yang et al., 2020).

Diversity of grassland communities is important because it improves the functioning of the ecosystem, makes it more stable and less vulnerable to unfavorable external factors, such as climate change. In addition, it positively affects nutrient cycling, productivity or interspecies interactions (Dumont et al., 2022; Freitag et al., 2023; Mashiane et al., 2023). The diversity of grassland communities depends on biotic and abiotic factors, among other plant species richness, land use or landscape structure (Boonman et al., 2021; Nguyen, 2022; Wilsey, 2018).

Organic soils are characterized by their susceptibility to transformation and degradation. They are mainly derived from plant residues, so this characteristic is important for agricultural areas (Glina et al., 2019a; Krüger et al., 2015; Łachacz et al., 2023; Nicia et al., 2018; Oleszczuk et al., 2022; Zając et al., 2018). Murshic soils are a soil that is a transitional type from organic soils to mineral soils. Murshic soils, often associated with wetlands, play a key role in grassland biodiversity. These soils provide unique conditions that support diverse plant and microbial communities, which in turn contribute to the overall biodiversity of grassland ecosystems (Guo et al., 2023; Plante et al., 2011). The murshic soils accompanying grasslands have a unique composition and texture (Jurasinski et al., 2020; Łachacz et al., 2023). They are characterized by a high content of decomposed plant material (e.g., rotten roots, leaves, stems), that is, a high content of soil organic matter. Among other things, this characteristic provides the described soils with structure and richness in plant nutrients, and promotes good soil aeration and drainage (Zhao et al., 2023). Decomposition of organic matter by soil microorganisms is accompanied by the release of nutrients essential for plants, such as nitrogen, phosphorus, potassium. This process promotes the occurrence of species with different nutritional requirements, which leads to the biological diversity of the ecosystem (Łachacz et al., 2023; Lisec et al., 2024; Pawluczuk et al., 2019). Due to their high organic content, organic and post-organic soils have a high capacity to retain water. This helps plants survive unfavorable environmental conditions such as drought (Deng et al., 2016). Organic soils, due to their high organic matter content, are highly productive and fertile. However, once they are drained, the circulation and storage of water is disrupted. This process leads to a situation where carbon can no longer be stored and is released, which in turn causes habitat loss (Berglund and Berglund, 2010; Dawson et al., 2010; Łachacz et al., 2023; Liu et al., 2020; Xu et al., 2018).

Responsible and sustainable grassland management is an extremely important issue, especially in the context of carbon sequestration and biodiversity. Additionally, grassland soils need to be protected and conserved, as they are important for diversity of grassland ecosystems in the face of environmental challenges such as climate change and habitat loss (Smreczak and Ukalska-Jaruga, 2021). In order to achieve these long-term goals, knowledge of the processes and properties in the topsoil layers is needed.

The aim of the study was to present the phytosociological structure of selected grassland communities on shallow peat soils undergoing the of mursh-forming (murshing) process (humification and peat mineralization). This is crucial in an era of biodiversity loss and climate change. We pose the following

research hypotheses: 1. grassland vegetation syntaxonomic units are related to different properties of peat soils, 2. the diversity of grassland vegetation depends on content of organic matter and soil pH.

2. Materials and methods

2.1. Study area

The study area was located between the North, Middle and South channels of the Obra River (Wielkopolska Lowland, central Poland). According to the Detailed Geological Map of Poland (Jodłowski, 2003; Krzysztofka, 1993; Szałajdewicz, 2004), all the soils studied were formed from shallow peats on alluvial materials (mainly sands, occasionally silts). The grasslands under study are located in the fully humid warm temperate climate zone with warm summers (Kottek et al., 2006). The mean annual air temperature and the mean annual precipitation in this region are 10.6°C and 414.6 mm, respectively. It is noteworthy that 2022 was 1.2°C warmer than the multi-year averages of 1991–2020, and that the average annual precipitation in that year is 77% of the norm for the area (IMGW PIB, 2022).

2.2. Phytosociological survey

The present study was conducted on semi-natural grasslands. A total of 76 phytosociological relevés were taken using the Braun-Blanquet (1964) method during the period 2022–2023. The relevés were made at 20 survey points, represented areas of 100 m² and homogeneous species composition. Phytosociological relevés were entered into TURBOVEG (Hennekens and Schaminée, 2001), a specific database of phytosociological relevés, and exported to the JUICE program (Tichý et al., 2011), where they were analyzed. The collected relevés were assigned to the phytosociological system according to Matuszkiewicz (2023). Four plant associations and one community were distinguished: *Molinietum caeruleae* (12 relevés), community (com.) *Poa pratensis-Festuca rubra* (16 relevés), *Arrhenatheretum elatioris* (16 relevés), *Lolio-Cynosuretum* (16 relevés) and *Alopecuretum pratensis* (16 relevés). Cover index (D) allows to quantify the average proportion of individual species or groups of species in different vegetation layers. D was determined as the sum of the average percentage values of the coverage of the selected taxon in all phytosociological relevés in which the species occurs, multiplied by 100 and divided by the total number of relevés (Pawłowski, 1977). Species richness (SR), the Shannon-Wiener index (H') (Shannon and Weaver, 1949), were used as indicators of floristic diversity. H' index was calculated at the level of phytosociological releve.

2.3. Soil survey and sampling

Phytosociological sites were sampled for soils in May and September 2022 in the area of four municipalities. Sampling sites were located in municipality of: Kościan (1, 2, 3, 4), Wielichowo (5, 6, 7, 9, 10, 13, 14, 15, 17), Przemęt (8, 11, 12, 18, 19, 20) and Wolsztyn (16) (Fig. 1).

Soil samples for laboratory analysis were taken from the uppermost soil horizons at a depth of 0–20 cm in each soil from three points at one sampling site to account for potential soil variability (ISO 10381-1:2002). The soil was collected with soil sampler – Egner's Cane. The numbers of the soil samples cor-

responded to the soil materials from which they were taken. Sampling locations were georeferenced in the field (Table 1).

Soil samples were collected in plastic bags and transported in a lightproof box to the laboratory for refrigeration.

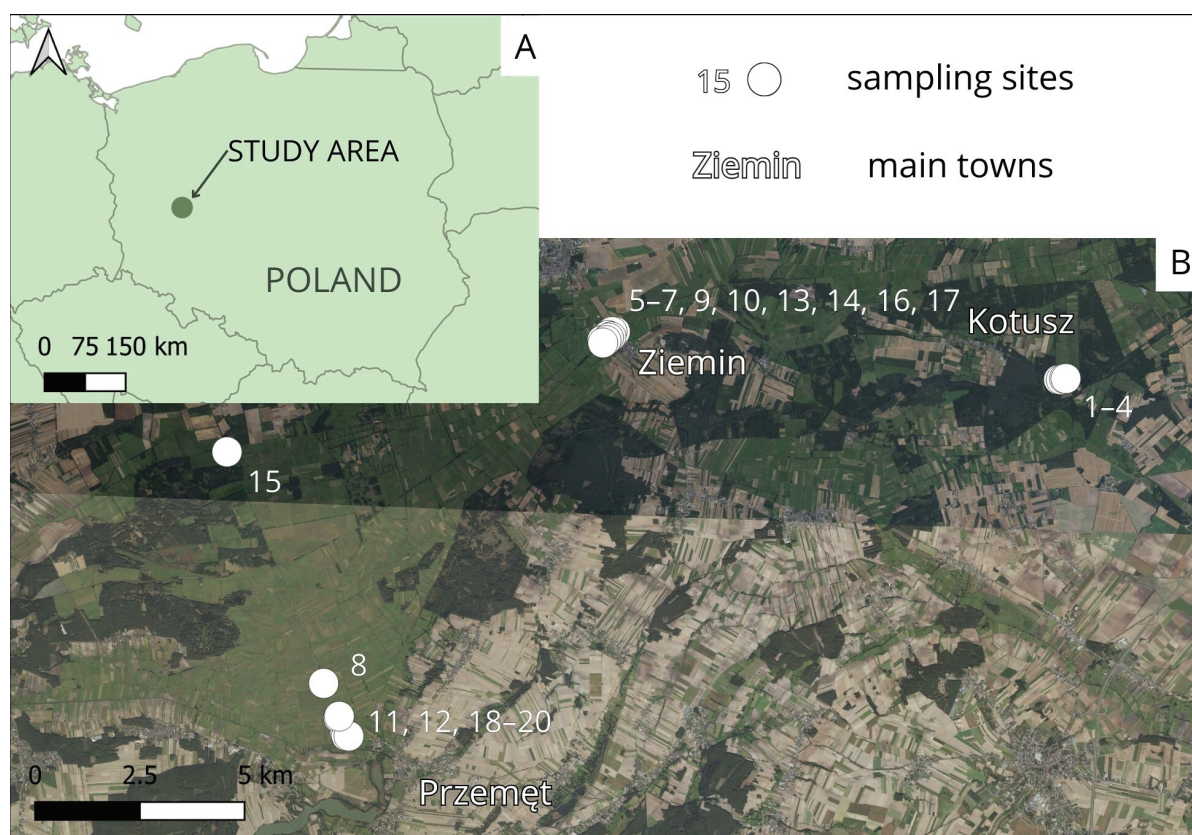


Fig. 1. Location of (A) the study area and (B) sampling sites

Table 1

Location of sampling sites with phytosociological classification of grasslands

Sampling sites	Grassland units	Coordinates WGS 84 (N/E)	Sampling sites	Grassland units	Coordinates WGS 84 (N/E)
1.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'42"N 16°31'30"E	10.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°06'00"N 16°21'56"E
2.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'42"N 16°31'33"E	11.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°00'49"N 16°16'52"E
3.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'43"N 16°31'37"E	12.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°01'01"N 16°16'43"E
4.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'43"N 16°31'39"E	13.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°06'02"N 16°22'04"E
5.	com. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	52°06'07"N 16°22'12"E	14.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°05'59"N 16°22'00"E
6.	com. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	52°06'07"N 16°22'08"E	15.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°06'00"N 16°22'01"E
7.	com. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	52°06'04"N 16°22'03"E	16.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°04'23"N 16°14'11"E
8.	com. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>	52°01'27"N 16°16'23"E	17.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°05'58"N 16°21'57"E
9.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°06'03"N 16°22'07"E	18.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°00'47"N 16°16'54"E
			19.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°00'47"N 16°16'57"E
			20.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°01'02"N 16°16'44"E

2.4. Chemical analyses

In the laboratory, the soil samples were air-dried, disaggregated, homogenized, and sieved through a 2 mm sieve. The chemical analyses consisted of the determination of the following parameters: total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) content with a Vario-Max CNS analyzer; soil pH potentiometrically in 1 M KCl and in a suspension of distilled water at a ratio of 1:2.5; macro- and micro-nutrients were determined by the method of Sapek and Sapek (1997) using 0.5 M HCl. The macro- and micro-nutrients included: phosphorus (P) content determined by colorimetric method, potassium (K) content by flame photometry, magnesium (Mg) and manganese (Mn) content by atomic absorption spectrometry (AAS). No calcium carbonate was recorded in the studied soils.

2.5. Statistical analysis

The mean values of the Shannon-Wiener diversity index and the number of species (species richness) were compared between grassland vegetation units by one factorial analysis of variance (ANOVA I) with Tukey post hoc comparisons because both diversity index and species richness were normally distributed (Shapiro-Wilk test $p > 0.05$). According to our second hypothesis, the relationships between species diversity (H and SR) and soil TN, TOC, pH_{H_2O} , and pH_{KCl} were tested by Pearson correlations. We took 40 plots with complete species and soil data for this analysis. The mean soil properties in grassland units were compared by the Kruskal-Wallis non-parametric test with Dunn post hoc comparisons because most parameters did not demonstrate normal distribution (Shapiro-Wilk test $p < 0.05$). For calculations, Past 3.16b software was used (Hammer et al., 2001).

Discriminant analysis was applied to identify the most important soil properties in the differentiation of grassland vegetation syntaxonomic units. We used the ordination method – Canonical Variate Analysis (CVA) as discriminant analysis, focusing on conditional effects which exclude effects of the most correlated variables (Šmilauer and Lepš, 2014). Conditional effects summarize the partial effect of each predictor, representing the variation (and its significance) explained by a predictor after accounting for the impact of the predictors already selected (ter Braak and Šmilauer, 2012). The predictors were chosen in the order of decreasing explained variation by the forward selection

procedure. Their statistical significance was assessed by Monte Carlo Permutation test. For calculations Canoco 5.0 program was applied (ter Braak and Šmilauer, 2012).

3. Results

3.1. Characteristics of grassland vegetation syntaxonomic units

The described communities are diverse within the *Molinio-Arrhenatheretea* class. They belonged to two orders: *Arrhenatheretalia* and *Molinietalia*. In the *Arrhenatheretalia* order, two associations and one community were distinguished: *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and com. *Poa pratensis-Festuca rubra*. And in the order *Molinietalia* two associations were distinguished. *Alopecuretum pratensis* and *Molinietum caeruleae*.

Species richness of the analyzed communities is shown in Table 2. The total number of species recorded in the *Molinio-Arrhenatheretea* in 76 phytosociological relevés was 102. The community with the highest number of species recorded in the relevés was *Molinietum caeruleae*, while the poorest in species was *Lolio-Cynosuretum*. This is a result that could have been expected, as it is due to the characteristics of these grassland communities.

The values of the Shannon-Wiener H' index were highest for *Molinietum caeruleae* and lowest in *Lolio-Cynosuretum* (Table 2). The highest cover index was characterized by *Alopecuretum pratensis* meadows, D was 6933.

The structure of sociological (habitat) groups of the analyzed vegetation syntaxonomic units is shown in Fig. 2.

All studied grassland communities showed good ecological condition. This was indicated by the high proportion of characteristic syntax-specific species (Appendix 1.). As expected, *Alopecuretum pratensis* and *Molinietum caeruleae* were dominated by species of the *Molinietalia caeruleae* order, while com. *Poa pratensis-Festuca rubra*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* had a significant share of species of the *Arrhenatheretalia elatioris*. In addition to the *Molinio-Arrhenatheretea* class, species from the *Phragmitetea* class had a visible share in the studied communities.

Molinietum caeruleae was characterized by the dominance of *Molinia caerulea*, *Festuca pratensis*, *Potentilla anserina* and *Ra-*

Table 2

Indicators of biodiversity of selected grassland vegetation units. H' – Shannon-Wiener diversity index, D – cover index. Statistically significant differences in biodiversity indicators between grassland vegetation syntaxonomic units are marked by different letters ($p \leq 0.05$; ANOVA I with Tukey post hoc comparisons). Differences in D were not assessed

Grassland units	Total number of species	Number of species in the releve (range and mean)		H'	D
<i>Molinietum caeruleae</i>	57	17–29	23 ^c	2.38 ^b	6088
<i>Alopecuretum pratensis</i>	44	10–22	17 ^b	1.75 ^{ac}	6933
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	54	14–24	19 ^b	2.03 ^{bc}	5930
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	36	8–16	12 ^a	1.49 ^a	5193
com. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>	50	12–24	19 ^b	2.18 ^b	5813

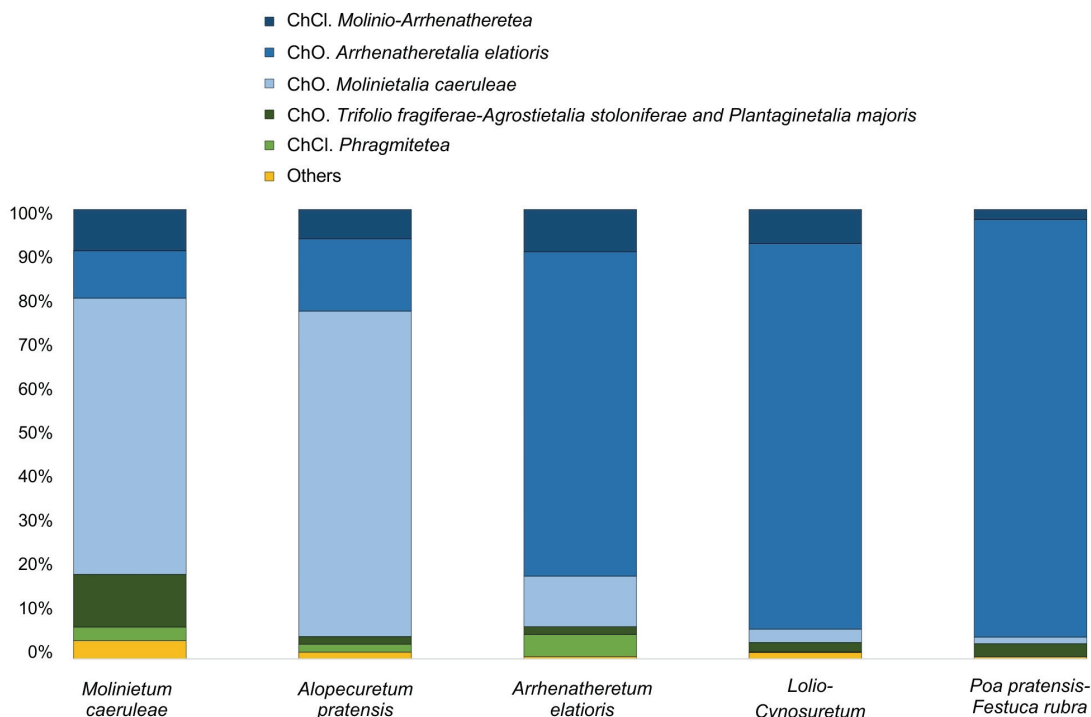


Fig. 2. Structure of sociological (habitat) groups of the analysed vegetation syntaxonomic units ChCl – species characteristic for class, ChO – species characteristic for order, others – species that occurred in very small numbers in others syntaxa

nunculus repens. In addition, there were species from the *Phragmitetea* class, such as *Carex acuta* and *Mentha aquatica*. Species from the *Scheuchzerio-Caricetea nigrae* class like *Hydrocotyle vulgaris*, *Juncus articulatus* were present in small numbers. Community *Poa pratensis-Festuca rubra* accounted for a large share of the species composition of *Poa pratensis*, *Poa palustris*, *Trifolium repens*, *Plantago lanceolata* and *Festuca rubra* from class *Molinio-Arrhenatheretea* and *Phalaris arundinacea* from class *Phragmitetea*. In the *Arrhenatheretum elatioris* community, the following species had the highest cover index: *Arrhenatherum elatius*, *Poa pratensis*, *Galium mollugo*, *Trifolium pratense* and *Alopecurus pratensis*. Occasionally there were *Urtica dioica* and *Veronica persica*. *Lolium perenne*, *Poa pratensis*, *Taraxacum officinale* and *Trifolium repens* were the dominant species in *Lolio-Cynosuretum*. The community consisted mainly of species in *Molinio-Arrhenatheretea*, outside this class existed: *Polygonum persicaria*, *Veronica arvensis*, *Bromus inermis*, *Artemisia vulgaris*, *Stellaria media* as single plants. *Alopecurus pratensis*, *Poa pratensis*, *Holcus lanatus*, *Poa palustris* are the species with the highest cover index for the *Alopecuretum pratensis*. *Phalaris arundinacea* and *Carex acuta* from the *Phragmitetea* class were also present in the phytosociological relevés. *Polygonum persicaria* from the *Bidentetea tripartiti* class was found singly.

3.2. Characteristics of soils

Based on morphological soil materials and some physico-chemical properties, according to the Polish Soil Classification (PSC) (Kabala et al., 2019) the soil types were: postmurshic soils (1, 2, 4, 10, 13), typical semimurshic soils (3, 5, 6, 9, 12, 14, 15, 17), thin murshic soils (7, 8, 18, 19, 20), murshic gleysols (11, 16). Ac-

cording to the IUSS-WRB soil classification (IUSS Working Group WRB, 2022), the soils were classified as Umbric Gleysols (1, 2, 4, 10, 13), Mollic/Umbic Gleysols (3, 5, 6, 9, 12, 14, 15, 17), Histic Gleysols (7, 8, 18, 19, 20), Histic Gleysols (Murshic) (11, 16). The ground water level in the soils analyzed ranged from 0.8–1.15 meters (soil samples 1–18), while in samples 19 and 20 it was 0.6–0.8 meters.

The soils of *Molinietum caeruleae* (soil materials no. 1–4) are classified as semimurshic soils. They have arenimurshic epipedons, which contain less than 6% organic carbon in the post-murshic soils subtype and 6 to 12% organic carbon in the typical semimurshic soils subtype. They originated from entirely murshic peat formations that were covered in alluvial or fluvio-glacial sand mineral formations.

Community *Poa pratensis-Festuca rubra* (soil materials no. 5–8) has developed mainly on the semimurshic soils like the previous community in association with shallow semimurshic soils, the upper horizons of which show the character of organic formations (>12% organic carbon) with murshic epipedones. Below are sandy nature gleyed substrates that of both alluvial and fluvio-glacial origin.

Arrhenatheretum elatioris (soil materials no. 9,10,12) and *Lolio-Cynosuretum* (soil materials no. 13–15) soils were classified as semimurshic soils, typical semimurshic soils subtype and post-murshic soils, similar to the previously described communities. However, both *Arrhenatheretum elatioris* (soil materials no. 11) and *Lolio-Cynosuretum* (soil materials no. 16) recorded ground-gley soils formed in local depressions, subtype of ground-gley murshic soils. The organic murshic epipedons are less than 30 cm thick. Under them are gleyed mineral formations that frequently exhibit prominent ground-gley properties.

The majority of shallow murshic soil subtypes on which *Alopecuretum pratensis* (soil materials no. 17–20) developed are organic murshic horizons with a maximum thickness of 50 cm. They are bedded with mineral materials of the grain size of silt and loose sands, showing gorund-gley properties. Less frequent in this area are soils with arenimurshic epipedons belonging to the typical semimurshic soils subtype.

3.3. Chemical properties of soils studied

The content of total organic carbon (TOC) in the analyzed grassland soils differed between the selected grassland vegetation syntaxonomic units (Table 3). The highest contents were recorded for in the uppermost soil material in site no. 8 which was overgrown with com. *Poa pratensis-Festuca rubra* (315 g kg⁻¹), and the lowest for soil materials no. 10 – *Arrhenatheretum elatioris* (29.5 g kg⁻¹). The situation was the same in the case of total nitrogen (TN) content (Table 3). The highest contents were recorded for com. *Poa pratensis-Festuca rubra* (25.4 g kg⁻¹), and

the lowest for *Arrhenatheretum elatioris* (2.61 g kg⁻¹). Because of the high variability within vegetation syntaxonomic units, the differences between TOC and TN were not statistically significant. The calculated C:N ratio was from 9.56 to 14.5 (Table 3). The pH values indicated slightly acidic soils in the case of the following vegetation units: *Alopecuretum pratensis*, *Molinietum caeruleae*, *Lolio-Cynosuretum*, com. *Poa pratensis-Festuca rubra* and slightly alkaline soils in the case of *Arrhenatheretum elatioris* (7.69 pH in H₂O and 7.27 in KCl). The pH values were significantly higher in *Arrhenatheretum elatioris* compared to other vegetation units (Table 3). The average K content in the analyzed grassland soils ranged from 35.3 to 114 mg kg⁻¹, with the highest value recorded in the soils of the *Alopecuretum pratensis* community and the lowest in *Molinietum caeruleae* (Table 3). In the case of Mg, the analyzed soils were characterized by a very high content of this element. Both the highest and lowest Mg values were recorded under the community *Arrhenatheretum elatioris* (190 mg kg⁻¹ in soil material no. 9 and 1463 mg kg⁻¹ in soil material no. 12 mg kg⁻¹) (Table 3). The topsoil layers of the analyzed

Table 3

Chemical properties of soils. Statistically significant differences in soil parameters between grassland vegetation syntaxonomic units are marked by different letters (p≤0.05; Kruskal-Wallis test with Dunn post hoc comparisons)

Grassland units	<i>Molinietum caeruleae</i>	<i>Alopecuretum pratensis</i>	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	com. <i>Poa pratensis-Festuca rubra</i>
Site no.	1–4	17–20	9–12	13–16	5–8
	min–max	min–max	min–max	min–max	min–max
	mean	mean	mean	mean	mean
pH H ₂ O	5.97–6.66 6.44 ^a	5.97–6.55 6.26 ^a	7.45–7.91 7.69 ^b	6.13–7.43 6.59 ^a	6.20–6.89 6.64 ^{ab}
pH KCl	5.31–6.25 6.00 ^a	5.71–6.26 5.98 ^a	7.07–7.49 7.27 ^b	5.63–7.17 6.12 ^a	5.96–6.61 6.33 ^{ab}
g kg ⁻¹ D.M. of soil					
TOC ¹	37.5–81.6 61.6 ^a	72.0–256 169 ^a	29.5–168 82.9 ^a	43.1–147 96.5 ^a	34.1–315 127 ^a
TN ²	3.07–7.46 5.06 ^a	6.35–21.0 13.9 ^a	2.61–13.8 7.14 ^a	4.25–12.3 8.39 ^a	3.20–25.4 11.0 ^a
C:N ³	10.9–14.1 12.3 ^a	11.2–14.4 12.1 ^a	10.1–14.5 11.5 ^a	10.2–12.2 11.4 ^a	9.56–12.4 11.1 ^a
mg kg ⁻¹ D.M. of soil					
K ⁴	31.5–38.8 35.3 ^a	84.6–180 114 ^b	43.8–163 84.5 ^{ab}	48.0–81.9 62.6 ^{ab}	40.3–71.6 55.9 ^a
Mg ⁵	201–336 270 ^a	360–657 560 ^a	190–1463 637 ^a	272–625 373 ^a	219–831 410 ^a
Mn ⁶	37.1–69.3 46.1 ^a	117–233 176 ^b	56.5–315 221 ^b	68.1–195 115 ^{ab}	121–470 271 ^b
P ⁷	16.8–69.1 43.4 ^a	283–490 365 ^b	123–803 275 ^b	101–591 455 ^b	150–466 317 ^b

¹ total organic carbon, ² total nitrogen, ³ total organic carbon to total nitrogen ratio, ⁴ plant available potassium, ⁵ plant available magnesium, ⁶ plant available manganese, ⁷ plant available phosphorus

Table 4

Conditional term effects of discriminant analysis (CVA) of soil parameters and vegetation syntaxonomic units (n=4). Statistically significant factors are marked in bold ($p \leq 0.05$). Conditional term effects exclude the effect of the most correlated variables

Variable	% variation explained	pseudo-F	p
pH_{H2O}	19	4.2	0.002
pH_{KCl}	12.4	3.1	0.028
K	9.2	2.5	0.058
Mn	7.6	2.2	0.096
C:N	6.4	2	0.136
P	6.2	2	0.126
C	3.6	1.2	0.348
N	2	0.7	0.572
Mg	1.2	0.4	0.794

grasslands were characterized by low (37.1 mg kg^{-1}) to high (470 mg kg^{-1}) Mn content in *Molinietum caeruleae* and com. *Poa pratensis-Festuca rubra*, respectively (Table 3). Mn and P contents were significantly lower in *Molinietum caeruleae* compared to other vegetation units. In summary, the lowest average contents of all analyzed elements were found in *Molinietum caeruleae*, and the highest mainly in *Alopecuretum pratensis* and *Arrhenatheretum elatioris*. The results of the discriminant analysis demonstrated that the most important statistically significant factor for grassland vegetation syntaxonomic units differentiation was soil pH measured both in H_2O and KCl (Table 4). This variable explained 19% and 12.4% respectively of the variability between vegetation units. The rest of the variables were not statistically significant in the model.

The highest values of pH, both in H_2O and KCl, were noted in the *Arrhenatherum elatioris* association while the lowest was in *Alopecuretum pratensis* (Fig. 3). *Molinietum caeruleae* association was present on the soils poor in mineral components of

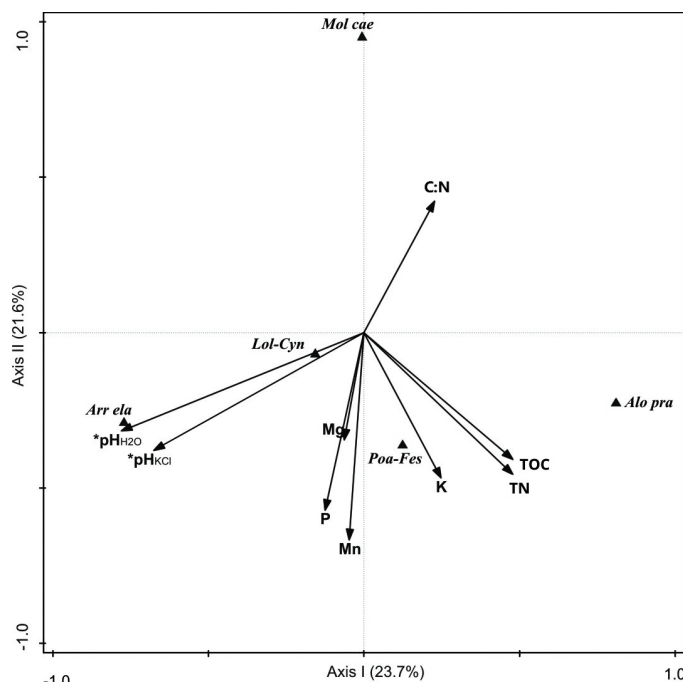


Fig. 3. Results of discriminant Canonical Variate Analysis (CVA) of soil parameters and grassland units. Abbreviations of vegetation syntaxonomic units: Alo pra – *Alopecuretum pratensis*, Arr ela – *Arrhenatheretum elatioris*, Lol-Cyn – *Lolium-Cynusoretum*, Mol cae – *Molinietum caeruleae*, Poa-Fes – com. *Poa pratensis-Festuca rubra*. Significant factors in the model are marked by stars * ($p \leq 0.05$)

relatively high C:N ratio. The differences in soil parameters between other vegetation units were not so clearly expressed.

3.4. Relationship between species diversity and soil parameters

Results of correlation analysis between diversity indicators and organic matter content and soil pH revealed that H' was significantly negatively correlated with TOC and TN (Fig. 4). The correlation coefficient was equal in both cases

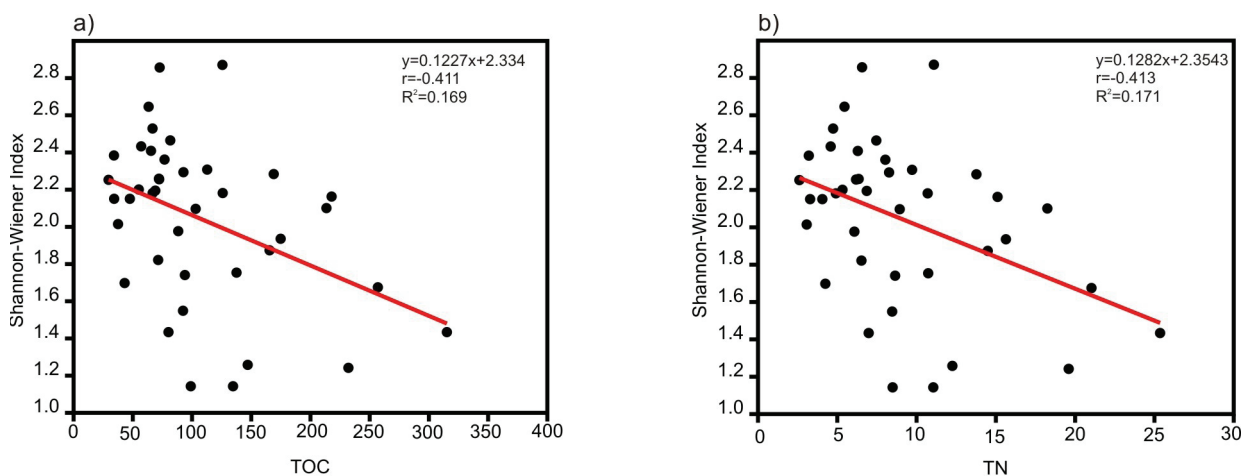


Fig. 4. Results of correlation analysis between species diversity index and a) total organic carbon and b) total nitrogen. Regression equations are given on the graphs, r – Pearson correlation coefficient ($p < 0.05$), R^2 – determination coefficient

to $r=-0.41$ and $p=0.008$. However, the variance in the diversity index explained by the relation between TOC and TN was not high and amounted to 17%. Other relationships were not significant. We did not find a correlation between diversity indicators and soil pH.

4. Discussion

The soils analyzed belonged to shallow peat soils in the past, which gradually underwent. This resulted, among other things, in the decession of organic matter causing a change in the taxonomic affiliations of these soils. The course of decession of organic formations has been undertaken in many scientific studies and is well recognized (Glina et al., 2019b, 2013; Łachacz et al., 2023). A characteristic feature of organic soils is the high dynamics of morphological changes, which are a response to changes in water conditions and, consequently, bio-ecological conditions (Mitsch et al., 2013; Sykuła, 2020; Withey and Van Kooten, 2011). Bieniek et al. (2005) noted that the mursh-forming (murshing) process occurs more intensively on soils used as arable land than on meadows or forests. Turbiak (2013), on the other hand, points to the intensive process of organic matter decay occurring in grasslands developed on murshic soils. According to his study, the annual loss of organic matter was more than 3%, which, in the case of the soils he studied, would indicate that in 40 years this murshic soil would convert to mineral soil. At present, they mostly belong to different subtypes of murshic soils (soil materials no. 1–10, 12–15, 17–20) (IUSS Working Group WRB, 2022; Kabała et al., 2019; Świtoniak et al., 2016). This is a distinctive arrangement and is found in many river valleys (Łachacz et al., 2023; Pawluczuk et al., 2019). In the lowest areas, clear gleyic features are outlined, hence they were classified as ground-gley murshic soils (soil materials no. 11, 16).

In the present study, five grassland vegetation syntaxonomic units were distinguished and differentiated within *Molinio-Arrhenatheretea* class. The mentioned communities belonged to *Arrhenatheretalia* and *Molinietalia* orders. *Molinietalia* order includes moist hay meadows of meso- and eutrophic character, periodically waterlogged due to their occurrence along rivers. The species composition and dynamics of this order depend on the type and intensity of the economic treatments (Matuszkiewicz, 2023; Suder, 2007). The habitat is found on soils of varying pH, both acidic, neutral and slightly alkaline, both mineral-poor and very fertile. In addition, *Molinietalia* is characterized by its occurrence on the boggy soils, fluvial muds, as well as podzolic soils (except extremely poor) and saline soils (Trąba and Wolański, 2012). In the present study, two communities were distinguished within the *Molinietalia* order: *Alopecuretum pratensis* and *Molinietum caeruleae*. *Molinietum caeruleae* was clearly distinguished from the other communities studied. These meadows had the highest biodiversity index ($H'=2.38$). This is confirmed in the literature. *Molinia* meadows are considered one of the most important communities in terms of species richness and biological diversity. They provide habitat for rare and endangered plant species (Chmolewska et al., 2023; Kącki and Michalska-Hejduk, 2010; Marciniuk et al., 2016; Trąba and Wolański, 2012;

Wójcik et al., 2022; Wójcik and Janicka, 2016). *Molinietum caeruleae* are defined as the most valuable communities in Poland and Europe. Meadows of the *Molinion* alliance are protected in the European Union by the Habitats Directive with code 6410 (Council Directive, 1992). These grassland communities related to the variable wetness of habitats are in danger of extinction. This is due to the draining of organic soils, the changing nature of river valleys which is associated with the intensification of fertilization and use or its abandonment, and climatic mentions, such as rainfall deficits. As meadows of low fodder value, they were excluded from cultivation at the earliest (mowing once a year or less often) (Chmolewska et al., 2023; Trąba and Wolański, 2012; Wójcik et al., 2022). However, despite their great natural value, *Molinietum caeruleae* analyzed in this study are characterized by soils that are the poorest in analyzed macro- and micronutrients. Low levels of nutrients in *Molinia* meadows were also noted by the Zelnik and Čarni (2008) and Kozłowski et al. (2012). Also Swacha et al. (2018) describe in their study a low nutrient status in *Molinion* meadows soils. Unlike *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis* are a very productive community, the most productive of the communities found in *Molinietalia* order. These phytocenoses occur in fertile riparian habitats in river valleys. They are intensively cultivated (they are mowed up to four times a year) and tilled (Matuszkiewicz, 2023). According to Suder (2007), *Alopecurus pratensis*, which is the dominant species in these grassland communities, is an indicator of phosphorus-rich soils. However, this correlation was not noted in our study. Due to the dominance of a single species in this community, the species diversity index (H') is relatively low. The second order noted in this research is *Arrhenatheretalia*. *Arrhenatheretalia* groups communities of fertile meadows and pastures occurring on soils with more optimal moisture content than *Molinietalia* (Matuszkiewicz, 2023; Velev, 2018). These grassland communities occur in mesic habitats from moderately wet to slightly dry soils, with a wide pH range (slightly acidic to alkaline). It occurs on mineral, less often organic soils. These meadows are not flooded and are referred to as fresh (Brągiel et al., 2016; Matuszkiewicz, 2023; Pruchniewicz et al., 2024). The studied grassland communities belonging to *Arrhenatheretalia* was represented by the: *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and com. *Poa pratensis-Festuca rubra*. Fresh meadows are also a threatened type of natural habitats in Poland (Acic et al., 2013; Janišová et al., 2010; A. A. Klarzyńska and Kryszak, 2015; Rozbrojová et al., 2010). *Arrhenatheretum elatioris* belongs to agriculturally valuable grasslands. The typical form of the complex is mostly rich in dicotyledonous species (Brągiel et al., 2016; Matuszkiewicz, 2023). According to Trąba et al. (2008) *Lolio-Cynosuretum*, occupying the most acidic and P-, K- and N-poor sites, showed the greatest floristic diversity. In our study, this community occupied neutral to slightly alkaline soils and had relatively high K and N contents, especially P (the highest average value among all communities) and the lowest floristic diversity as determined by $H'=1.49$. A characteristic feature of the com. *Poa pratensis-Festuca rubra* habitat is the close relationship with the form and intensity of meadow management. Com. *Poa pratensis-Festuca rubra* is primarily an indicator of drying soils (usually murshic soils) and the abandonment of proper grassland management.

It is distinguished by the dominance of *Poa pratensis* and *Festuca rubra* (Matuszkiewicz, 2023; Stamirowska-Krzaczek, 2015). Abandonment of use leads to the simplification of the *Arrhenatheretum elatioris* species and the formation of phytocenoses with a dominance of *Poa pratensis* and *Festuca rubra*. Analysis of the floristic composition of the sward of this community may indicate a low level of grassland management, compared with patches of the *Arrhenatheretum elatioris* (Stamirowska-Krzaczek, 2015; Warda and Stamirowska-Krzaczek, 2010).

Variability of grassland communities is strongly linked to the influence of locally occurring environmental factors (Diviaková et al., 2021; Wellstein et al., 2007; Wróbel, 2012). Our study showed that the most significant factor in communities differentiation is soil pH. This indicates the relevance of soil pH to the formation of a particular plant community on a given soil. This confirms in part our hypothesis that vegetation units are related to different soil properties. Soil reaction is a very important soil property that controls the species richness of plants in grassland communities (Diviaková et al., 2021; Palpurina et al., 2017; Riesch et al., 2018; Zelnik and Čarni, 2008). In addition, it significantly affects the development of the root system, the solubility and availability of many nutrient elements and their uptake by plants and soil-forming processes (Grzywna, 2014). At low pH values, the availability of macronutrients such as Mg, K, P and N decreases, while the availability of micronutrients such as Mn increases – even to a toxic level (Gonet et al., 2015). The pH_{H_2O} values, in the soils analyzed, ranged from 5.97 to 7.91, and pH_{KCl} from 5.31 to 7.49. A similar range of soil pH and the relationship between grassland community variability and soil reaction, was recorded by Diviaková et al. (2021) and Chytrý et al. (2007). However, we did not find direct relationship between plot species diversity indicators and soil pH.

Organic and post-organic soils are characterized by a high variability of properties. These properties depend, among other things, on the origin of the soils, plant composition or admixtures of mineral material (Łachacz et al., 2023; Wallor and Zeitz, 2016). Undoubtedly an important soil property is the organic matter content, however, in our study the trait did not prove to be significantly different between vegetation units. On the other hand, our results demonstrated a direct, significantly negative relationship between species diversity index and TOC and TN. This is corroborated by studies that say the negative effects of nitrogen generally reduced plant species richness of grassland communities (Roth et al., 2013; Soons et al., 2017; Tian and et al., 2016). Averaging, in our study, *Alopecuretum pratensis* had the highest organic matter content, which is associated with its high utility value but significantly lower species diversity, e.g. compare to *Molinietum caeruleae* of the lowest TOC and TN. One feature that distinguishes the mursh-forming process is the intensive humification of organic matter (Becher et al., 2013). The C:N ratio in the studied soils ranged from 9.56 to 14.4, indicating a significant degree of organic matter processing through mineralization and humification processes and high soil biological activity. The mursh-forming process leads to a narrowing of these ratio (Sammel and Niedźwiecki, 2006). Also Wójciak and Bieniak (2005) confirm that murshic levels are characterized by a narrow C:N ratio (9.3–12), which indicates high transforma-

tion of organic matter and biological activity. It is worth noting that the C:N ratio is an important indicator of the rate of mineralization of organic matter in the soil. A wide C:N ratio means that the rate of mineralization decreases and the nitrogen available to plants is used by microorganisms. However, a narrow ratio (below 20) accelerates the rate of mineralization of organic matter and provides plants with available nitrogen. Sometimes even plants cannot use it (Becher et al., 2022; Czyż et al., 2013; Okruszko, 1993). The content of some micro- and macroelements in the tested soils also show significantly lower K, Mn and P in *Molinietum caeruleae* association. The role of phosphorus in green soils is worth emphasizing. Phosphorus is a microelement considered very important for species wealth and the diversity of meadows, however, grasslands in Europe are characterized by a low content of this element (Diviaková et al., 2021; Kopeć et al., 2010; Merunková and Chytrý, 2012).

It is important to remember that the drainage of peat soils leads to the initiation of the process of murshing. And this process, in turn, can lead to the complete disappearance of organic layers. The rate of loss of peat mass is significantly higher (10–20 times) than the rate of its growth (Łachacz et al., 2023; Oleszczuk et al., 2017; Smreczak et al., 2020). According to Ilnicki and Szajdak (2016), a 1 m peat layer takes about a thousand years to form. Studies indicate that the increased mineralization of organic layers is the main reason for changes in the use of peat soils. Arable land is being created from grassland. It leads to further loss of organic matter – which is the result of mixing organic layers with subsoil through plowing (Bieniek and Łachacz, 2012).

It should be noted that the murshing up of the surface layers of peat causes irreversible degradation of phytocenoses, which are inhabited by rare plant species. The botanical composition of the plants changes, and 100–250 kg/ha of nitrogen per year is released in the process of soil murshing. The nitrogen released and not utilized by plants enters ground and surface water, and partially enters the atmosphere. This is extremely important because properly managed grasslands are biogeochemical barriers that limit the migration of various chemicals or materials from agricultural fields to surface and deep waters (Jankowska-Huflejt, 2007).

There is a systematic increase in organic matter content in soils under grasslands. Soils characterized by a higher amount of organic matter have a greater ability to retain water than poor soils. It is necessary to take advantage of this aspect in developing practices that protect against climate change. So, an increase the resistance of ecosystems to degradation occurs as a result of the regeneration of humus reserves. The humus accumulation occurs simultaneously with the turf process. Organic matter content is a key parameter shaping soil quality, structure and hydrological properties (Jankowska-Huflejt, 2007; Pikuła, 2019).

It is difficult to say unequivocally which of the communities in question is more likely to survive in the face of the following environmental changes, including the processes of murshing. It all depends on the use (including fertilization and the number of mowings) and water relations (Kun et al., 2021; Scholtz and Twidwell, 2022). Vegetation syntaxonomic units that are more intensively used – *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and *Alopecuretum pratensis* – are more likely to survive.

If the process of mowing continues and use is abandoned, these communities will use the biogenes in the soil for some time (several years) before they begin to degrade, because they have a high stock of organic matter (Ameer et al., 2022). With extensive use and further problems with water relations, these communities will begin to simplify, and common, cosmopolitan species will take the place of characteristic species. However, with regular mowing (2–3 times a year) or mowing and grazing in the case of *Lolio-Cynosuretum*, fertilization and regulation of water relations the previously mentioned communities have the best chance. On the other hand, in the case of *Molinietum caeruleae*, which is used extensively by design, the process of mowing may lead to their transformation into meadows with a dominance of *Deschampsia cespitosa*, a significantly poorer community (Burczyk et al., 2018; Klarzyńska and Kryszak, 2015; Kryszak et al., 2009; Wróbel et al., 2015). The basis for the protection of valuable meadow and pasture habitats is, therefore, their proper use, which will preserve the proper structure of the sward vegetation. In conclusion, in order to preserve valuable grassland habitats and inhibit the process of mowing, it is necessary to regulate water relations, as well as to regulate the amount of mowing and provide nutrients in the form of fertilizers tailored to the specific requirements of the community (Wróbel et al., 2021).

The results presented here should be treated as a contribution to the ongoing discussion about the mowing-forming (mowing) process in soil and a variety of valuable vegetation units on semi-natural grasslands. It is reasonable to believe that grasslands, especially those used more extensively, can become an important consumer of carbon dioxide from the atmosphere and can therefore greatly reduce the effects of the greenhouse effect (Borana et al., 2023; Burczyk et al., 2018; Grzegorzczak, 2016; Piłka, 2019; Stypiński et al., 2005). The causes of the degrading changes in the floristic composition of the communities should be seen mainly in terms of the drying of peat soils, their variability of the pH, reduced nitrogen content, and the progressive reduction in their use in recent years (Kryszak et al., 2005). Monitoring and expanding knowledge of the condition of organic soils is key to implementing rational and sustainable land use and environmental protection. The priority should be to support the maintenance of extensive forms of agricultural production, especially on grasslands in the context of preserving natural habitats such as meadows, peatlands, forests, which act as a carbon sink (Borek, 2020).

5. Conclusions

1. The floristic diversity of grassland units decreases as the amount of organic matter in the soil increases.
2. Our research has shown that the pH of analyzed soils is a key element determining the occurrence of specific vegetation units.
3. *Molinia* meadows are characterized by soils that are the poorest in selected macro- and micronutrients. Although they do not have much economic value, they present high species diversity and thus high natural values.

4. Plant associations that are more intensively used – *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and *Alopecuretum pratensis* – have a better chance of surviving in the mowing process, provided the correct use and regulation of water relations.
5. For ecological and economic reasons and the proposal for a soil protection directive presented by the EC on July 5, 2023, it is advisable to continue to maintain the studied sites as grasslands. Grasslands, besides enriching soils with nutrients, create the best conditions for reducing organic matter decay in the accumulation and humus mowing horizons.

Acknowledgments

The publication was financed by the Polish Minister of Science and Higher Education as part of the Strategy of the Poznań University of Life Sciences for 2024–2026 in the field of improving scientific research and development work in priority research areas.

References

- Acic, S., Silc, U., Vrbncanin, S., Cupac, S., Topisirovic, G., Stavretovic, N., Dajic-Stevanovic, Z., 2013. Grassland communities of Stol mountain (eastern Serbia): Vegetation and environmental relationships. *Archives of Biological Sciences* 65, 211–227. <https://doi.org/10.2298/AB-S1301211A>
- Ameer, I. et al., 2022. Land degradation resistance potential of a dry, semi-arid region in relation to soil organic carbon stocks, carbon management index, and soil aggregate stability. *Land Degradation & Development* 34, 624–636. <https://doi.org/10.1002/ldr.4480>
- Becher, M., Kalembsa, D., Pakula, K., Malinowska, E., 2013. Frakcje węgla i azotu w odwodnionych glebach organicznych (Carbon and nitrogen fractions in drained organic soils). *Environmental Protection and Natural Resources* 24, 1–5. <https://doi.org/10.2478/oszn-2013-0034>
- Becher, M., Tołoczko, W., Godlewska, A., Pakula, K., Żukowski, E., 2022. Fractional Composition of Organic Matter and Properties of Humic Acids in the Soils of Drained Bogs of the Siedlce Heights in Eastern Poland. *Journal of Ecological Engineering* 23, 208–222. <https://doi.org/10.12911/22989993/146679>
- Bengtsson, J., Bullock, J.M., Egoh, B., Everson, C., Everson, T., O'Connor, T., O'Farrell, P.J., Smith, H.G., Lindborg, R., 2019. Grasslands more important for ecosystem services than you might think. *Ecosphere* 10, e02582. <https://doi.org/10.1002/ecs2.2582>
- Berglund, Ö., Berglund, K., 2010. Distribution and cultivation intensity of agricultural peat and gyttja soils in Sweden and estimation of greenhouse gas emissions from cultivated peat soils. *Geoderma* 154, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2008.11.035>
- Bieniek, A., Łachacz, A., 2012. Evolution of mucky soils in the sandy outwash landscape, [In:] *Selected Problems of Wetland Conservation*. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Olsztyn, pp. 111–131.
- Bieniek, B., Bieniek, A., Helinska, A., 2005. Mineralization of organic nitrogen compounds in mucky soils under different utilization. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 505, 69–75.
- Boonman, C.C.F. et al., 2021. Plant functional and taxonomic diversity in European grasslands along climatic gradients. *Journal of Vegetation Science* 32, e13027. <https://doi.org/10.1111/jvs.13027>
- Borana, H., Kumhar, B.L., Kumhar, D.L., Jakhar, S.R., 2023. Grass based cropping system source or sink for carbon sequestration to mitigate changing climate: A review. *The Pharma Innovation Journal* 12, 582–590.

- Borek, R., 2020. Evaluation of the potential of Rural Development Programme measures for greenhouse gas emission reduction in Polish agriculture. *The Issues of Agricultural Advisory Service* 4, 20–23.
- Brağiel, P., Trąba, C., Rogut, K., 2016. Differentiation of meadows belonging to Arrhenatheretum elatioris association included in the environmental management scheme in the area of Bukowskie Foothills. *Grassland Science in Poland* 19, 51–66.
- Braun-Blanquet, J., 1964. *Pflanzensoziologie; Grundzüge der Vegetationskunde*. Springer-Verlag Wien, New York.
- Burczyk, P., Gamrat, R., Gałczyńska, M., Saran, E., 2018. The role of grasslands in providing ecological sustainability of the natural environment. *Water-Environment-Rural Areas* 18, 21–37.
- Chmolewska, D., Nobis, M., Rożej-Pabijan, E., Grześ, I.M., Radzikowski, P., Okrutniak, M., Celary, W., Sternalski, J., Shrubovych, J., Wasak-Sek, K., 2023. Matching the puzzle piece to a new jigsaw: The effect of surrounding environments on plants and invertebrates in the translocated wet meadow. *Science of The Total Environment* 904, 166637. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166637>
- Chytrý, M. et al., 2007. Plant species richness in continental southern Siberia: effects of pH and climate in the context of the species pool hypothesis. *Global Ecology and Biogeography* 16, 668–678. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2007.00320.x>
- Council Directive, 1992. Council Directive 92/43/EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A31992L0043> (16.04.2024).
- Czyż, H., Malinowski, R., Kitczak, T., Przybyszewski, A., 2013. Chemical Characteristics of Soils and Vegetation Cover of Grasslands in the Warta Estuary Valley. *Annual Set The Environment Protection* 15, 694–713.
- Dawson, Q., Kechavarzi, C., Leeds-Harrison, P.B., Burton, R.G.O., 2010. Subsidence and degradation of agricultural peatlands in the Fenslands of Norfolk, UK. *Geoderma* 154, 181–187. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2009.09.017>
- Deng, L., Wang, K., Li, J., Zhao, G., Shanguan, Z., 2016. Effect of soil moisture and atmospheric humidity on both plant productivity and diversity of native grasslands across the Loess Plateau, China. *Ecological Engineering* 94, 525–531. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.06.048>
- Diviaková, A., Stašiov, S., Pondelík, R., Pätoprstý, V., Novíkmec, M., 2021. Environmental and Management Control over the Submontane Grassland Plant Communities in Central Slovakia. *Diversity* 13, 30. <https://doi.org/10.3390/d13010030>
- Dumont, B., Franca, A., Lopez-i-Gelats, F., Mosnier, C., Pauler, C.M., 2022. Diversification increases the resilience of European grassland-based systems but is not a one-size-fits-all strategy. *Grass and Forage Science* 77, 247–256.
- Freitag, M. et al., 2023. Increasing plant species richness by seeding has marginal effects on ecosystem functioning in agricultural grasslands. *Journal of Ecology* 111, 1968–1984. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.14154>
- Glina, B., Bogacz, A., Bojko, O., Kordyjarek, M., 2013. Diversity of soils in the peatland located on slope near Karłów (Stołowe Mountain National Park). *Episteme* 3, 287–296.
- Glina, B., Piernik, A., Hulisz, P., Mendyk, Ł., Tomaszewska, K., Podlaska, M., Bogacz, A., Spychalski, W., 2019a. Water or soil—What is the dominant driver controlling the vegetation pattern of degraded shallow mountain peatlands? *Land Degradation & Development* 30, 1437–1448. <https://doi.org/10.1002/ldr.3329>
- Glina, B., Sykuła, M., Mendyk, Ł., 2019b. Land use changes and landscape pattern dynamics of a peatland area under diversified human impact: the Grójec Valley (Central Poland). *Bulletin of Geography. Physical Geography Series* 16, 21–30. <https://doi.org/10.2478/bgeo-2019-0002>
- Gonet, S., Smal, H., Chojnicki, J., 2015. Właściwości chemiczne gleb (Chemical properties of soils), [In:] *Gleboznawstwo*. PWN, pp. 189–231.
- Grzegorzczak, S., 2016. The role of grassland ecosystems in environmental management. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 586, 19–32.
- Grzywna, A., 2014. Evaluation of nutrient abundance in peat-muck soils of the Tyśmienica river basin. *Water-Environment- Rural Areas* 14, 19–26.
- Guo, Y., Liao, H.-L., Boughton, E.H., Martens-Habbena, W., 2023. Effects of land-use intensity, grazing and fire disturbances on soil bacterial and fungal communities in subtropical wetlands. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 345, 108314. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.108314>
- GUS, 2023. Statistical Yearbook of Agriculture. <https://stat.gov.pl/obszary-tematyczne/roczniki-statystyczne/roczniki-statystyczne/rocznik-statystyczny-rolnictwa-2023,6,17.html> (16.05.2024).
- Hammer, Ř., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. *PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis*. *Palaeontologia Electronica* 4, 9.
- Hennekens, S.M., Schaminée, J.H.J., 2001. Turboveg, a Comprehensive Data Base Management System for Vegetation Data. *Journal of Vegetation Science* 12, 589–591. <https://doi.org/10.2307/3237010>
- Ilński, P., Szajdak, L., 2016. Peatland disappearance. *Wydawnictwo Polskiego Towarzystwa Przyjaciół Nauk, Poznań*.
- IMGW PIB, 2022. *Meteorological Yearbook 2022*. IMGW PIB, Warszawa.
- ISO 10381-1:2002, 2002. *Soil Quality—Sampling—Part 1: Guidance on the Design of Sampling Programs*; International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.
- IUSS Working Group WRB, 2022. *World Reference Base for Soil Resources*. International soil classification system for naming soils and creating legends for soil maps. 4th edition. International Union of Soil Sciences (IUSS), Vienna, Austria.
- Janišová, M., Uhliarová, E., Ružicková, H., 2010. Expert system-based classification of semi-natural grasslands in submontane and montane regions of central Slovakia. *Tuexenia* 30, 375–422.
- Jankowska-Huflejt, H., 2007. The agro-environmental importance of permanent grasslands. *Problemy Inżynierii Rolniczej* 1, 23–34.
- Jodłowski, J., 2003. *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland)*, 1:50000. Wolsztyn (540). PIB, Warsaw, Poland.
- Jurasinski, G. et al., 2020. From Understanding to Sustainable Use of Peatlands: The WETSCAPES Approach. *Soil Systems* 4, 14. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4010014>
- Kabala, C. et al., 2019. Polish Soil Classification, 6th edition – principles, classification scheme and correlations. *Soil Science Annual* 70, 71–97. <https://doi.org/10.2478/ssa-2019-0009>
- Kącki, Z., Michalska-Hejduk, D., 2010. Assessment of Biodiversity in Molinia Meadows in the Kampinoski National Park Based on Biocenotic Indicators. *Polish Journal of Environmental Studies* 19, 351–362.
- Khalil, M.I., Cordovil, C.M. d. S., Francaviglia, R., Beverley, H., Klumpp, K., Koncz, P., Llorente, M., Madari, B.E., Muñoz-Rojas, M., Nérger, R., 2021. Grasslands. In *Recarbonizing global soils: A technical manual of recommended sustainable soil management*. FAO, Italy. <https://doi.org/10.4060/cb6595en>
- Klarzyńska, A., Kryszak, A., 2015. Causes and directions of changes of meadow-pasture vegetations of the Wielki Łęg Obrzański (WŁO). *Steciana* 18, 67–75. <https://doi.org/10.12657/steciana.018.009>
- Klarzyńska, A.A., Kryszak, A., 2015. Floristic diversity of extensively used fresh meadows (6510) in the Wielki Łęg Obrzański complex. *Acta Agrobotanica* 115–123. <https://doi.org/10.5586/aa.2015.019>
- Kopeć, M., Zarzycki, J., Gondek, K., 2010. Species diversity of submontane grasslands: effects of topographic and soil factors. *Polish Journal of Ecology* 58, 285–295.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B., Rubel, F., 2006. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* 15, 259–263. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2006/0130>
- Kozłowski, S., Zielewicz, W., Śwędryński, A., Olejarnik, Ł., 2012. Chemical properties of forest grasses. *Grassland Science in Poland* 15, 109–118.

- Krüger, J.P., Leifeld, J., Glatzel, S., Szidat, S., Alewell, C., 2015. Biogeochemical indicators of peatland degradation – a case study of a temperate bog in northern Germany. *Biogeosciences* 12, 2861–2871. <https://doi.org/10.5194/bg-12-2861-2015>
- Kryszak, A., Kryszak, J., Czernko, M., 2005. The degradation of meadows communities in Samica River Valley. *Ecological Engineering & Environmental Technology* 12, 131–132.
- Kryszak, A., Kryszak, J., Klarzyńska, A.A., Strychalska, A., 2009. Influence of expansiveness of select plant species on floristic diversity of meadow communities. *Polish Journal of Environmental Studies* 18, 1203–1210.
- Krzysztofka, M., 1993. Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland), 1:50000. Kościan (542). PIG, Warsaw, Poland.
- Kumar, V., Sharma, K.R., Sharma, V., Arya, V.M., Kumar, R., Singh, V.B., Kumar Sinha, B., Singh, B., 2017. Soil Quality Refurbishment through Carbon Sequestration in Climate Change: A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 6, 1210–1223. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.131>
- Kun, R., Babai, D., Csathó, A.I., Vadász, C., Kálmán, N., Máté, A., Malatinzky, Á., 2021. Simplicity or complexity? Important aspects of high nature value grassland management in nature conservation. *Biodivers Conserv* 30, 3563–3583. <https://doi.org/10.1007/s10531-021-02262-z>
- Łachacz, A., Kalisz, B., Sowiński, P., Smreczak, B., Niedźwiecki, J., 2023. Transformation of Organic Soils Due to Artificial Drainage and Agricultural Use in Poland. *Agriculture* 13, 634. <https://doi.org/10.3390/agriculture13030634>
- Lal, R., 2020. Managing soils for negative feedback to climate change and positive impact on food and nutritional security. *Soil Science and Plant Nutrition* 66, 1–9. <https://doi.org/10.1080/00380768.2020.1718548>
- Lisec, U., Prevolnik Povše, M., Gselman, A., Kramberger, B., 2024. Sustainable Grassland-Management Systems and Their Effects on the Physicochemical Properties of Soil. *Plants* 13, 838. <https://doi.org/10.3390/plants13060838>
- Liu, H., Price, J., Rezanezhad, F., Lennartz, B., 2020. Centennial-Scale Shifts in Hydrophysical Properties of Peat Induced by Drainage. *Water Resources Research* 56, e2020WR027538. <https://doi.org/10.1029/2020WR027538>
- Liu, L. et al., 2023. The grassland carbon cycle: Mechanisms, responses to global changes, and potential contribution to carbon neutrality. *Fundamental Research* 3, 209–218. <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2022.09.028>
- Marciniuk, P., Marciniuk, J., Sychut-Czapla, E., Oklejewicz, K., 2016. Meadows of the Molinietales order as a refuge of rare plant species in the Nadhużański Landscape Park (F. Poland). *Fragmenta Floristica et Geobotanica Polonica* 23, 73–81.
- Mashiane, K.K., Ramoelo, A., Adelabu, S., Daemane, E., 2023. Estimating mountainous plant species richness and diversity for monitoring global change in a protected grassland park. *African Journal of Ecology* 61, 636–644. <https://doi.org/10.1111/aje.13152>
- Matuszkiewicz, W., 2023. Guide to the identification of plant communities of Poland. PWN, Warsaw (in Polish)
- Mencel, J., Futa, B., Mocek-Plóćiniak, A., Mendyk, Ł., Piernik, A., Kaczmarek, T., Glina, B., 2022a. Interplay between Selected Chemical and Biochemical Soil Properties in the Humus Horizons of Grassland Soils with Low Water Table Depth. *Sustainability* 14, 16890. <https://doi.org/10.3390/su142416890>
- Mencel, J., Mocek-Plóćiniak, A., Kryszak, A., 2022b. Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review. *Agronomy* 12, 1136. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051136>
- Merunková, K., Chytrý, M., 2012. Environmental control of species richness and composition in upland grasslands of the southern Czech Republic. *Plant Ecology* 213, 591–602. <https://doi.org/10.1007/s11258-012-0024-6>
- Mitsch, W.J., Bernal, B., Nahlik, A.M., Mander, Ü., Zhang, L., Anderson, C.J., Jørgensen, S.E., Brix, H., 2013. Wetlands, carbon, and climate change. *Landscape Ecology* 28, 583–597. <https://doi.org/10.1007/s10980-012-9758-8>
- Nguyen, M.-H., 2022. Plant diversity is crucial for grassland ecosystem multifunctionality. <https://doi.org/10.31219/osf.io/8yspv>
- Nicia, P., Beijer, R., Zadrozny, P., Sterzyńska, M., 2018. The impact of restoration processes on the selected soil properties and organic matter transformation of mountain fens under Caltho-Alnetum community in the Babiogórski National Park in Outer Flysch Carpathians, Poland. *Journal of Soils and Sediments* 18, 2770–2776. <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1909-8>
- Okrusko, H., 1993. Transformation of fen-peat soils under the impact of draining. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 406, 3–73.
- Oleszczuk, R., Gąsowska, M., Guz, G., Urbański, J., Hewelke, E., 2017. The influence of subsidence and disappearance of organic moorsh soils on longitudinal sub-irrigation ditch profiles. *Acta Scientiarum Polonorum Formatio Circumietus* 3, 3–13. <https://doi.org/10.15576/ASPC/2017.16.3.3>
- Oleszczuk, R., Łachacz, A., Kalisz, B., 2022. Measurements versus Estimates of Soil Subsidence and Mineralization Rates at Peatland over 50 Years (1966–2016). *Sustainability* 14, 16459. <https://doi.org/10.3390/su142416459>
- Palpurina, S. et al., 2017. The relationship between plant species richness and soil pH vanishes with increasing aridity across Eurasian dry grasslands. *Global Ecology and Biogeography* 26, 425–434. <https://doi.org/10.1111/geb.12549>
- Pawłowski, B., 1977. Skład i budowa zbiorowisk roślinnych oraz metody ich badania (Composition and structure of plant communities and methods of their study), [In:] Szafer, W. and Zarzycki, K. Eds., *Szata Roślinna Polski*. PWN, Warszawa.
- Pawłuczuk, J., Stępień, A., Alberski, J., 2019. Physical and chemical properties of organic soils in connection with habitat conditions and the land use in the Dolina Rzeki Pasłęki Natura 2000 Site. *Journal of Elementology* 24, 437–447. <https://doi.org/10.5601/jelem.2018.23.3.1704>
- Pikuła, D., 2019. Praktyki zapobiegające stratom węgla organicznego z gleby (Practices to prevent organic carbon loss from soil). *Studia i Raporty IUNG-PIB* 59, 77–91. <https://doi.org/10.26114/SIR.IUNG.2019.59.06>
- Plante, A.F., Fernández, J.M., Haddix, M.L., Steinweg, J.M., Conant, R.T., 2011. Biological, chemical and thermal indices of soil organic matter stability in four grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 1051–1058. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2011.01.024>
- Pruchniewicz, D., Żołnier, L., Dradrach, A., 2024. The Influence of Surrounding Arable Fields on the Species Diversity and Composition of Isolated Mountain Mesic Grassland Patches. *Agriculture* 14, 180. <https://doi.org/10.3390/agriculture14020180>
- Riesch, F., Stroh, H.G., Tonn, B., Isselstein, J., 2018. Soil pH and phosphorus drive species composition and richness in semi-natural heathlands and grasslands unaffected by twentieth-century agricultural intensification. *Plant Ecology & Diversity* 11, 239–253. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1471627>
- Roth, T., Kohli, L., Rihm, B., Achermann, B., 2013. Nitrogen deposition is negatively related to species richness and species composition of vascular plants and bryophytes in Swiss mountain grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 178, 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2013.07.002>
- Rozbrojová, Z., Hájek, M., Hájek, O., 2010. Vegetation diversity of mesic meadows and pastures in the West Carpathians. *Preslia* 82, 307–332.
- Sammel, A., Niedźwiecki, E., 2006. The content of macro- and microelements in muckous soils within the Odra Floodplain. *Water-Environment-Rural Areas* 6, 293–304.
- Sapek, A., Sapek, B., 1997. Methods of chemical analysis of organic soils. IMUZ, Falenty (in Polish)

- Scholtz, R., Twidwell, D., 2022. The last continuous grasslands on Earth: Identification and conservation importance. *Conserv Sci and Prac* 4, e626. <https://doi.org/10.1111/csp2.626>
- Shannon, C.E., Weaver, W., 1949. A Mathematical Theory of Communication. University of Illinois Press, Urbana, IL.
- Šmilauer, P., Lepš, J., 2014. Multivariate analysis of ecological data using CANOCO 5. Cambridge University Press.
- Smith, P., 2014. Do grasslands act as a perpetual sink for carbon? *Global Change Biology* 20, 2708–2711. <https://doi.org/10.1111/gcb.12561>
- Smreczak, B., Niedźwiecki, J., Jadczyński, J., Łysiak, M., 2020. Current status of drained meadow soils made of low peat – pilot study. *Studies and Reports IUNG-PIB* 64, 61–75. <https://doi.org/10.26114/SIR.IUNG.2020.64.04>
- Smreczak, B., Ukalska-Jaruga, A., 2021. Dissolved organic matter in agricultural soils. *Soil Science Annual* 72, 132234. <https://doi.org/10.37501/soilsa/132234>
- Soons, M.B., Hefting, M.M., Dorland, E., Lamers, L.P.M., Versteeg, C., Bobbink, R., 2017. Nitrogen effects on plant species richness in herbaceous communities are more widespread and stronger than those of phosphorus. *Biological Conservation* 212, 390–397. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.12.006>
- Stamirowska-Krzaczek, E., 2015. The occurrence of *Poa pratensis*-*Festuca rubra* community in terms of negligence in the use of meadows. *Agronomy Science* 70, 61–72. <https://doi.org/10.24326/as.2015.1.7>
- Stypiński, P., Mastalerczuk, G., Pietkiewicz, S., 2005. The role of grassland in reduction of greenhouse effect. *Ecological Engineering & Environmental Technology* 12, 77–78.
- Suder, A., 2007. Vegetation of wet meadows (order Molinietalia caeruleae W. Koch 1926) in the eastern part of Silesia Upland. *Grassland Science in Poland* 10, 159–172.
- Swacha, G., Botta-Dukát, Z., Kącki, Z., Pruchniewicz, D., Żołnierz, L., 2018. The effect of abandonment on vegetation composition and soil properties in Molinion meadows (SW Poland). *PLoS ONE* 13, e0197363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197363>
- Świtoniak, M., Kabała, C., Charzyński, P., 2016. Proposal of English equivalents for the soil taxa names in the Polish Soils Classification. *Soil Science Annual* 67, 103–116. <https://doi.org/10.1515/ssa-2016-0013>
- Sykuła, M., 2020. Changes in the range of organic soils in young glacial landscapes in the second part of the XXth century (PhD dissertation). Nicolaus Copernicus University in Toruń, Toruń (in Polish)
- Szałajdewicz, J., 2004. Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland), 1:50000. Rakoniewice (541). PIG, Warsaw, Poland.
- ter Braak, C.J.F., Šmilauer, P., 2012. CANOCO Reference manual and User's guide: Software Ordination (version 5.0). Biometrics, Wageningen, České Budějovice.
- Tian, Q. et al., 2016. A novel soil manganese mechanism drives plant species loss with increased nitrogen deposition in a temperate steppe. *Ecology* 97, 65–74. <https://doi.org/10.1890/15-0917.1>
- Tichý, L., Holt, J., Nejezchlebová, M., 2011. JUICE program for management, analysis and classification of ecological data. 2nd Edition of the Program Manual. 2nd part. Vegetation Science Group, Masaryk University Brno, Czech Republic.
- Trąba, C., Wolański, P., 2012. Floristic diversity of meadows communities representing Molinion, Cnidion dubii and Filipendulion alliances in Poland – threats and protection. *Inżynieria Ekologiczna* 29, 224–235.
- Trąba, C., Wolański, P., Oklejewicz, K., 2008. Floristic diversity and sward use value of *Lolio-Cynosuretum* association in the San river valley. *Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska* 63, 67–73.
- Turbiak, J., 2013. Assessment of organic mass loss in mucky soil based on measurements of CO₂ emission fluxes. *Water-Environment-Rural Areas* 13, 147–159.
- Velev, N., 2018. Arrhenatheretalia elatioris uncritical checklist of Europe. *Phytologia Balcanica* 24, 99–147.
- Waller, E., Zeitz, J., 2016. How properties of differently cultivated fen soils affect grassland productivity — A broad investigation of environmental interactions in Northeast Germany. *Catena* 147, 288–299. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2016.07.024>
- Warda, M., Stamirowska-Krzaczek, E., 2010. Evaluation of the sward value and the moisture and trophicity of habitats of selected grassland communities of the class Molinio-Arrhenatheretea in the Nadwieprzański Landscape Park. *Grassland Science in Poland* 13, 183–195.
- Wellstein, C., Otte, A., Waldhardt, R., 2007. Impact of site and management on the diversity of central European mesic grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 122, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2006.12.033>
- Wilsey, B.J., 2018. Biodiversity of Grasslands, [In:] *The Biology of Grasslands*. Oxford University Press, pp. 15–39.
- Withey, P., Van Kooten, G.C., 2011. The effect of climate change on optimal wetlands and waterfowl management in Western Canada. *Ecological Economics* 70, 798–805. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2010.11.019>
- Wójcik, H., Bieniek, B., 2005. Properties of the organic matter in muck and mucky soils from Siódmań peatland. *Ecological Engineering & Environmental Technology* 12, 321–322.
- Wójcik, T., Janicka, M., 2016. Current state and changes in Molinion meadows from Kostrze environs in Kraków. *Ecological Questions* 23, 15. <https://doi.org/10.12775/EQ.2016.002>
- Wójcik, T., Kostrakiewicz-Gierał, K., Makuch-Pietras, I., 2022. The effect of accidental burning on habitat conditions and species composition of Molinion caeruleae meadows. *Journal for Nature Conservation* 70, 126294. <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2022.126294>
- Wróbel, B., Świechowska, I., Krupa, A., 2021. The Production-Related and Natural Aspects of the Use of Meadows and Pastures in Organic Farms. Agricultural Advisory Centre in Brwinów, Poznań, Polska.
- Wróbel, B., Terlikowski, J., Weso, P., Barszczewski, J., 2015. Rational Use of Lowland Meadows. ITP. Falenty. 24.
- Wróbel, M., 2012. Zróżnicowanie roślinności na gruntach nieużytkowanych rolniczo w gospodarstwach realizujących program rolnośrodowiskowy na Nizinie Szczecińskiej (Vegetation diversity on land not used for agriculture in farms implementing the agri-environmental program in the Szczecin Lowlands). Wydawnictwo Uczelniane Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego, Szczecin.
- Xu, J., Morris, P.J., Liu, J., Holden, J., 2018. PEATMAP: Refining estimates of global peatland distribution based on a meta-analysis. *CATENA* 160, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.09.010>
- Yang, Z., Baoyin, T., Li, F.Y., 2020. Long-term effects of restoration measures on soil C and C: nutrient ratios in a semiarid steppe. *Ecological Engineering* 153, 105913. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105913>
- Zajac, E., Zarzycki, J., Ryczek, M., 2018. Degradation of peat surface on an abandoned post-extracted bog and implications for re-vegetation. *Applied Ecology and Environmental Research* 16, 3363–3380. https://doi.org/10.15666/aeer/1603_33633380
- Zelnik, I., Čarni, A., 2008. Wet meadows of the alliance Molinion and their environmental gradients in Slovenia. *Biologia* 63, 187–196. <https://doi.org/10.2478/s11756-008-0042-y>
- Zhao, Y. et al., 2023. Soil organic matter enhances aboveground biomass in alpine grassland under drought. *Geoderma* 433, 116430. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2023.116430>

Zróżnicowanie jednostek syntaksonomicznych roślinności użytków zielonych w zależności od właściwości fizykochemicznych gleb torfowych w dolinie rzeki Obry

Słowa kluczowe

Gleby murszowe
Zróżnicowanie florystyczne
Zbiorowiska roślinne
Molinio-Arrhenatheretea

Streszczenie

Celem pracy było przedstawienie struktury fitosocjologicznej wybranych zbiorowisk trawiastych na płytkich glebach torfowych podlegających procesowi murszenia (humifikacji i mineralizacji torfu). Obszar badań zlokalizowany był pomiędzy północnym, środkowym i południowym kanałem rzeki Obry (Nizina Wielkopolska, centralna Polska). Badania glebowe przeprowadzono w maju i wrześniu 2022 roku, a badania fitosocjologiczne w maju i wrześniu 2022–2023 roku. Próbkę gleby do analiz laboratoryjnych pobrano z najwyższych poziomów glebowych na głębokości 0–20 cm w 20 punktach badawczych. Wykonano 76 zdjęć fitosocjologicznych. Wyróżniono pięć jednostek syntaksonomicznych roślinności: *Molinietum caeruleae*, zbiorowisko z *Poa pratensis-Festuca rubra*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* i *Alopecuretum pratensis*. Jednostką syntaksonomiczną o najwyższych wartościach wskaźnika różnorodności i liczbie gatunków odnotowanych w zdjęciach fitosocjologicznych było *Molinietum caeruleae*, podczas gdy najuboższym w gatunki z najniższym wskaźnikiem było *Lolio-Cynosuretum*. Gleby zostały sklasyfikowane jako Umbric Gleysols, Mollic/Umbic Gleysols, Histic Gleysols, Histic Gleysols (Murshic). Najwyższe zawartości TOC i TN odnotowano dla zbiorowiska *Poa pratensis-Festuca rubra*, a najniższą dla *Arrhenatheretum elatioris*. Wartości pH wskazywały na gleby lekko kwaśne w przypadku następujących jednostek syntaksonomicznych: *Alopecuretum pratensis*, *Molinietum caeruleae*, *Lolio-Cynosuretum*, zb. *Poa pratensis-Festuca rubra* oraz gleby lekko zasadowe w przypadku *Arrhenatheretum elatioris*. Wyniki analizy dyskryminacyjnej wykazały, że najważniejszym statystycznie istotnym czynnikiem różnicującym zbiorowiska roślinne było pH gleby mierzone zarówno w H_2O , jak i w KCl. *Molinietum caeruleae* występowało na glebach ubogich w składniki mineralne o stosunkowo wysokim stosunku C:N. Wskaźnik różnorodności Shannona-Wienera był istotnie ujemnie skorelowany z TOC i TN. Wskazane jest dalsze utrzymywanie badanych stanowisk jako roślinności łąkowej. Zbiorowiska użytków zielonych mają szansę na przetrwanie w procesie murszenia, pod warunkiem prawidłowego użytkowania (regularnego koszenia lub wypasania i nawożenia) i regulacji stosunków wodnych. Użytki zielone, oprócz wzbogacania gleb w składniki pokarmowe, stwarzają najlepsze warunki do ograniczenia procesu rozkładu materii organicznej w poziomach akumulacyjnych i próchnicznych o charakterze murszowym, co jest niezwykle istotne w obliczu zmian klimatycznych.

Appendix 1. Summary phytosociological table

Plant species	<i>Molinietum caeruleae</i>			<i>Alopecuretum pratensis</i>			<i>Arrhenatheretum elatioris</i>			<i>Lolio-Cynosuretum</i>			<i>com. Poa pratensis-Festuca rubra</i>		
	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³
Species characteristic of the class <i>Molinio-Arrhenatheretea</i>															
<i>Achillea millefolium</i>	4	III	25	3	II	37.5	9	III	28.1	2	I	3.8	12	IV	37.5
<i>Anthoxanthum odoratum</i>							2	I	6.3	4	II	12.5	3	III	9.4
<i>Avenula pubescens</i>							10	III	31.3						
<i>Cardamine pratensis</i>	12	V	50	15	V	44.4	6	II	18.8				5	II	13.1
<i>Centaurea jacea</i>	2	I	1.7				2	I	1.3						
<i>Cerastium holosteoides</i>	9	IV	37.5	7	III	21.9	11	IV	62.5	5	II	13.1	7	III	21.9
<i>Festuca pratensis</i>	9	IV	329.2	2	I	6.3				10	III	31.3	6	III	46.9
<i>Holcus lanatus</i>	2	I	7.3	14	V	212.5	8	III	81.3	7	III	21.9	7	III	21.9
<i>Lathyrus pratensis</i>	1	I	4.2	4	II	12.5	1	I	3.1				2	I	6.3
<i>Odontites serotina</i>	3	II	12.5												
<i>Plantago lanceolata</i>	6	III	62.5	7	III	21.9	13	IV	40.6	7	III	21.8	9	III	218.8
<i>Prunella vulgaris</i>	7	II	29.2												
<i>Ranunculus acris</i>				14	V	43.8	13	IV	68.8	5	II	13.1	14	IV	100
<i>Rumex acetosa</i>				9	III	28.1	12	IV	65.6				9	III	28.1
<i>Trifolium pratense</i>				4	II	12.5	16	V	106.3				12	IV	37.5
<i>Vicia cracca</i>	2	I	8.3	4	II	12.5	2	I	1.3				2	I	6.3
Species characteristic of the order <i>Molinietalia caeruleae</i>															
<i>Alopecurus pratensis</i>				16	V	4844	12	IV	121.9	12	IV	65.6	15	V	159.4
<i>Carex cespitosa</i>	8	IV	33.3												
<i>Cirsium oleraceum</i>				2	I	3.8									
<i>Deschampsia caespitosa</i>	10	IV	41.7										3	II	9.4
<i>Equisetum palustre</i>	2	I	1.7										1	I	0.6
<i>Filipendula ulmaria</i>	1	I	0.8	4	II	10				1	I	0.6			
<i>Lathyrus palustris</i>	4	II	13.3												
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	5	III	14.2	9	III	25.6	4	II	40.6	2	I	6.3	15	V	156.9
<i>Lysimachia vulgaris</i>	8	IV	33.3				1	I	3.1						
<i>Lythrum salicaria</i>	3	II	5.8												
<i>Molinia caerulea</i>	12	V	3583												
<i>Poa palustris</i>				13	IV	125	2	I	6.3	1	I	3.1	13	IV	309.4
<i>Symphytum officinale</i>							1	I	3.1						
<i>Thalictrum flavum</i>	2	I	5	3	II	9.4							6	II	18.8
<i>Viola pumila</i>	2	I	8.3												
Species characteristic of the order <i>Arrhenatheretalia elatioris</i>															
<i>Arrhenatherum elatius</i>							16	V	4063				3	I	37.5
<i>Bellis perennis</i>										11	IV	34.4	9	III	84.4
<i>Bromus hordeaceus</i>							6	II	18.8	9	III	28.1			
<i>Dactylis glomerata</i>	1	I	4.2	5	II	15.6	13	IV	40.6	8	III	25	4	II	12.5

continue – Appendix 1. Summary phytosociological table

Plant species	<i>Molinietum caeruleae</i>			<i>Alopecuretum pratensis</i>			<i>Arrhenatheretum elatioris</i>			<i>Lolio-Cynosuretum</i>			<i>com. Poa pratensis-Festuca rubra</i>		
	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³
<i>Daucus carota</i>				3	II	6.9				1	I	0.6			
<i>Festuca rubra</i>	12	V	50										9	III	112.5
<i>Galium mollugo</i>				7	III	21.9	16	V	106.3	4	II	12.5	12	IV	37.5
<i>Geranium pratense</i>							1	I	0.6						
<i>Heracleum sphondylium</i>				4	II	12.5	13	IV	40.6	1	I	0.6	5	II	15.6
<i>Leontodon autumnalis</i>	5	II	17.5							3	I	9.4			
<i>Leucanthemum vulgare</i>							5	II	15.6				2	I	6.3
<i>Lolium perenne</i>	1	I	4.2	5	II	43.8	10	III	31.3	16	V	3938	2	I	6.3
<i>Poa pratensis</i>	10	IV	550	15	V	925	15	V	668.8	16	V	515.6	16	V	3563
<i>Polygala comosa</i>	1	I	0.8												
<i>Saxifraga granulata</i>							4	II	10						
<i>Taraxacum officinale</i>	2	I	8.3	12	IV	65.6	15	V	46.9	10	IV	143.8	13	IV	40.6
<i>Trifolium dubium</i>							2	I	6.3						
<i>Trifolium repens</i>	2	I	8.3	8	III	25	3	II	37.5	10	IV	115.6	12	IV	278.1
Species characteristic of the orders <i>Trifolio fragiferae</i> - <i>Agrostietalia stoloniferae</i> and <i>Plantaginetalia majoris</i>															
<i>Agrostis stolonifera</i>	10	IV	154.2							6	II	18.8	7	III	21.9
<i>Alopecurus geniculatus</i>				2	I	6.3				1	II	3.1			
<i>Carex hirta</i>										4	II	12.5			
<i>Festuca arundinacea</i>	4	II	13.3	4	II	68.8									
<i>Inula britannica</i>	3	I	50												
<i>Plantago major</i>				2	I	6.3	7		21.9	9	III	84.4	6	II	18.8
<i>Poa annua</i>										3	I	9.4			
<i>Potentilla anserina</i>	11	V	334.2				4	II	12.5						
<i>Potentilla reptans</i>	3	I	12.5				1	I	3.1	1	I	3.1	2	I	6.3
<i>Ranunculus repens</i>	9	IV	150	8	III	25	8	III	25	6	II	18.8	16	V	50
<i>Rumex crispus</i>				4	II	12.5	1	I	0.6	1	I	0.6	1	I	3.1
<i>Triticum repens</i>										1	I	3.1	1	I	3.1
Species characteristic of the class <i>Phragmitetea</i>															
<i>Carex acuta</i>	8	IV	70.8	8	III	25	1	I	3.1				9	III	28.1
<i>Galium palustre</i>	2	I	1.7										3	II	9.4
<i>Iris pseudacorus</i>	2	I	5												
<i>Mentha aquatica</i>	12	V	50										4	II	12.5
<i>Peucedanum palustre</i>	3	I	2.5												
<i>Phalaris arundinacea</i>	2	I	5	11	IV	90.6	1	I	3.1				11	IV	231.3
<i>Phragmites australis</i>	12	V	50				1	I	0.6						
<i>Rumex hydrolapathum</i>				2	I	6.3									
<i>Sium latifolium</i>													2	I	1.3

continue – Appendix 1. Summary phytosociological table

Plant species	<i>Molinietum caeruleae</i>			<i>Alopecuretum pratensis</i>			<i>Arrhenatheretum elatioris</i>			<i>Lolio-Cynosuretum</i>			<i>com. Poa pratensis-Festuca rubra</i>		
	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³	No. ¹	C ²	D _{mean} ³
Others															
<i>Artemisia vulgaris</i>													1	I	0.6
<i>Bromus inermis</i>										1	I	3.1			
<i>Calystegia sepium</i>	6	III	15	2	I	6.3									
<i>Capsella bursa-pastoris</i>				5	II	13.1	3	II	9.4	2	I	3.8	1	I	3.1
<i>Cerastium arvense</i>							1	I	3.1						
<i>Chenopodium album</i>							1	I	0.6						
<i>Cirsium arvense</i>	1	I	4.2				2	I	6.3						
<i>Conyza canadensis</i>							1	I	0.6						
<i>Cynoglossum officinale</i>							1	I	0.6						
<i>Echinochloa crus-galli</i>							1	I	0.6						
<i>Eupatorium cannabinum</i>	4	II	10												
<i>Glechoma hederacea</i>	2	I	8.3	4	II	12.5	1	I	3.1				1	I	3.1
<i>Hydrocotyle vulgaris</i>	11	V	120.8												
<i>Hypericum perforatum</i>	1	I	0.8												
<i>Hypochoeris radicata</i>	6	III	15												
<i>Juncus articulatus</i>	10	IV	41.7												
<i>Lactuca serriola</i>	1	I	0.8												
<i>Linaria vulgaris</i>							2	I	6.3				1	I	3.1
<i>Luzula multiflora</i>	3	II	12.5												
<i>Melandrium album</i>							6	II	15.6				1	I	0.6
<i>Melandrium rubrum</i>	1	I	0.8												
<i>Polygonum persicaria</i>	1	I	0.8	3	I	6.9				2	I	6.3	2	I	6.3
<i>Rorippa palustris</i>				2	I	6.3									
<i>Rubus gracilis</i>	3	II	12.5												
<i>Rumex obtusifolius</i>				4	II	12.5							1	I	0.6
<i>Stellaria media</i>				4	II	12.5	2	I	6.3	1	I	0.6	1	I	3.1
<i>Urtica dioica</i>				3			1	I	0.6						
<i>Veronica arvensis</i>				3	I	9.4	2	I	6.3	3	II	9.4	2	I	6.3
<i>Veronica chamaedrys</i>				3	II	9.4	6	II	18.8						
<i>Veronica persica</i>							2	I	6.3						
<i>Vicia hirsuta</i>	2	I	1.7										3	I	4.4
<i>Vicia sepium</i>				2	I	6.3									

¹ – number of occurrences, ² – phytosociological constant, ³ – mean cover index

16 species characteristic of the vegetation syntaxonomic units

11 species with the highest cover index in the vegetation syntaxonomic units

Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Odra River valley: a preliminary study

Mencel J., Gąsecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płóćiniak A.

Soil Science Annual, 76(2), 205498. (2025)

<https://doi.org/10.37501/soilsa/205498>

Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Odra River valley: a preliminary study

Justyna Mencil^{1*}, Monika Gąsecka², Marta Molińska-Glura³, Agnieszka Mocek-Płóćiniak¹

¹ Poznan University of Life Sciences, Department of Soil Science and Microbiology, Szydlowska 50, 60-656 Poznan, Poland

² Poznan University of Life Sciences, Department of Chemistry, Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznan, Poland

³ Poznan University of Life Sciences, Department of Forestry Economics and Technology, Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznan, Poland

* Corresponding author: (Master of Engineering, Justyna Mencil, justyna.mencil@up.poznan.pl), ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0003-2466-8753>

Abstract

Received: 2025-01-29

Accepted: 2025-05-23

Published online: 2025-05-23

Associated editor: Anna Gałazka

Keywords:

Soil microorganisms

Grasslands

Vegetation units

Phenols

Soil organic matter

The aim of the study was to evaluate the relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils. The objects of the study were topsoils (0–20 cm) from under grasslands located along the Odra River (Wielkopolska Lowland, central Poland). The field survey was conducted in September 2022. Five vegetation syntaxonomic units were selected in the study area: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum*, and community *Poa pratensis-Festuca rubra*. A one-way ANOVA test for pH showed statistically significant differences between grasslands ($p_{H_{2O}} p=0.000$ and $p_{H_{KCl}} p=0.000$). The abundance of heterotrophic bacteria ($p=0.000$), actinobacteria ($p=0.001$), and fungi ($p=0.014$) were also traits that significantly differentiated grassland vegetation units. One-way ANOVA test showed that of all the phenolic compounds analyzed, only two were found to be significant: vanillic acid ($p=0.003$) and catechin ($p=0.002$). Our research indicates a positive correlation of actinobacteria with cinnamic and caffeic acid, heterotrophic bacteria with *p*-coumaric and ferulic acid and catechin, and fungi with gallic acid and catechin. In addition, taking into account statistically significant features, it can be concluded that *Molinietum caeruleae* shows a different structure compared to the other vegetation units, the *Arrhenatheretum elatioris* and *Lolio-Cynosuretum* group are similar, while com. *Poa pratensis-Festuca rubra* and *Alopecuretum pratensis* show different structures from the others. Environmental research is increasingly focusing on enhancing soil organic carbon accumulation. Understanding the relationship between phenolic compounds and microorganisms in grassland soils is crucial in this context. Proper grassland management is a key element of environmental protection.

1. Introduction

One of the main threats to soils is the decline in soil organic matter (SOM) content, at the same time SOM content is the most frequently cited indicator of soil quality. Grasslands are the richest in carbon of all agricultural ecosystems, storing approximately 34% of total global carbon stocks in terrestrial ecosystems. Grassland soils vary greatly in their organic matter content and quality. These soils have a higher organic matter content than cultivated soils. In Poland, the organic grassland soils organic carbon content is 10.42%, while in mineral soils, it is 3.81% (Pietrzak and Hołaj-Krzak, 2022). The organic carbon content in cultivated soils is about 2.2% (Kończak, 2020). This is due to better conditions for immobilization and accumulation of SOM. These characteristics favor the sequestration of organic carbon in the soil. It is reported that global carbon sequestration in farmland soils is estimated at 0.3 t C ha⁻¹ per

year, while in grasslands, it is 0.5–0.7 t C ha per year (Eze et al., 2018; Piłkuła, 2019; Ziółkowska, 2019). Valuable sources of SOM in grassland soils are dead above-ground parts of plants, plant roots, natural and organic fertilizers, soil-decayed microorganisms, and animal feces (Ziółkowska, 2014).

Plants produce a highly diverse set of primary and secondary metabolites. Cellulose, hemicelluloses, and lignins are important compounds of plant origin in the humification process. In addition, tannins, terpenes, and microorganism metabolites may also be involved in the process. Studies indicate that in grass communities, most lignins are contained in the roots of plants (up to 20%), while in the aboveground parts of grasses, they account for 2.1–9.1% d.m. (Ziółkowska et al., 2020a; Zwetsloot et al., 2020).

Among the phenolic compounds found in meadow soils, we can distinguish hydroxybenzoic acid and its derivatives (e.g., dihydroxybenzoic, protocatechuic (PA), syringic (SYR), and va-

nillic (VA) acids), hydroxycinnamic acid and its derivatives (e.g., cinnamic, ferulic (FEA), *p*-coumaric (*p*-CO), depsides of the core of the molecule, which contain an ester bond (e.g. chlorogenic acid (CHA)) (Ziółkowska et al., 2020b, 2020a).

Phenolic compounds are key in soil-plant interactions, affecting soil structure, chemical composition, and biological activity. Their effects can be both beneficial (e.g., by participating in the defense reactions of plants against pathogenic microorganisms: viruses, fungi or bacteria or by increasing plant resistance to stress) and negative (e.g., through toxicity or impact on nutrient availability) (Adom et al., 2003; Babenko et al., 2019; Golonko et al., 2015; Hättenschwiler and Vitousek, 2000; Kulbat, 2016; Moreira et al., 2020; Sies and Jones, 2020).

There is no doubt that phenolic compounds are an essential part of humification processes in the soil. These compounds are widely distributed in the environment and are one of the main components of soils (Clemensen et al., 2020; Horvat et al., 2020; Ziółkowska et al., 2020b). Many phenolic compounds dissolve well in water, including phenolic acids and tannins. In this form, they remain in solution between soil particles, where they can undergo reversible sorption due to hydrophobic, hydrogen, and ionic interactions. The processes of condensation and polymerization of these substances with amino acids and proteins in the soil lead to the formation of organic acids of high molecular weight, such as fulvic acids, humic acids, and humins, which changes the properties of the soil (Misra et al., 2023; Schmidt et al., 2011; Usha Rani and Jyothsna, 2010).

Phenolics play a vital role in the plant-soil relationship by modifying the growth and development of higher plants and soil microorganisms. They provide feedback to soil organic matter-degrading microorganisms by altering soil pH, nutrient availability, and enzyme activity (Macias-Benitez et al., 2020; Min et al., 2015; Sadej et al., 2016). For instance, phenols such as catechins can influence the mobility of phosphorus in the soil. When combined with organic acids, these compounds transform poorly soluble forms of soil phosphorus into more soluble forms, which is crucial for supplying phosphorus to plants (Hu et al., 2005; Sugiyama and Yazaki, 2012). Phenolic compounds also affect nitrogen availability by inhibiting the activity of nitrifying microorganisms. They can hinder the activity of enzymes involved in nitrogen metabolism, consequently reducing the rate of nitrogen transformation (Adamczyk et al., 2008; Chen et al., 2025; Ma et al., 2016; Thorpe and Callaway, 2011; Wang et al., 2013). On the other hand, at low concentrations, they can increase nitrogen mineralization (Chen et al., 2018). Therefore, phenolic compounds can potentially serve as biological nitrogen regulators.

Phenolic compounds regulate the response of plants caused by abiotic stress and other external stimuli (Golonko et al., 2015; Misra et al., 2023). Many phenolic allelochemical compounds inhibit the growth of other plants, affecting their germination and root development (Sugiyama and Yazaki, 2012). Microorganisms interacting with plants and soil secrete many allelochemicals, including lytic enzymes such as glucanases and chitinases, which affect the development of various plant diseases. For example, beta-1,3-glucanase destroys cell walls, which can lead to *Pythium phanidermatum* root rot and *Fusarium oxysporum* fusarium rot

(Chatterton and Punja, 2009; Polyak and Sukcharevich, 2019). Plants also secrete phenolic compounds in response to stress from pathogens and insects (Golonko et al., 2015; Usha Rani and Jyothsna, 2010). For example, lignin protects plants from insect and pathogen attacks (Barakat et al., 2010; Johnson et al., 2009). Another example is quinones, which exhibit direct toxicity to insects and hinder herbivores' digestion of plant proteins (Bhonsong et al., 2009; Misra et al., 2023). Salicylic acid, on the other hand, is considered a secondary transmitter of information in the process of developing plant resistance to viruses and bacteria (Gałązka, 2013).

Environmental factors such as soil pH, temperature, and humidity can affect the degradation of phenols (Bell and Henry, 2011; Sinsabaugh, 2010; Xin et al., 2024; Ziółkowska et al., 2020a). Research indicates that predicting the direction of phenolic decomposition is difficult. The relationship between phenol oxidase activity and the concentration of phenols under natural conditions is unclear. Some authors indicate a positive correlation (Yao et al., 2009), while others show a negative one (White et al., 2011). In the case of peats, which have a high content of phenolic compounds, there is a correlation that the higher the phenolic oxidase content, the higher the phenolic content, resulting in a positive correlation. It is worth noting that drought increases the dynamics of decomposition, which is due to the higher activity of the described enzyme (Fenner et al., 2005).

Topsoil is the place where there is an accumulation of various interactions between microorganisms and plants. Soil microorganisms play an important role in grassland ecosystems through their influence on plant physiology. Root exudates secreted here improve the plant's interactions with soil microorganisms and accelerate the decomposition of SOM (Ma et al., 2022; Sun et al., 2024; Zwetsloot et al., 2020). Phenolic compounds are released from plants mainly during the decomposition process of mulch but can also be released as root exudates. Phenolic compounds induce the selection of soil microorganisms because they can be toxic to them at low concentrations. Due to their antibacterial properties, plant polyphenols can affect bacterial cells through various mechanisms, such as binding to proteins and cell walls, disturbing cytoplasmic functions and membrane permeability, inhibiting metabolic processes related to energy production, damaging DNA and blocking nucleic acid synthesis (Lobiuc et al., 2023). Gram-positive bacteria are most sensitive to phenolic compounds, which is due to the presence of peptidoglycans on their surface and the lack of an outer membrane. For example, gallic acid can affect the charge, hydrophobicity, and permeability of the membrane and, in the case of Gram-negative bacteria, lead to its destabilization (Cueva et al., 2010; Kahkeshani et al., 2019). Ferulic acid has antibacterial activity against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes* at a minimum inhibitory concentration of 100 to 1250 µg/ml, while gallic acid has activity in the range of 500–2000 µg/ml (Borges et al., 2013). Phenolic acids can affect bacteria not only by affecting the cell membrane but also through other mechanisms. For example, *p*-coumaric acid has the ability to bind bacterial DNA (Lou et al., 2012).

However, phenol-rich soils contain groups of microorganisms that are resistant and capable of degrading phenols (Cloc-

chiatti et al., 2021; Morones-Esquivel et al., 2022). Phenol-resistant organisms are, for example, Zygomycetes, Hypocreales, and Melanconiales (Mäkelä et al., 2015). Another example is *Burkholderia hospita* actively metabolizes benzoic acid but also reproduces in soil with high concentrations of this phenolic compound (100 µg of benzoic acid was dosed in the soil four times in this experiment) (Pumphrey and Madsen, 2008). Stimulation of microorganisms by phenolic compounds contained, for example, in root exudates, may occur from edaphic factors (Suseela et al., 2016).

The main objective of this study was to evaluate the relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils. A better understanding of these relationships is crucial for further research on phenols and their effects on soil microorganisms. We address the following research hypotheses: 1. Vegetation stimulates the secretion of phenolic compounds, which affects the abundance of selected microorganisms; 2. The content of phenolic compounds in grassland soils depends on the content of organic matter and soil pH.

2. Materials and methods

2.1. Study area and sampling

The present study was conducted on semi-natural grasslands located along the Obra River (Wielkopolska Lowland, central Poland). The following grassland vegetation syntaxonomic units were recorded in the study area: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* and community (com.) *Poa pratensis-Festuca rubra*. The relevés were made at 20 survey points, represented areas of 100 m² and homogeneous species composition. The locations of the 20 sampling sites were marked in the field and described in a previous article (Mencel et al., 2024). Selected sites were sampled for soils in September 2022. Soil samples for laboratory analysis were taken from the uppermost soil horizons at 0–20 cm depth. In the area of each phytosociological relevés, the soil was taken from three points and then spooled to one sample (to account for potential soil variability). Soil samples were collected in plastic bags and transported in a lightproof box to the laboratory. Soil was collected using Egner's Cane.

2.2. Chemical Analyses

Under laboratory conditions, the soils were dried and homogenized, then sieved through a 2 mm sieve. Chemical analyses included the following parameters: determination of total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) using a Vario-Max CNS analyzer and determination of soil pH potentiometrically in 1 M KCl and in a suspension of distilled water in a 1:2.5 ratio.

2.3. Biological Analyses

Soil microorganisms count was measured using the plate method on adequate selective substrates with five replicates. The total count of colony-forming units (CFU) of heterotrophic

bacteria, actinobacteria, and fungi was measured. Heterotrophic bacteria count was measured on ready-made Merck standard agar medium (26° for 5 days). Fungi count was measured on a Martin substrate (Martin, 1950) after a 5-day incubation at 24°. Actinobacteria count was measured on a selective Pochon substrate (Grabińska-Loniewska, 1999), where the plates were incubated for 7 days at 26°.

2.4. Extraction of phenolic compounds

The phenolic compounds were extracted from dried soil according to Ziółkowska et al. (2020a) with some modifications. The soil samples were mixed with distilled water and 2M NaOH, were sonicated, and heated for 30 minutes at 90°C. After cooling the samples were neutralized with 6M HCl. Then, the extraction with diethyl ether was performed twice. The extract was transferred to vials. Next, the 6 M HCl was used for acid hydrolysis in a water bath at 80°C for 30 min. Then, the samples were extracted with diethyl ether (twice). The extracts were transferred to alkaline hydrolyzed extract and evaporated to dryness. Before ultra-performance liquid chromatography (UPLC) analyses, the samples were dissolved in 1mL methanol and filtrated.

2.5. UPLC analysis

High-performance liquid chromatography (ACQUITY UPLC H-Class System Waters Corporation, Milford, MA, USA) consisting of a quaternary pump solvent management system, online degasser, and autosampler was used to quantify phenolic compounds (Gąsecka et al., 2023; Kurasiak-Popowska et al., 2022). A Waters Acquity UPLC BEH C18 column (150 × 2.1 mm, 153 1.7 µm) thermostated at 35°C was used to separate phenolic compounds. The gradient elution with water and acetonitrile (both containing 0.1% formic acid, pH=2) with flow 0.4 ml min⁻¹ was according to the gradient program: 5% B (2 min), 5–16% B (5 min), 16% B (3 min), 16–20% B (7 min), 20–28% B (11 min), 28% (1 min), 28–60% B (3 min) 60–95% B (1 min), 65% B (1 min), 95–5% B (0.1 min) min⁻¹ 5% B (1.9 min). The injection of the extracts, filtered through a 0.22 mm syringe filter, was 5 µl. Identification of the compounds was based on comparing the retention times of the peaks with the retention times of chemical standards. Detection was performed using an external detector on a Waters Photodiode Array Detector (Waters Corporation, Milford, MA, USA) at the following wavelengths λ=280 nm (catechin, gallic acid, 4-hydroxybenzoic acid (4-HBA), syringic acid, cinnamic acid, vanillic acid) and λ=320 nm (2,5-dihydroxybenzoic acid (2,5-DHBA), caffeic acid, chlorogenic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, sinapic acid). The detection limits (DL) were calculated based on a signal-to-noise ratio 3:1. The recovery rates of the phenolics as follows: gallic acid – 92 ± 4.4%, vanillic acid – 79 ± 8.5%, catechin – 89 ± 5.7%, 4-HBA – 96 ± 3.78%, chlorogenic acid – 92 ± 2.8%, caffeic acid – 86 ± 6.7%, syringic acid – 94 ± 3.9%, *p*-coumaric acid – 89 ± 3.6%, ferulic acid – 91 ± 4.9%, sinapic acid – 94 ± 5.1%, and cinnamic acid – 97 ± 2.9% (Kurasiak-Popowska et al., 2022). Raw data were acquired and processed using Empower 3 software.

The standards of phenolic compounds (4-HBA ≥ 99%, 2,5-DHBA ≥ 98%, gallic acid ≥ 98%, vanillic acid ≥ 97%, syringic acid

≥ 98%, catechin ≥ 98%, *p*-coumaric acid ≥ 98%, ferulic acid ≥ 98%, chlorogenic acid ≥ 95%, sinapic acid ≥ 97, cinnamic acid ≥ 99%, were obtained from Sigma-Aldrich (Steinheim, Germany). Caffeic acid (certified reference material TraceCERT®) was purchased in Sigma-Aldrich (Basel, Switzerland). Ethanol (absolute for EMSURE® ACS, ISO, Reag. Ph Eur, ≥ 99.9 %).

2.6. Statistical Analysis

For statistical analysis of the mean levels of the analyzed soil parameters, a single one-way ANOVA test was used, with a prior check of the conformity of the analyzed variables to a normal distribution in all subgroups based on the Kolmogorov-Smirnov test. Tukey's HSD post-hoc test was used to evaluate homogeneous groups. The correlation analysis of traits was based on the Student's *t*-test for the *r*-Pearson linear correlation coefficient. We used $\alpha = 0.05$ as the level of statistical significance. Cluster analysis is a multivariate method that searches for patterns in a data set by grouping the observations into clusters (Polowy and Molińska-Glura, 2023). The distance between the data determines the level of data similarity. The small distance between the data indicates a high similarity level of the data. Euclidean metric was used as a measure of similarity.

3. Results and discussion

3.1. Chemical soil properties

Grassland soils are an extremely important element in the carbon sequestration process, as they provide suitable conditions for the accumulation and storage of organic matter. These stores should be protected. It cannot be denied that phenolic compounds play a very important role in the transformation of soil organic matter. These compounds are one of the most common components in the soil, which affect the circulation of nutrients and the abundance of soil microorganisms (Wiesmeier et al., 2019; Ziółkowska et al., 2020a). According to Min et al. (2015) and Ziółkowska et al. (2020a), the high content of phenolic compounds in the soil solution reduces the intensity of soil organic matter decomposition.

The total organic carbon (TOC) content in the grassland soils analyzed differed among selected syntaxonomic units of grassland vegetation (Table 1). The highest TOC content was recorded in *Alopecuretum pratensis* (148.23 g kg⁻¹) and the lowest in *Molinietum caeruleae* (69.40 g kg⁻¹). The contents were distributed similarly for TN, with the highest recorded in *Alopecuretum pratensis* and the lowest in *Molinietum caeruleae* (Table 1). The pH values indicated slightly acidic soils in *Alopecuretum pratensis*, *Molinietum caeruleae*, *Lolio-Cynosuretum*, com. *Poa pratensis-Festuca rubra* and slightly alkaline soils in *Arrhenatheretum elatioris*. A one-way ANOVA test for pH showed statistically significant differences between grasslands (for pH_{H2O} $p=0.000$ and for pH_{KCl} $p=0.000$). Tukey's post-hoc tests revealed that *Arrhenatheretum elatioris* differed from other vegetation units (Table 1).

3.2. Abundance of microorganisms in soils

The soil of grassland ecosystems contains huge amounts of microorganisms, including bacteria, fungi, and other life forms. Environmental factors play a key role in shaping microbial communities. Soil microorganisms are uniquely susceptible to conditions in their environment. They are able to respond quickly to changes in the soil, which in turn affects plant species diversity and soil structure (Ma et al., 2023). Microorganisms perform key functions such as decomposing organic matter, maintaining soil fertility, improving soil structure and drainage, sequestering carbon, and regulating greenhouse gas emissions. High levels of microbial abundance and diversity lead to significant improvements in the resilience of the ecosystem, which is soil (Grządziel, 2017; Maron et al., 2018; Roux et al., 2011).

Soil bacteria are the most numerous and widespread microorganisms in the soil, accounting for 70% to 90% of the total soil microbial population (Chi et al., 2023; Lu et al., 2022; Sui et al., 2019). Our study noted that heterotrophic bacteria had the highest abundance among the analyzed microorganisms (Table 1). The highest abundance was observed in *Alopecuretum pratensis* and the lowest in *Molinietum caeruleae*. The one-way ANOVA test indicates that individual grassland units differ significantly for the analyzed trait ($p=0.000$). Tukey's post-hoc tests showed that *Alopecuretum pratensis* stands out significantly from other grassland units (Table 1). For actinobacteria, the highest abundance values were recorded in *Lolio-Cynosuretum* and the lowest in *Molinietum caeruleae* (Table 1). As with heterotrophic bacteria, individual grassland units differed significantly due to actinobacteria ($p=0.001$). Due to actinobacteria, individual grassland units form three homogeneous groups (Table 1). Another trait analyzed was the number of fungi. Their abundance in all grassland units was most equal. However, the greatest number of fungi was recorded in *Alopecuretum pratensis* and the least in com. *Poa pratensis-Festuca rubra*. One-way ANOVA test indicates that fungi significantly differentiated grassland units ($p=0.014$). Due to fungi, individual vegetation units form two similar groups (Table 1).

3.3. Phenolic compound content

There are many phenolic compounds in grassland soils. However, according to Kovaleva and Kovalev (2009), a characteristic of these soils is the predominance of *p*-coumaric and ferulic acids compared to the content of other phenolic compounds, which is due to the species composition of the sward. The chemical composition of plants affects the chemical composition of soil organic matter and humus.

The phenolic profile of the analyzed plants was very diverse. Within *Molinietum caeruleae*, catechin had the highest content (3.66 µg g⁻¹ d.m. soil) and cinnamic acid the lowest (0.18 µg g⁻¹ d.m. soil). 2,5-dihydroxybenzoic acid and sinapic acid were detected but at concentrations below the detection limit. *Alopecuretum pratensis* had a very high syringic acid content compared to other grassland units (Table 1). In the rim of this syntaxonomic unit, the lowest value was re-

Table 1

Characterization of the chemical and microbial soil properties (mean±SD). Statistically significant differences in the tested parameters between grass-land vegetation syntaxonomic units are marked by different letters (n=4)¹

Variable	<i>Molinietum caeruleae</i>	<i>Alopecuretum pratensis</i>	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	com. <i>Poa pratensis</i> - <i>Festuca rubra</i>
pH _{H2O} <i>p</i> =0.000 ²	6.42±0.28 ^a	6.27±0.20 ^a	7.71±0.18 ^b	6.58±0.47 ^a	6.62±0.24 ^a
pH _{KCl} <i>p</i> =0.000 ²	6.05±0.30 ^a	6.00±0.18 ^a	7.29±0.17 ^b	6.13±0.59 ^a	6.31±0.24 ^a
10 ⁵ cfu g ⁻¹ d.m. soil					
Heterotrophic bacteria <i>p</i> =0.000 ²	30.44±7.59 ^a	162.17±60.08 ^b	71.66±22.62 ^a	57.77±1.83 ^a	46.85±7.24 ^a
Actinobacteria <i>p</i> =0.001 ²	11.97±6.07 ^a	60.43±24.29 ^{bc}	55.69±20.30 ^{abc}	84.19±31.07 ^c	26.61±6.24 ^{ab}
10 ³ cfu g ⁻¹ d.m. soil					
Fungi <i>p</i> =0.014 ²	37.26±5.02 ^{ab}	45.21±11.82 ^b	29.05±6.41 ^{ab}	27.74±3.62 ^a	24.87±5.24 ^a
g kg ⁻¹					
TOC ³ <i>p</i> =0.578 ²	69.40±10.29	148.23±60.72	87.67±59.30	98.12±33.88	121.82±10.24
TN ⁴ <i>p</i> =0.594 ²	5.74±1.35	11.67±4.04	7.71±4.57	8.60±2.60	10.35±1.24
µg g ⁻¹ d.m. soil					
2,5-DHBA ⁵ <i>p</i> =0.162 ²	BDL ⁷	BDL ⁷	7.72±10.15	BDL ⁷	5.69±0.24
4-HBA ⁶ <i>p</i> =0.937 ²	2.86±3.02	3.91±4.82	2.98±3.58	4.73±2.41	3.81±3.24
Caffeic acid <i>p</i> =0.637 ²	0.72±0.86	0.70±0.28	0.82±0.69	1.02±0.50	0.38±0.24
Chlorogenic acid <i>p</i> =0.389 ²	0.55±0.88	0.71±1.42	0.45±0.59	0.62±0.80	1.66±0.24
Cinnamic acid <i>p</i> =0.623 ²	0.18±0.37	0.46±0.91	1.13±1.33	1.23±1.55	0.73±0.24
Ferulic acid <i>p</i> =0.122 ²	BDL ⁷	0.44±0.35	BDL ⁷	0.12±0.25	0.39±0.24
Gallic acid <i>p</i> =0.097 ²	1.64±1.30	9.11±9.17	1.27±1.16	2.14±1.40	2.48±1.24
<i>p</i> -Coumaric acid <i>p</i> =0.163 ²	1.07±0.52	2.21±0.90	1.37±0.73	0.65±1.30	1.29±0.24
Sinapic acid <i>p</i> ² =0.073 ²	BDL ⁷	0.14±0.28	0.32±0.42	0.50±0.39	0.77±0.24
Syringic acid <i>p</i> =0.440 ²	0.20±0.41	71.57±142.01	0.84±0.60	0.24±0.49	1.51±0.24
Vanillic acid <i>p</i> =0.003 ²	0.49±0.65 ^a	4.81±2.44 ^{ab}	3.15±1.65 ^a	3.34±1.10 ^a	12.87±0.24 ^b
Catechin <i>p</i> =0.002 ²	3.66±4.59 ^a	15.25±5.77 ^b	5.86±3.94 ^a	5.56±2.57 ^a	1.43±4.24 ^a

¹sample size for each syntaxonomic units; ²p-value for one-way ANOVA; ³total content of nitrogen; ⁴total content of organic carbon; ⁵2,5-dihydroxybenzoic acid; ⁶4-hydroxybenzoic acid; ⁷below detection limit

corded for sinapic acid ($0.14 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil). The presence of 2,5-DHBA was not recorded. *Arrhenatheretum elatioris* soils had the highest 2,5-dihydroxybenzoic acid content among all analyzed vegetation units ($7.72 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil), while no ferulic acid was recorded. *Lolio-Cynosuretum* was characterized by the absence of 2,5-DHBA, low ferulic acid content ($0.12 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil), and $5.56 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil of catechin. Community *Poa pratensis-Festuca rubra* had high vanillic acid content ($12.87 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil) and low caffeic acid ($0.38 \mu\text{g g}^{-1}$ d.m. soil). In Ziółkowska et al. (2020a) study, high levels of chlorogenic acid ($88.82\text{--}135.56 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.), ferulic acid ($52.66\text{--}103.46 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) and caffeic acid ($36.16\text{--}81.08 \mu\text{g g}^{-1}$ d.w.) were recorded in the grassland soil of the Czerskie Meadows. However, the values in the previously mentioned research were much higher than in our study. It is worth noting that the content of phenolic compounds decreased with soil depth. These relationships were noted by Ziółkowska et al. (2020a) and Dębska and Banach-Szott (2010) in their study. Another factor affecting the content of phenolic compounds is, for example, the sorption capacity of the soil. Soils with higher sorption capacity can bind more of these compounds, which affects their availability and biological activity. In addition, environmental factors such as soil pH, temperature, oxygen availability, and the presence of substrates can affect the distribution of phenolic compounds found in the soil (Cecchi et al., 2004; Min et al., 2015).

One-way ANOVA test showed that of all the phenolic compounds analyzed, only two were found to be significant: vanillic acid ($p=0.003$) and catechin ($p=0.002$). With vanillic acid, individual grassland units form two homogeneous groups due to the analyzed trait (Table 1). With catechin, the analyzed units form two homogeneous groups, in which the second group contains only *Alopecuretum pratensis*, distinguishing it from the others (Table 1).

The results of Bao et al. (2022) indicate a positive correlation of ferulic acid and vanillic acid (VA) with most of the bacteria studied. In addition, the authors indicate that VA also correlated with most fungi. Adding VA to the soil significantly increased the abundance of *Ruminiclostridium* and *Lachnospirae* Group, while a decrease in the abundance of *Haliangium* was noted. The results showed that phenolic acids can promote the growth of pathogenic bacteria, and the interaction between soil rhizosphere microorganisms and phenolic acids was the main reason for the disruption of the rhizosphere microbiota.

Catechin, a polyphenolic compound found in plants such as *Centaurea stoebe* Lam. (spotted knapweed), has been studied for its allelopathic effects on soil microorganisms in grassland ecosystems. Research indicates that catechin can suppress total culturable bacterial counts and inhibit the growth of specific soil bacterial populations, demonstrating a reversible bacteriostatic mechanism in various bacterial strains. Understanding how catechin influences microbial communities in grassland soils is essential for grasping its ecological role (Pollock et al., 2011).

3.4. Relationship between selected chemical properties of soil and the content of phenolic compounds

Our analyses indicated a positive correlation between actinobacteria and cinnamic and caffeic acids, heterotrophic bacteria and *p*-coumaric acid, ferulic acid and catechin, and fungi and gallic acid and catechin (Table 2). Our hypotheses have been partially confirmed. There was no correlation between pH and phenolic compounds.

Phenolic compounds in the soil play a significant role in shaping the microbial community and its functions. Studies have shown that phenolic acids like *p*-hydroxyphenylacetic acid (HPA) and *p*-hydroxybenzoic acid (HBA) can influence soil bacterial and fungal community structures, enriching specific bacterial genera like *Bacillus* or *Actinobacteria*, as well as fungal species such as *Penicillium* and *Aspergillus* (Li et al., 2023).

Additionally, phenolics like benzoic acid, caffeic acid, and catechin have been shown to inhibit microbial activity while also promoting the decomposition of soil organic matter, especially in the presence of glucose, which leads to shifts in microbial communities (Zwetsloot et al., 2020). Furthermore, the presence of polyphenols in soil is associated with changes in microbial metabolism under anoxic conditions, challenging the assumption that polyphenols are not bioavailable in such environments (McGivern et al., 2021). These findings highlight the intricate relationship between phenolic compounds and soil microorganisms, demonstrating their role in modulating microbial communities and functions in various soil ecosystems.

A correlation between TOC and, ferulic acid and cinnamic acid was observed, and the same applies to TN (Table 2). This confirms the associations noted by other authors, who indicate the link between organic matter and phenolic compounds (Kovaleva and Kovalev, 2009). The authors emphasize that the level of lignin decomposition increases with the humification of organic matter. According to these authors, the quantitative composition of phenolic compounds relies on the extent of decomposition of SOM. The organic matter decomposition process in grassland soils correlates with an increase in the ratio of vanillyl and syringyl compounds while decreasing the ratio of cinnamyl compounds.

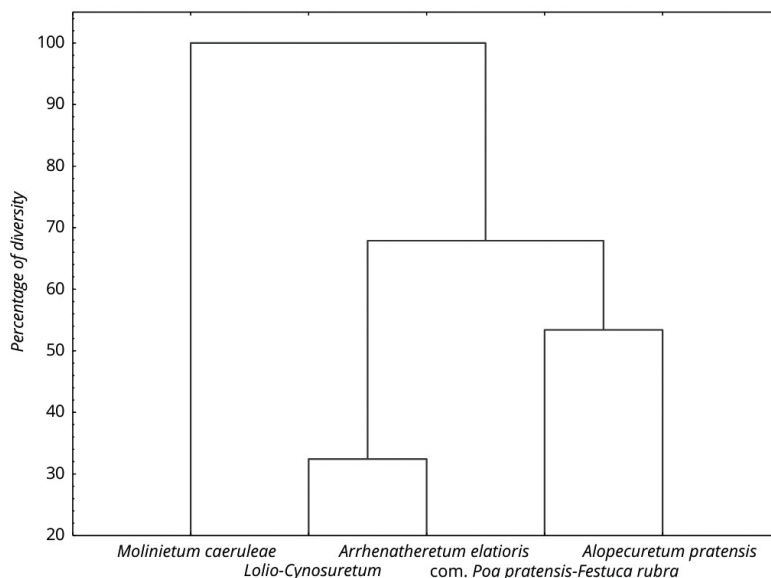
The Fig. 1 shows the differentiation of vegetation syntaxonomic units based on the structure of the analyzed phenolic compounds based on the average content of these compounds in the studied soils. Cluster analysis showed that considering statistically significant features, it can be concluded that *Molinietum caeruleae* shows a different structure compared to the other vegetation units. In contrast, *Arrhenatheretum elatioris* and *Lolio-Cynosuretum* are similar, while the com. *Poa pratensis-Festuca rubra* and *Alopecuretum pratensis* show different structures from the others (Fig. 1).

One limitation of the conducted studies may be the difficulty in discussing them due to the lack of available research results that consider three factors simultaneously: the vegetation units, the abundance of microorganisms, and the content of phenolic compounds in the soil under these vegetation units. As our preliminary studies indicate, distinguishing between types of plant communities is significant in this context.

Table 2Values of r-Pearson correlation coefficients. Only statistically significant correlation coefficients are included (n=20)¹

Var.	pH _{H2O}	pH _{KCl}	HB ²	AB ³	F ⁴	TOC ⁵	TN ⁶	CA ⁷	p-CO ⁸	CHA ⁹	FEA ¹⁰	SIN ¹¹	GA ¹²	VA ¹³	CT ¹⁴	CIA ¹⁵
pH _{H2O}		0.98 <i>p</i> =0.000														
pH _{KCl}																
HB ²					0.55 <i>p</i> =0.011				0.60 <i>p</i> =0.005		0.47 <i>p</i> =0.036				0.80 <i>p</i> =0.000	
AB ³								0.49 <i>p</i> =0.027								0.47 <i>p</i> =0.036
F ⁴						0.46 <i>p</i> =0.042	0.44 <i>p</i> =0.049						0.49 <i>p</i> =0.029		0.69 <i>p</i> =0.001	
TOC ⁵							0.99 <i>p</i> =0.000				0.55 <i>p</i> =0.012					0.46 <i>p</i> =0.039
TN ⁶										0.56 <i>p</i> =0.010						0.47 <i>p</i> =0.036
CA ⁷																
p-CO ⁸																
CHA ⁹											0.66 <i>p</i> =0.001	0.54 <i>p</i> =0.015		0.53 <i>p</i> =0.017		
FEA ¹⁰														0.48 <i>p</i> =0.033		
SIN ¹¹																
GA ¹²																
VA ¹³																
CT ¹⁴																
CIA ¹⁵																

¹ sample size; ²heterotrophic bacteria; ³actinobacteria; ⁴fungi; ⁵total content of organic carbon; ⁶total content of nitrogen; ⁷caffeic acid; ⁸*p*-coumaric acid; ⁹chlorogenic acid; ¹⁰ferulic acid; ¹¹sinapic acid; ¹²gallic acid; ¹³vanillic acid; ¹⁴catechin; ¹⁵cinnamic acid;

**Fig. 1.** Cluster analysis for grassland vegetation units

4. Conclusions

1. The study shows a positive correlation between actinobacteria and cinnamic and caffeic acids, heterotrophic bacteria and p-coumaric acid, ferulic acid and catechin, and fungi with gallic acid and catechin.
2. A correlation was observed between TOC and TN and ferulic acid and cinnamic acid.
3. Catechin was the dominant phenolic compound in soils under *Molinietum caeruleae* and *Lolio-Cynosuretum*. Syringic acid was dominant in the soil under *Alopecuretum pratensis*. 2,5-dihydroxybenzoic acid had the highest content in the soil under *Arrhenatheretum elatioris*. Soils under com. *Poa pratensis*-*Festuca rubra* was dominated by vanillic acid.
4. Soil from under *Molinietum caeruleae* shows a different structure of analyzed phenolic compounds compared to soils from other plant units.
5. Studies of phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils are important in the context of climate change in terms of organic carbon sequestration.
6. In conclusion, the study indicates that the levels of TOC, TN, the abundance of microorganisms, and the content of phenolic compounds in the soil vary across different vegetation units. The compounds examined undoubtedly play a significant role in the plant-soil relationship, influencing the growth and development of higher plants as well as soil microorganisms. This research is pioneering in the context of grassland soils and should be further pursued.

Acknowledgments

The publication was financed by the Polish Minister of Science and Higher Education as part of the Strategy of the Poznan University of Life Sciences for 2024–2026 in the field of improving scientific research and development work in priority research areas.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest. The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper. This research did not involve human or animal subjects.

Author Contributions

Justyna Mencel – Conceptualization, Data curation, Funding acquisition, Investigation, Methodology, Validation, Writing – original draft. **Monika Gąsecka** – Investigation, Validation, Writing – review & editing. **Marta Molińska-Glura** – Investigation, Validation, Writing – review & editing. **Agnieszka Mocek-Płóćiniak** – Conceptualization, Funding acquisition, Supervision, Validation, Writing – review & editing. All authors read and approved the final manuscript.

References

- Adamczyk, B., Kitunen, V., Smolander, A., 2008. Protein precipitation by tannins in soil organic horizon and vegetation in relation to tree species. *Biology and Fertility of Soils* 45, 55–64. <https://doi.org/10.1007/s00374-008-0308-0>
- Adom, K.K., Sorrells, M.E., Liu, R.H., 2003. Phytochemical Profiles and Antioxidant Activity of Wheat Varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51, 7825–7834. <https://doi.org/10.1021/jf030404l>
- Babenko, L.M., Smirnov, O.E., Romanenko, K.O., Trunova, O.K., Kosakivska, I.V., 2019. Phenolic compounds in plants: biogenesis and functions. *The Ukrainian Biochemical Journal* 91, 5–18. <https://doi.org/10.15407/ubj91.03.005>
- Bao, L., Liu, Y., Ding, Y., Shang, J., Wei, Y., Tan, Y., Zi, F., 2022. Interactions Between Phenolic Acids and Microorganisms in Rhizospheric Soil From Continuous Cropping of *Panax notoginseng*. *Frontiers in Microbiology* 13, 791603. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.791603>
- Barakat, A., Bagniewska-Zadworna, A., Frost, C.J., Carlson, J.E., 2010. Phylogeny and expression profiling of CAD and CAD-like genes in hybrid *Populus* (*P. deltoides* × *P. nigra*): evidence from herbivore damage for subfunctionalization and functional divergence. *BMC Plant Biology* 10, 100. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-100>
- Bell, T.H., Henry, H.A.L., 2011. Fine scale variability in soil extracellular enzyme activity is insensitive to rain events and temperature in a mesic system. *Pedobiologia* 54, 141–146. <https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2010.12.003>
- Bhonwong, A., Stout, M.J., Attajarusit, J., Tantasawat, P., 2009. Defensive Role of Tomato Polyphenol Oxidases against Cotton Bollworm (*Helicoverpa armigera*) and Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*). *Journal of Chemical Ecology* 35, 28–38. <https://doi.org/10.1007/s10886-008-9571-7>
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J., Simões, M., 2013. Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance* 19, 256–265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>
- Cecchi, A.M., Koskinen, W.C., Cheng, H.H., Haider, K., 2004. Sorption/desorption of phenolic acids as affected by soil properties. *Biology and Fertility of Soils* 39, 235–242. <https://doi.org/10.1007/s00374-003-0710-6>
- Chatterton, S., Punja, Z.K., 2009. Chitinase and β -1,3-glucanase enzyme production by the mycoparasite *Clonostachys rosea* f. *catenulata* against fungal plant pathogens. *Canadian Journal of Microbiology* 55, 356–367. <https://doi.org/10.1139/W08-156>
- Chen, L.-C., Guan, X., Wang, Q.-K., Yang, Q.-P., Zhang, W.-D., Wang, S.-L., 2018. Effects of phenolic acids on soil nitrogen mineralization over successive rotations in Chinese fir plantations. *Journal of Forestry Research* 31, 303–311. <https://doi.org/10.1007/s11676-018-0842-z>
- Chen, Z., Zhang, X., Huang, Y., Shi, Z., Yao, H., 2025. Mechanisms of plant phenolic compounds affecting soil nitrogen transformation. *Alexandria Engineering Journal* 120, 173–184. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2025.02.039>
- Chi, Y., Song, S., Xiong, K., 2023. Effects of different grassland use patterns on soil bacterial communities in the karst desertification areas. *Frontiers in Microbiology* 14, 1208971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1208971>
- Clemensen, A.K., Provenza, F.D., Hendrickson, J.R., Grusak, M.A., 2020. Ecological Implications of Plant Secondary Metabolites – Phytochemical Diversity Can Enhance Agricultural Sustainability. *Frontiers in Sustainable Food Systems* 4, 547826. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.547826>
- Clocchiatti, A., Hannula, S.E., Van Den Berg, M., Hundscheid, M.P.J., De Boer, W., 2021. Evaluation of Phenolic Root Exudates as Stimulants of Saptrophic Fungi in the Rhizosphere. *Frontiers in Microbiology* 12, 644046. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.644046>

- Cueva, C., Moreno-Arribas, M.V., Martín-Álvarez, P.J., Bills, G., Vicente, M.F., Basilio, A., Rivas, C.L., Requena, T., Rodríguez, J.M., Bartolomé, B., 2010. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology* 161, 372–382. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.04.006>
- Dębska, B., Banach-Szott, M., 2010. Identification of phenolic compounds in forest soils. *Polish Journal of Soil Science* 43, 141–150.
- Eze, S., Palmer, S.M., Chapman, P.J., 2018. Soil organic carbon stock in grasslands: Effects of inorganic fertilizers, liming and grazing in different climate settings. *Journal of Environmental Management* 223, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.06.013>
- Fenner, N., Freeman, C., Reynolds, B., 2005. Hydrological effects on the diversity of phenolic degrading bacteria in a peatland: implications for carbon cycling. *Soil Biology and Biochemistry* 37, 1277–1287. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2004.11.024>
- Gałązka, A., 2013. Przemiany związków fenolowych a rola amoniakolizacji L-fenylalaninowej (PAL) w indukcji mechanizmów obronnych rośliny (Conversion of phenolic compounds and the role of L-phenylalanine ammonia lyase (PAL) in the induction of plant defense mechanisms). *Polish Journal of Agronomy* 15, 83–88.
- Gąsecka, M., Krzyżmińska-Bródka, A., Magdziak, Z., Czuchaj, P., Bykowska, J., 2023. Phenolic Compounds and Organic Acid Composition of *Syringa vulgaris* L. Flowers and Infusions. *Molecules* 28, 5159. <https://doi.org/10.3390/molecules28135159>
- Golonko, A., Kalinowska, M., Świsłocka, R., Świdorski, G., Lewandowski, W., 2015. Applications of phenolic compounds and their derivatives in industry and medicine. *Civil and Environmental Engineering* 6.
- Grabińska-Łoniewska, A., 1999. Laboratory exercises in general microbiology. Warsaw Technical University, Warsaw.
- Grządziel, J., 2017. Functional Redundancy of Soil Microbiota – Does More Always Mean Better? *Polish Journal of Soil Science* 50, 75. <https://doi.org/10.17951/pjss.2017.50.1.75>
- Hättenschwiler, S., Vitousek, P.M., 2000. The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in Ecology & Evolution* 15, 238–243. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(00\)01861-9](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)01861-9)
- Horvat, D., Šimić, G., Drezner, G., Lalić, A., Ledenčan, T., Tucak, M., Plavšić, H., Andrić, L., Zdunić, Z., 2020. Phenolic Acid Profiles and Antioxidant Activity of Major Cereal Crops. *Antioxidants* 9, 527. <https://doi.org/10.3390/antiox9060527>
- Hu, H., Tang, C., Rengel, Z., 2005. Influence of phenolic acids on phosphorus mobilisation in acidic and calcareous soils. *Plant and Soil* 268, 173–180. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-0280-x>
- Johnson, M.T.J., Smith, S.D., Rausher, M.D., 2009. Plant sex and the evolution of plant defenses against herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 18079–18084. <https://doi.org/10.1073/pnas.0904695106>
- Kahkeshani, N. et al., 2019. Pharmacological effects of gallic acid in health and disease: A mechanistic review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 22. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32806.7897>
- Kołacz, B., 2020. Znaczenie materii organicznej w glebie oraz działania agrotechniczne wspomagające jej utrzymanie (The importance of organic matter in soil and agrotechnical measures supporting its maintenance). Centrum Doradztwa Rolniczego w Brwinowie. Oddział w Radomiu, Radom.
- Kovaleva, N.O., Kovalev, I.V., 2009. Transformation of lignin in surface and buried soils of mountainous landscapes. *Eurasian Soil Science* 42, 1270–1281. <https://doi.org/10.1134/S1064229309110106>
- Kulbat, K., 2016. The role of phenolic compounds in plant resistance. *Bio-technology and Food Sciences* 80, 97–108.
- Kurasiak-Popowska, D., Graczyk, M., Przybylska-Balcerek, A., Stuper-Szablewska, K., Szwajkowska-Michałek, L., 2022. An Analysis of Variability in the Content of Phenolic Acids and Flavonoids in Camellina Seeds Depending on Weather Conditions, Functional Form, and Genotypes. *Molecules* 27, 3364. <https://doi.org/10.3390/molecules27113364>
- Li, C., Deng, Y., Wang, J., Ruan, W., Wang, S., Kong, W., 2023. Effects of p-Hydroxyphenylacetic Acid and p-Hydroxybenzoic Acid on Soil Bacterial and Fungal Communities. *Sustainability* 15, 9285. <https://doi.org/10.3390/su15129285>
- Lobiuc, A., Pavăl, N.-E., Mangalagiu, I.I., Gheorghită, R., Teliban, G.-C., Amăriucăi-Mantu, D., Stoleru, V., 2023. Future Antimicrobials: Natural and Functionalized Phenolics. *Molecules* 28, 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules28031114>
- Lou, Z., Wang, H., Rao, S., Sun, J., Ma, C., Li, J., 2012. p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. *Food Control* 25, 550–554. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.022>
- Lu, Z.-X. et al., 2022. Effects of different vegetation restoration on soil nutrients, enzyme activities, and microbial communities in degraded karst landscapes in southwest China. *Forest Ecology and Management* 508, 120002. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.120002>
- Ma, H.-L., Gao, R., Yin, Y.-F., Yang, Y.-S., 2016. Effects of leaf litter tannin on soil ammonium and nitrate content in two different forest soils of mount Wuyi, China. *Toxicological & Environmental Chemistry* 98, 395–409. <https://doi.org/10.1080/02772248.2015.1123483>
- Ma, W., Tang, S., Dengzeng, Z., Zhang, D., Zhang, T., Ma, X., 2022. Root exudates contribute to belowground ecosystem hotspots: A review. *Frontiers in Microbiology* 13, 937940. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.937940>
- Ma, X., Ren, B., Yu, J., Wang, J., Bai, L., Li, J., Li, D., Meng, M., 2023. Changes in grassland soil types lead to different characteristics of bacterial and fungal communities in Northwest Liaoning, China. *Frontiers in Microbiology* 14, 1205574. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1205574>
- Macias-Benitez, S., Garcia-Martinez, A.M., Caballero Jimenez, P., Gonzalez, J.M., Tejada Moral, M., Parrado Rubio, J., 2020. Rhizospheric Organic Acids as Biostimulants: Monitoring Feedbacks on Soil Microorganisms and Biochemical Properties. *Frontiers in Plant Science* 11, 633. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00633>
- Mäkelä, M.R., Marinović, M., Nousiainen, P., Liwanag, A.J.M., Benoit, I., Sipilä, J., Hatakka, A., De Vries, R.P., Hildén, K.S., 2015. Aromatic Metabolism of Filamentous Fungi in Relation to the Presence of Aromatic Compounds in Plant Biomass. *Advances in Applied Microbiology* 91, 63–137. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.12.001>
- Maron, P.-A. et al., 2018. High Microbial Diversity Promotes Soil Ecosystem Functioning. *Applied and Environmental Microbiology* 84, e02738-17. <https://doi.org/10.1128/AEM.02738-17>
- Martin, J.P., 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science* 69, 215–232.
- McGivern, B.B. et al., 2021. Decrypting bacterial polyphenol metabolism in an anoxic wetland soil. *Nature Communications* 12, 2466. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22765-1>
- Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Plóciniak, A., 2024. Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland. *Soil Science Annual* 75, 190113. <https://doi.org/10.37501/soilsa/190113>
- Min, K., Freeman, C., Kang, H., Choi, S.-U., 2015. The Regulation by Phenolic Compounds of Soil Organic Matter Dynamics under a Changing Environment. *BioMed Research International* 2015, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/825098>
- Misra, D., Dutta, W., Jha, G., Ray, P., 2023. Interactions and Regulatory Functions of Phenolics in Soil-Plant-Climate Nexus. *Agronomy* 13, 280. <https://doi.org/10.3390/agronomy13020280>
- Moreira, X., Abdala-Roberts, L., Hidalgo-Galvez, M.D., Vázquez-González, C., Pérez-Ramos, I.M., 2020. Micro-climatic effects on plant phenolics at the community level in a Mediterranean savanna. *Scientific Reports* 10, 14757. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71782-5>
- Morones-Esquível, M.M., Núñez-Núñez, C.M., Hernández-Mendoza, J.L., Proal-Nájera, J.B., 2022. Bacterial Communities in Effluents Rich in Phenol and Their Potential in Bioremediation: Kinetic Modeling. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19, 14222. <https://doi.org/10.3390/ijerph192114222>

- Pietrzak, S., Hołaj-Krzak, J.T., 2022. The content and stock of organic carbon in the soils of grasslands in Poland and the possibility of increasing its sequestration. *Journal of Water and Land Development* 68–76. <https://doi.org/10.24425/jwld.2022.141556>
- Pikuła, D., 2019. Praktyki zapobiegające stratom węgla organicznego z gleby (Practices to prevent organic carbon loss from soil). *Studia i Raporty IUNG-PIB* 59, 77–91. <https://doi.org/10.26114/SIR.IUNG.2019.59.06>
- Pollock, J.L., Kogan, L.A., Thorpe, A.S., Holben, W.E., 2011. (+)-Catechin, A Root Exudate of the Invasive *Centaurea Stoebe* Lam. (Spotted Knapweed) Exhibits Bacteriostatic Activity Against Multiple Soil Bacterial Populations. *Journal of Chemical Ecology* 37, 1044–1053. <https://doi.org/10.1007/s10886-011-0005-6>
- Polowy, K., Molińska-Glura, M., 2023. Data Mining in the Analysis of Tree Harvester Performance Based on Automatically Collected Data. *Forests* 14, 165. <https://doi.org/10.3390/f14010165>
- Polyak, Y.M., Sukcharevich, V.I., 2019. Allelopathic Interactions between Plants and Microorganisms in Soil Ecosystems. *Biology Bulletin Reviews* 9, 562–574. <https://doi.org/10.1134/S2079086419060033>
- Pumphrey, G.M., Madsen, E.L., 2008. Field-Based Stable Isotope Probing Reveals the Identities of Benzoic Acid-Metabolizing Microorganisms and Their In Situ Growth in Agricultural Soil. *Applied and Environmental Microbiology* 74, 4111–4118. <https://doi.org/10.1128/AEM.00464-08>
- Roux, X.L., Recous, S., Attard, E., 2011. Soil microbial diversity in grasslands and its importance for grassland functioning and services., in: Lemaire, G., Hodgson, J., Chabbi, A. (Eds.), *Grassland Productivity and Ecosystem Services*. CABI, UK, pp. 158–165. <https://doi.org/10.1079/9781845938093.0158>
- Sądej, W., Żolnowski, A.C., Marczuk, O., 2016. Content of phenolic compounds in soils originating from two long-term fertilization experiments. *Archives of Environmental Protection* 42, 104–113. <https://doi.org/10.1515/aep-2016-0047>
- Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature* 478, 49–56. <https://doi.org/10.1038/nature10386>
- Sies, H., Jones, D.P., 2020. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 21, 363–383. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0230-3>
- Sinsabaugh, R.L., 2010. Phenol oxidase, peroxidase and organic matter dynamics of soil. *Soil Biology and Biochemistry* 42, 391–404. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.10.014>
- Sugiyama, A., Yazaki, K., 2012. Root Exudates of Legume Plants and Their Involvement in Interactions with Soil Microbes, in: Vivanco, J.M., Baluška, F. (Eds.), *Secretions and Exudates in Biological Systems, Signaling and Communication in Plants*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 27–48. https://doi.org/10.1007/978-3-642-23047-9_2
- Sui, X., Zhang, R., Frey, B., Yang, L., Li, M.-H., Ni, H., 2019. Land use change effects on diversity of soil bacterial, Acidobacterial and fungal communities in wetlands of the Sanjiang Plain, northeastern China. *Scientific Reports* 9, 18535. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55063-4>
- Sun, W., Li, Q., Qiao, B., Jia, K., Li, C., Zhao, C., 2024. Advances in Plant–Soil Feedback Driven by Root Exudates in Forest Ecosystems. *Forests* 15, 515. <https://doi.org/10.3390/f15030515>
- Suseela, V., Alpert, P., Nakatsu, C.H., Armstrong, A., Tharayil, N., 2016. Plant–soil interactions regulate the identity of soil carbon in invaded ecosystems: implication for legacy effects. *Functional Ecology* 30, 1227–1238. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12591>
- Thorpe, A.S., Callaway, R.M., 2011. Biogeographic differences in the effects of *Centaurea stoebe* on the soil nitrogen cycle: novel weapons and soil microbes. *Biological Invasions* 13, 1435–1445. <https://doi.org/10.1007/s10530-010-9902-9>
- Usha Rani, P., Jyothsna, Y., 2010. Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. *Acta Physiologiae Plantarum* 32, 695–701. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0449-2>
- Wang, J., Zhang, Y., Yan, N., Chen, J., Rittmann, B.E., 2013. Enhanced phenol bioavailability by means of photocatalysis. *Biodegradation* 24, 597–602. <https://doi.org/10.1007/s10532-012-9603-4>
- White, R.A., Freeman, C., Kang, H., 2011. Plant-derived phenolic compounds impair the remediation of acid mine drainage using treatment wetlands. *Ecological Engineering* 37, 172–175. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2010.08.008>
- Wiesmeier, M. et al., 2019. Soil organic carbon storage as a key function of soils - A review of drivers and indicators at various scales. *Geoderma* 333, 149–162. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.07.026>
- Xin, P., Yulan, Z., Nan, J., Zhenhua, C., Lijun, C., 2024. Neutral soil pH conditions favor the inhibition of phenol on hydrolase activities and soil organic carbon mineralization Peiqi Xin, Yulan Zhang a e, Nan Jiang a c d e, Zhenhua Chen a, Lijun Chen a. *European Journal of Soil Biology* 121. <https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2024.103621>
- Yao, H., Bowman, D., Rufty, T., Shi, W., 2009. Interactions between N fertilization, grass clipping addition and pH in turf ecosystems: Implications for soil enzyme activities and organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 41, 1425–1432. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.03.020>
- Ziółkowska, A., 2014. Procesy przekształceń roślinności runi łkowej (Processes of transformation of meadow sward vegetation). *Nauka niejedno ma imię* 2, 135–144.
- Ziółkowska, A., 2019. Przemiany związków fenolowych w glebach łkowych (Transformations of phenolic compounds in meadow soils) (PhD dissertation). Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich w Bydgoszczy, Bydgoszcz.
- Ziółkowska, A., Dębska, B., Banach-Szott, M., 2020a. Transformations of phenolic compounds in meadow soils. *Scientific Reports* 10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76316-7>
- Ziółkowska, A., Dębska, B., Banach-Szott, M., 2020b. Content of Phenolic Compounds in Meadow Vegetation and Soil Depending on the Isolation Method. *Molecules* 25, 5462. <https://doi.org/10.3390/molecules25225462>
- Zwetsloot, M.J., Ucross, J.M., Wickings, K., Wilhelm, R.C., Sparks, J., Buckley, D.H., Bauerle, T.L., 2020. Prevalent root-derived phenolics drive shifts in microbial community composition and prime decomposition in forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 145, 107797. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107797>

Zależności między wybranymi związkami fenolowymi a liczebnością mikroorganizmów w glebach użytków zielonych w dolinie rzeki Obry: Badania wstępne

Słowa kluczowe

Mikroorganizmy glebowe
Użytki zielone
Jednostki wegetacyjne
Fenole
Glebową materia organiczną

Streszczenie

Celem pracy była ocena zależności pomiędzy wybranymi związkami fenolowymi, a liczebnością mikroorganizmów w glebach użytków zielonych. Obiektem badań były wierzchnie warstwy gleby (0–20 cm) użytków zielonych położonych wzdłuż rzeki Obry (Nizina Wielkopolska, centralna Polska). Badania terenowe przeprowadzono we wrześniu 2022 roku. Na badanym obszarze wybrano pięć jednostek syntaksonomicznych roślinności: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio-Cynosuretum* oraz zbiorowisko *Poa pratensis-Festuca rubra*. Jednokierunkowy test ANOVA dla pH wykazał statystycznie istotne różnice między użytkami zielonymi (dla pH_{H_2O} $p=0,000$, a dla pH_{KCl} $p=0,000$). Liczebność bakterii heterotroficznych ($p=0,000$), promieniowców ($p=0,001$) i grzybów ($p=0,014$) była również cechą istotnie różnicującą jednostki roślinności użytków zielonych. Jednokierunkowy test ANOVA wykazał, że spośród wszystkich analizowanych związków fenolowych tylko dwa były istotne: kwas wanilinowy ($p=0,003$) i katechina ($p=0,002$). Nasze badania wskazują na dodatnią korelację promieniowców z kwasem cyanomonowym i kawowym, bakterii heterotroficznych z kwasem *p*-kumarowym i ferulowym oraz katechiną, a grzybów z kwasem galusowym i katechiną. Ponadto, biorąc pod uwagę cechy istotne statystycznie, można stwierdzić, że *Molinietum caeruleae* wykazuje inną strukturę w porównaniu z innymi jednostkami wegetacyjnymi, *Arrhenatheretum elatioris* i *Lolio-Cynosuretum* są podobne, podczas gdy zbiorowiska *Poa pratensis-Festuca rubra* i *Alopecuretum pratensis* wykazują odmienną strukturę od pozostałych. Badania środowiskowe coraz częściej koncentrują się na potrzebie zwiększenia akumulacji węgla organicznego w glebie. Poznanie relacji między związkami fenolowymi i mikroorganizmami w glebach użytków zielonych jest niezwykle ważne w tym aspekcie. Właściwe zarządzanie użytkami zielonymi jest ważnym elementem ochrony środowiska.

Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Odra River Valley

Mencel, J., Wojciechowska, A., Mocek-Płociniak, A.

Agronomy, 15, 1573. (2025)

<https://doi.org/10.3390/agronomy15071573>

Article

Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Odra River Valley

Justyna Mencil ^{1,*} , Anna Wojciechowska ²  and Agnieszka Mocek-Płóćiniak ^{1,*} 

¹ Department of Soil Science and Microbiology, Poznań University of Life Sciences, Szydlowska 50, 60-656 Poznań, Poland

² Department of Geobotany and Landscape Planning, Nicolaus Copernicus University in Toruń, Lwowska 1, 87-100 Toruń, Poland; ankawoj@umk.pl

* Correspondence: justyna.mencil@up.poznan.pl (J.M.); agnieszka.mocek-plociniak@up.poznan.pl (A.M.-P.)

Abstract

The study examined seasonal variability in soil enzymatic activity and microbial abundance across five grassland vegetation units: *Molinietum caeruleae*, *Alopecuretum pratensis*, *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio–Cynosuretum*, and com. *Poa pratensis–Festuca rubra*. Soils under *Molinietum caeruleae* showed higher fungal abundance and greater plant diversity, while *Lolio–Cynosuretum* was notable for elevated *Azotobacter* spp. populations. *Actinobacteria* preferred soils with more organic matter, whereas *Azotobacter* spp. favored higher pH. A negative correlation was observed between the Shannon diversity index (H') and heterotrophic bacterial abundance in *Arrhenatheretum elatioris* and with fungal abundance in com. *Poa pratensis–Festuca rubra*. Acid and alkaline phosphatase and catalase activities were also negatively correlated with H' . Redundancy analysis showed these enzymes were related to total nitrogen content, and enzyme activity decreased with rising soil pH. In autumn 2022, high fungal abundance coincided with a reduction in other microorganisms. Seasonal trends were evident: catalase and urease activities peaked in autumn 2023, while other enzymes were more active in spring 2022. The results emphasize the significance of seasonal shifts in shaping microbial and enzymatic soil processes, which are vital for nutrient cycling, carbon sequestration, and climate regulation. Further research is essential to guide sustainable grassland soil management.

Keywords: grassland ecosystems; soil microbiota; biodiversity; seasonality; soil enzymes



Academic Editor: Jianjun Yang

Received: 27 May 2025

Revised: 23 June 2025

Accepted: 26 June 2025

Published: 27 June 2025

Citation: Mencil, J.; Wojciechowska, A.; Mocek-Płóćiniak, A. Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Odra River Valley. *Agronomy* **2025**, *15*, 1573. <https://doi.org/10.3390/agronomy15071573>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

It is widely recognized that semi-natural grasslands and pastures are key areas for biodiversity conservation, and maintaining high levels of biodiversity is essential for the proper functioning of numerous processes in ecosystems with multiple functions [1,2]. In areas undergoing intensive agricultural activity, a clear decline in both the area of semi-natural grasslands and the biodiversity associated with them is observed [3,4]. The grasslands of the *Molinio–Arrhenatheretea* class, which are described in this article, are a source of broadly understood biodiversity [4–6].

Grasslands are critical ecosystems that support biodiversity and ecosystem services, with soil microbes playing a central role in nutrient cycling and carbon sequestration. The abundance and activity of these microbial communities are influenced by a combination of factors, including soil composition, climate, agricultural practices, and plant–microbial

interactions [1,7]. Soil is a dynamic environment in which microorganisms play a key role in maintaining its fertility and health. Bacteria, fungi, and other organisms participate in biogeochemical processes such as the decomposition of organic matter, the mineralization of nutrients, and the formation of humus [8–10]. Their enzymatic activity affects plant nutrient availability and the entire soil ecosystem [11].

Grassland soils have a rich and diverse microbiome. Bacteria account for 70–90% of the total biomass in the soil, making them the most widespread organisms in this environment. Fungi are in second place in terms of abundance. Both groups of microorganisms are involved in most of the biological and biochemical processes that directly affect the soil and therefore plants [12,13].

Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) include *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, and *Streptomyces* and promote plant growth by producing phytohormones and organic acids or by fixing nitrogen and solubilizing phosphorus [14,15]. Other important microorganisms are the genera *Azotobacter* and *Clostridium* bacteria, which are also involved in nitrogen-fixing processes [16,17]. Soil fungi help improve soil structure and increase water retention capacity by producing organic acids and participating in the mineralization of organic matter [18–20]. About 90% of all plants form symbiotic relationships with mycorrhizal fungi using a network of filaments, a relationship called the mycorrhizal network. Through this relationship, plants obtain phosphates and other minerals, such as copper and zinc, while the fungus obtains nutrients like sugars. The mycorrhizal network allows fungi to transport nutrients over relatively long distances [21–23].

In soil ecosystems, enzymes come primarily from microorganisms, and in smaller amounts, they are produced by plants and other organisms found in the soil. Microorganisms secrete various enzymes into the environment, of which the key ones in the decomposition of plant residues are those directly involved in the degradation of lignin and cellulose as well as in the mineralization of organic forms of nitrogen, phosphorus, and sulfur, which promotes their reintroduction into circulation in the ecosystem [24–26]. Enzymes are a sensitive indicator of changes occurring in soil under the influence of both natural factors and human activity. The enzymatic activity of soil is considered a better indicator of its fertility and production potential than other biological indicators.

Enzymes such as dehydrogenases (DhA), urease (UA), acid phosphatase (AcP) and alkaline phosphatase (AlP), proteases (PA), and catalase (CAT) reflect the intensity of biological processes occurring in the soil. For example, DhA and CAT are related to the respiratory metabolism of microorganisms and can indicate the soil's overall microbial activity [27–32]. DhA allows for various biochemical reactions [27,33,34], and CAT protects living cells from oxidative damage [27,34,35]. UA activity is sensitive to various xenobiotics and provides plant-available N [27,36–38], while phosphatases activity is related to phosphorus transformations [39–42]. PA participates in the initial breakdown of protein components containing organic nitrogen into simple amino acids [28,43,44]. Therefore, it can be stated that geochemical processes occurring in soil are closely related to its biological activity.

The abundance of microorganisms and the enzymatic activity of soil vary depending on its physical and chemical properties and agrotechnical treatments (cultivation methods, plant types, and fertilization methods) [29,45–47]. Soil water content is a critical driver of microbial activity in grasslands. Studies have shown that higher soil moisture levels can enhance microbial biomass and enzyme activity, particularly in water-limited ecosystems [48–50]. Soil organic matter (SOM) is another key factor. Labile fractions of SOM play a critical role in controlling microbial processes [10,50]. For example, in low-productivity grasslands, root litter decomposition is slower, which may be linked to lower microbial activity and slower carbon cycling rates [51]. Studies have shown that the organic matter content of soil is related to the size of the particles—the smaller the particles, the higher

the level of organic matter. In addition, in such conditions, the structure of the microbial community is more complex, and biodiversity is greater [52]. Nutrient availability, particularly nitrogen (N) and phosphorus (P), also shapes microbial communities. For example, fertilization can indirectly influence microbial activity by altering plant diversity and soil carbon storage [53]. The pH value is an important indicator influencing the survival of microorganisms, their availability to other organisms, and the chemical form of the substrate in which they operate [10,54].

The main aim of this study was to evaluate the relationships between selected microbiological and biochemical properties in grassland soils under different syntaxonomic vegetation units. We address the following research hypothesis: The abundance of selected microorganisms and the enzymatic activity in grassland soils are determined by both biotic factors, such as vegetation units structure, and abiotic parameters, including soil pH, total organic carbon (TOC), total nitrogen (TN), and seasonal variation.

2. Materials and Methods

2.1. Study Area

The research area is located between the northern, middle, and southern branches of the Odra River in the Wielkopolska Lowland of central Poland. The grassland sites are situated in a fully humid, warm temperate climate zone characterized by warm summers [55]. The region experiences a mean annual temperature of 10.6 °C and an average yearly precipitation of 414.6 mm. Notably, the year 2022 was 1.2 °C warmer than the climate normal for 1991–2020, while total precipitation that year amounted to only 77% of the regional average [56]. The year 2023 was even warmer, being 1.4 °C warmer than the climate norm for 1991–2020, while total precipitation for that year was 132% of the regional average [57]. According to the Detailed Geological Map of Poland [58–60], the analyzed soils developed from shallow peat layers overlying alluvial materials—primarily sands, with occasional occurrences of silts. The current soil types were identified in the article by Mencil et al. [61]: postmurshic soils (1, 2, 4, 10, and 13), typical semimurshic soils (3, 5, 6, 9, 12, 14, 15, and 17), thin murshic soils (7, 8, 18, 19, and 20), and murshic gleysols (11 and 16). The groundwater depths observed in soil samples 1–18 ranged from 0.8 to 1.15 m, while in samples 19 and 20, shallower levels were recorded between 0.6 and 0.8 m. All locations were georeferenced in situ (Table 1).

Table 1. Location of sampling sites with phytosociological classification of grasslands.

Sampling Sites	Grassland Units	Coordinates WGS 84 (N/E)
1.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'42" N 16°31'30" E
2.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'42" N 16°31'33" E
3.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'43" N 16°31'37" E
4.	<i>Molinietum caeruleae</i>	52°05'43" N 16°31'39" E
5.	com. <i>Poa pratensis</i> – <i>Festuca rubra</i>	52°06'07" N 16°22'12" E
6.	com. <i>Poa pratensis</i> – <i>Festuca rubra</i>	52°06'07" N 16°22'08" E
7.	com. <i>Poa pratensis</i> – <i>Festuca rubra</i>	52°06'04" N 16°22'03" E
8.	com. <i>Poa pratensis</i> – <i>Festuca rubra</i>	52°01'27" N 16°16'23" E
9.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°06'03" N 16°22'07" E
10.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°06'00" N 16°21'56" E
11.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°00'49" N 16°16'52" E
12.	<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	52°01'01" N 16°16'43" E
13.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°06'02" N 16°22'04" E
14.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°05'59" N 16°22'00" E
15.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°06'00" N 16°22'01" E
16.	<i>Lolio-Cynosuretum</i>	52°04'23" N 16°14'11" E
17.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°05'58" N 16°21'57" E
18.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°00'47" N 16°16'54" E
19.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°00'47" N 16°16'57" E
20.	<i>Alopecuretum pratensis</i>	52°01'02" N 16°16'44" E

2.2. Phytosociological Survey

Fieldwork was performed on semi-natural grasslands, where 76 phytosociological surveys were conducted following the Braun–Blanquet method [62] approach during the 2022–2023 study period. Phytosociological relevés were conducted at 20 designated sampling sites, each covering an area of 100 m² and characterized by a homogeneous species composition. The collected data were entered into the TURBOVEG database [63], which is specifically designed for storing phytosociological relevés, and subsequently exported to the JUICE 7.1 software [64] for further analysis. Classification of vegetation types was performed according to the phytosociological framework proposed by Matuszkiewicz [5]. As a result, four plant associations and one plant community were identified: *Molinietum caeruleae* (12 relevés), the community *Poa pratensis*–*Festuca rubra* (16 relevés), *Arrhenatheretum elatioris* (16 relevés), *Lolio*–*Cynosuretum* (16 relevés), and *Alopecuretum pratensis* (16 relevés). These vegetation units were deliberately selected to cover a wide range of habitats with varying moisture content, soil fertility, degree of anthropogenic pressure, and floristic diversity, enabling a comprehensive analysis of the impact of environmental conditions on the microbiological and enzymatic properties of soils. Floristic diversity was assessed using species richness and the Shannon–Wiener diversity index (H') [65].

2.3. Soil Survey and Sampling

Soil sampling associated with the phytosociological survey was conducted in May and September 2022 and 2023. The sampling sites were distributed across four municipalities: Kościan (sites 1–4), Wielichowo (sites 5–7, 9–10, 13–15, and 17), Przemęt (sites 8, 11–12, and 18–20), and Wolsztyn (site 16). At each site, soil samples for laboratory analysis were taken from the uppermost soil horizons (0–20 cm) in three subsections to account for spatial heterogeneity, according to ISO 10381-1:2002. Samples were taken using an Egner soil sampler (Egner’s cane) (Eijkelkamp, The Netherlands). The numbering of soil samples corresponded to specific phytosociological relevés and associated soil profiles. Collected soils were placed in plastic bags, stored in lightproof containers, and immediately transported under refrigeration to the laboratory for further analysis.

2.4. Chemical Analyses

In the laboratory, soil samples were air-dried, mechanically disaggregated, homogenized, and subsequently passed through a 2 mm mesh sieve to ensure uniformity. Chemical analyses included the determination of total organic carbon (TOC) and total nitrogen (TN) contents, which were measured using a Vario-Max CNS elemental analyzer (Elementar Analysensysteme GmbH, Germany). Soil pH was assessed potentiometrically in a 1:2.5 soil-to-distilled water suspension.

2.5. Abundance of Microorganisms In Vitro

The abundance of soil microorganisms was assessed using the plate culture method on appropriate selective media, with five replicates per sample. The analysis included quantification of colony-forming units (CFU) for heterotrophic bacteria, *Actinobacteria*, fungi, and *Azotobacter* spp. Heterotrophic bacteria were cultured on pre-prepared Merck standard nutrient agar and incubated at 28 °C for 5 days. Fungal populations were enumerated using Martin’s medium [66] following a 5-day incubation at 24 °C. *Actinobacteria* were cultured on Pochon’s selective medium [67] and incubated at 26 °C for 7 days. The abundance of *Azotobacter* spp. was determined using a selective medium as described by [68], with a 5-day incubation period at 24 °C. The results obtained show the number of four groups of microorganisms cultivated in specific conditions.

2.6. Enzymatic Activity of Soils

The activity of the following enzymes was determined: catalase (CAT), dehydrogenases (DhA), acid phosphatase (AcP), alkaline phosphatase (ALP), proteases (PA), and urease (UA). For easier recognition, enzymes were assigned an Enzyme Commission number (EC). CAT (EC 1.11.1.6) activity in soil samples was assessed using the titrimetric method described by Johnson and Temple [69]. The procedure involved the use of a 0.3% hydrogen peroxide (H_2O_2) solution and 1.5 M sulfuric acid (H_2SO_4), followed by titration of the residual H_2O_2 with 0.02 M potassium permanganate (KMnO_4). The activity of CAT was expressed as milligrams of H_2O_2 decomposed per kilogram of dry soil per minute ($\text{mg H}_2\text{O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ d.m. min}^{-1}$). DhA (EC 1.1) activity was determined following the method proposed by Thalmann [70], using a 1% solution of triphenyl tetrazolium chloride (TTC) as a substrate. DhA activity was expressed as milligrams of triphenyl formazan (TPF) produced per kilogram of dry soil per 24 h ($\text{mg TPF kg}^{-1} \text{ d.m. 24 h}^{-1}$). The activities of AcP (EC 3.1.3.2) and ALP (EC 3.1.3.1) were determined following the procedure described by Tabatabai and Bremner [71], utilizing a 0.8% solution of sodium p-nitrophenyl phosphate as the substrate. The assays were conducted at buffer pH values of 5.4 for AcP and 8.5 for ALP. Enzyme activities (AcP and ALP) were expressed as milligrams of p-nitrophenol (PNP) released per kilogram of dry soil per hour ($\text{mg PNP kg}^{-1} \text{ d.m. h}^{-1}$). PA (EC 3.4.4) activity was determined following the protocol established by Ladd and Butler [72], using sodium caseinate as the enzymatic substrate. PA activity was quantified and expressed as milligrams of tyrosine released per kilogram of dry soil per hour ($\text{mg tyrosine kg}^{-1} \text{ d.m. h}^{-1}$). UA (EC 3.5.1.5) activity was determined according to the method described by Hoffmann and Teichert [73], using a 2.5% urea solution as the substrate. The enzymatic activity was expressed as milligrams of ammonium nitrogen (N-NH_4^+) released per kilogram of dry soil per hour ($\text{mg N-NH}_4^+ \text{ kg}^{-1} \text{ d.m. h}^{-1}$). All the measurements were made in three replicates.

2.7. Statistical Analysis

To establish the relationship between the occurrence of higher plants and the tested soil parameters, the Pearson correlation index was calculated, and its statistical significance was determined. The PAST 3.20 program was used [74].

The relationships between sets of variables (microbial abundance, enzymatic activity, and soil biochemical parameters) in the different study seasons for the study communities were analyzed using a direct ordination technique. Redundancy analyses were selected and, for all variants, performed using the Canoco 5.0 program [75]. Monte Carlo permutation and forward selection tests were performed during the analyses, which allowed the identification of variables that were significant for variation in the study communities.

For all the studied parameters, analyses of variance were performed to indicate significant differences between these parameters in the analyzed communities. ANOVA and Tuckey's test as a post hoc test were performed in Statistica 9.0 [76].

3. Results

The research was conducted in spring and autumn, as these two seasons are characterized by the most dynamic biological and biochemical processes occurring in the soil. Spring is a period of intensive plant growth, increased microbial activity, and mobilization of nutrients after the winter dormancy period. Autumn, on the other hand, is the time when plants finish their growing season, and a significant amount of organic matter (e.g., fallen leaves and root residues) enters the soil, which can significantly affect the development of microbiota and enzymatic activity. The choice of these two seasons allowed us to capture the contrast between the phase of intensive biological development and the stage of organic matter decomposition. At the same time, we avoided the summer months, when

droughts and high temperatures can limit the activity of microorganisms and enzymes, as well as winter, when most biological processes in the soil slow down significantly or stop altogether. This makes it possible to assess the seasonal impact of environmental factors on microbiological and enzymatic processes that are important for element cycling, soil fertility, and sustainable management of grassland habitats.

3.1. Characteristics of Selected Grasslands

The described vegetation syntaxonomic units belong to the class *Molinio–Arrhenatheretea*. Two orders are distinguished: (1) *Arrhenatheretalia* and within it *Arrhenatheretum elatioris*, *Lolio–Cynosuretum*, and com. *Poa pratensis–Festuca rubra* and (2) *Molinietalia* and within it *Alopecuretum pratensis* and *Molinietum caeruleae*. The biodiversity of selected grassland communities is shown in Table 2. The vegetation units with the highest number of species recorded were *Molinietum caeruleae*, while the poorest in species was *Lolio–Cynosuretum*.

Table 2. Biodiversity of selected grassland vegetation units.

Grassland Units	Total Number of Species	Number of Species in the Relève in Spring (Range and Mean)		Number of Species in the Relève in Autumn (Range and Mean)		H' Spring	H' Autumn
<i>Molinietum caeruleae</i>	57	17–20	19	22–29	26	2.25	2.45
<i>Alopecuretum pratensis</i>	44	10–22	16	12–22	17	1.72	1.79
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	54	16–20	18	14–24	19	2.00	2.06
<i>Lolio–Cynosuretum</i>	36	8–12	11	9–16	13	1.49	1.48
com. <i>Poa pratensis–Festuca rubra</i>	50	12–22	19	15–24	19	2.17	2.19

The table is divided by season. In each vegetation unit analyzed, a higher number of species was noted in autumn. The values of the Shannon–Wiener H' index were highest for *Molinietum caeruleae* and lowest for *Lolio–Cynosuretum*, both in autumn and spring. Consequently, a greater number of species were recorded during autumn phytosociological surveys, and higher values of the H' index were recorded in autumn.

3.2. Chemical Soil Properties

The soils studied were characterized by varying organic matter content. The highest TOC and TN contents were recorded, both in spring and autumn, in *Alopecuretum pratensis* soils, which are the most productive grasslands. In contrast, the lowest TOC and TN content was found in *Molinietum caeruleae* soils, which are more valuable for nature than for production (Figure 1).

The highest mean C:N ratio in spring was recorded in *Molinietum caeruleae* soils and the lowest in com. *Poa pratensis–Festuca rubra*. In contrast, the highest C:N in autumn was observed in soils under *Alopecuretum pratensis*, while the lowest was recorded in soils associated with *Arrhenatheretum elatioris*. Conversely, the highest soil pH levels in spring and autumn were observed under *Arrhenatheretum elatioris*, likely due to liming practices. In contrast, the lowest pH values in these seasons were noted in soils beneath *Alopecuretum pratensis*.

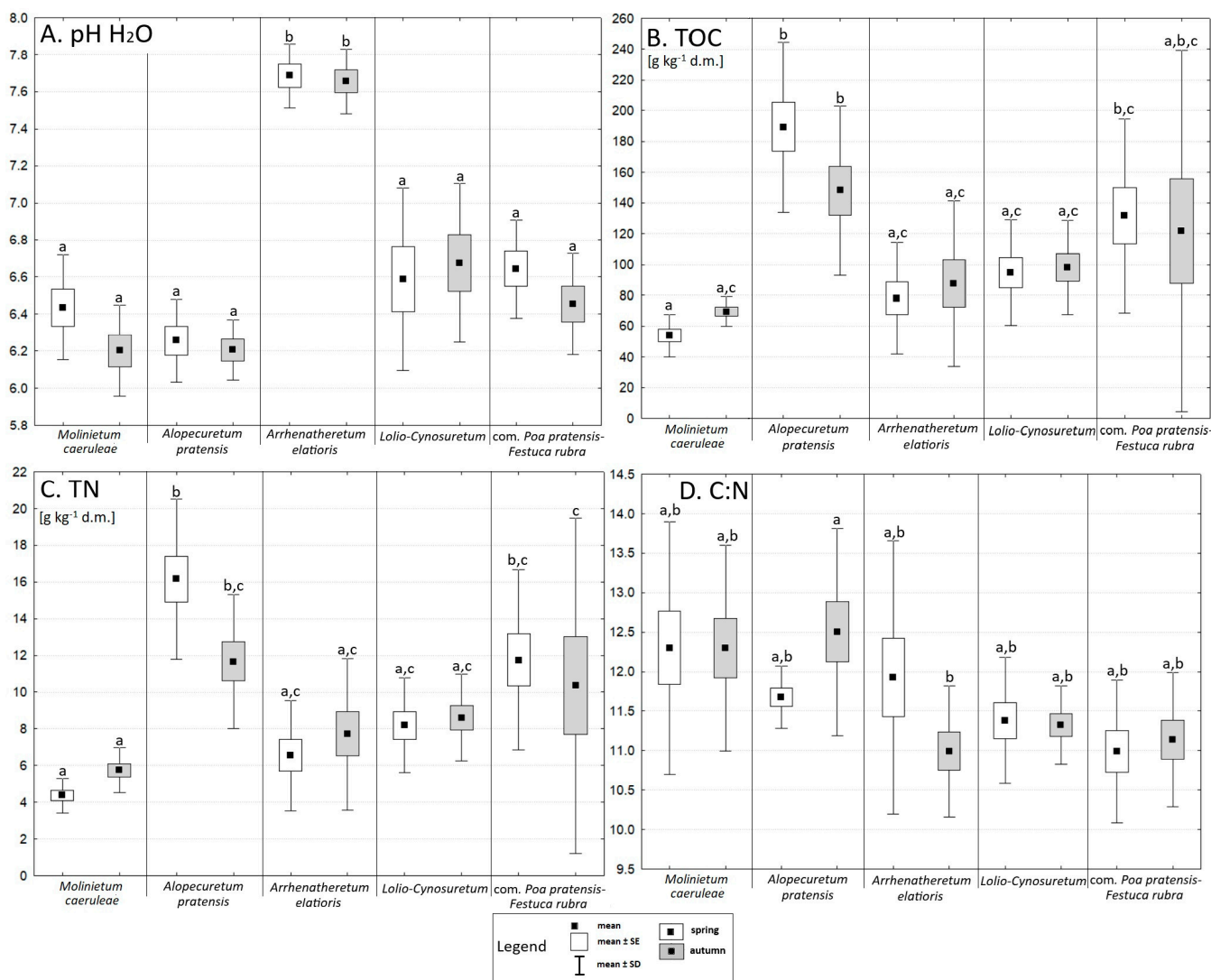


Figure 1. Chemical soil properties (mean $\pm$ SD and SE). Values marked with the same letter do not differ statistically significantly (ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's test as post hoc).

3.3. Microbial Abundance and Enzymatic Activity

Heterotrophic bacteria were identified as the most abundant group of microorganisms in the studied soils (Figure 2). In the spring season, their highest numbers were recorded in soils associated with the *Alopecuretum pratensis*, whereas in autumn, peak abundance was observed in soils under the *Poa pratensis*–*Festuca rubra* community. The lowest bacterial counts were consistently found in *Molinietum caeruleae* soils during both sampling periods.

The subsequent group of microorganisms analyzed was *Actinobacteria*. Similar to heterotrophic bacteria, their highest abundance in spring was observed in soils associated with the *Alopecuretum pratensis*. In autumn, however, the differences in *Actinobacteria* abundance among the plant communities were less pronounced, with the highest levels recorded in *Lolio*–*Cynosuretum* soils. Bacteria of the genus *Azotobacter* reached their peak abundance in *Lolio*–*Cynosuretum* soils during both sampling periods. Regarding fungal populations, their highest abundance was recorded in spring in soils under the *Poa pratensis*–*Festuca rubra* community. In contrast, the greatest fungal abundance was observed in *Arrhenatheretum elatioris* soils in autumn.

Overall, higher activities of the analyzed enzymes were observed during the spring sampling period. The highest DhA activity was recorded in soils associated with *Arrhenatherum elatioris* (Figure 3).

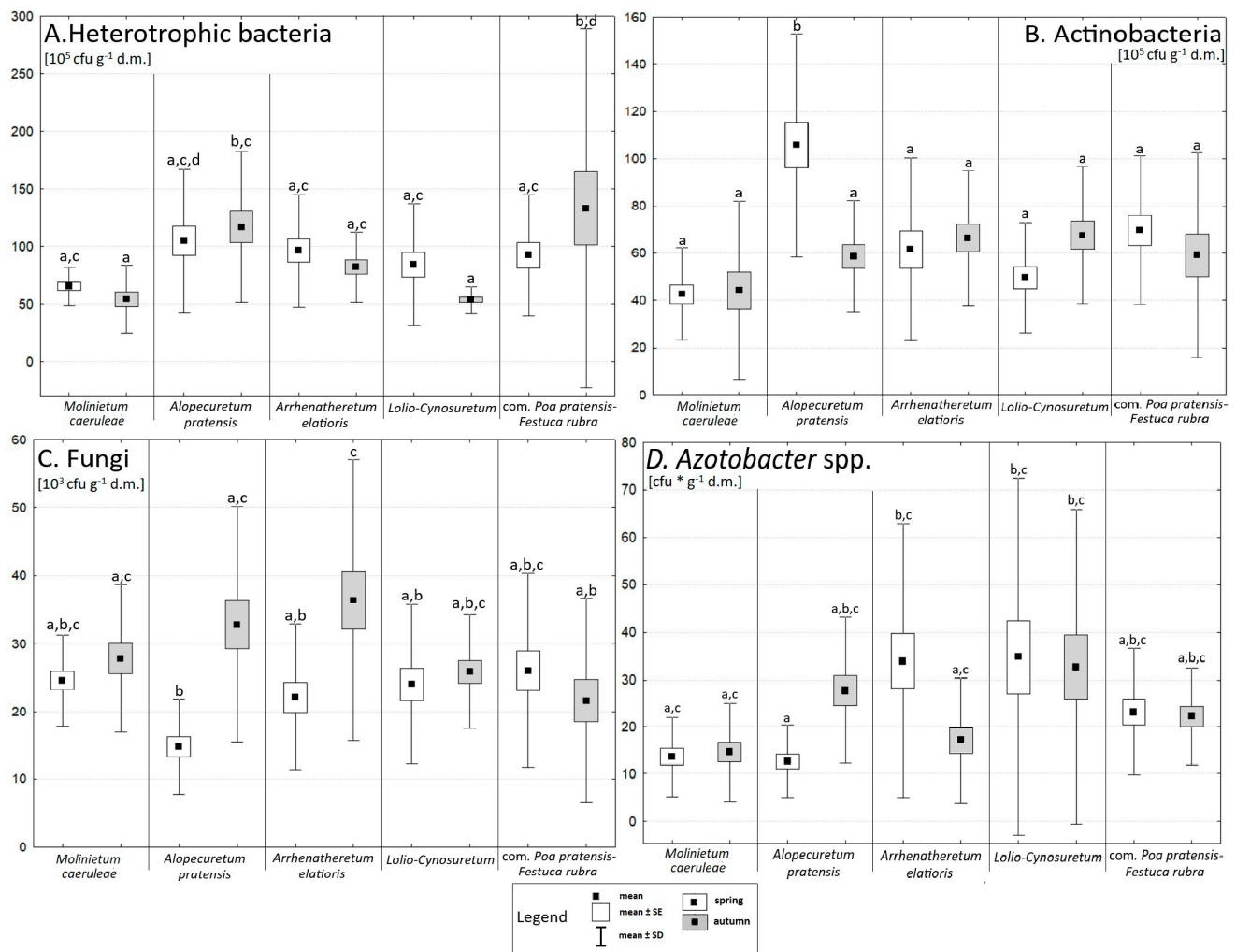


Figure 2. Microbial abundance in soils (mean $\pm$ SD and SE). Values marked with the same letter do not differ statistically significantly (ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's test as post hoc).

The highest activities of AcP and AIP were recorded in soils under the *Alopecuretum pratensis* in both sampling seasons. A similar pattern was observed for CAT and PA activities. UA was the only enzyme whose activity was consistently higher in autumn than in spring across all vegetation units. Moreover, UA activity exhibited relatively uniform levels among the analyzed soil types.

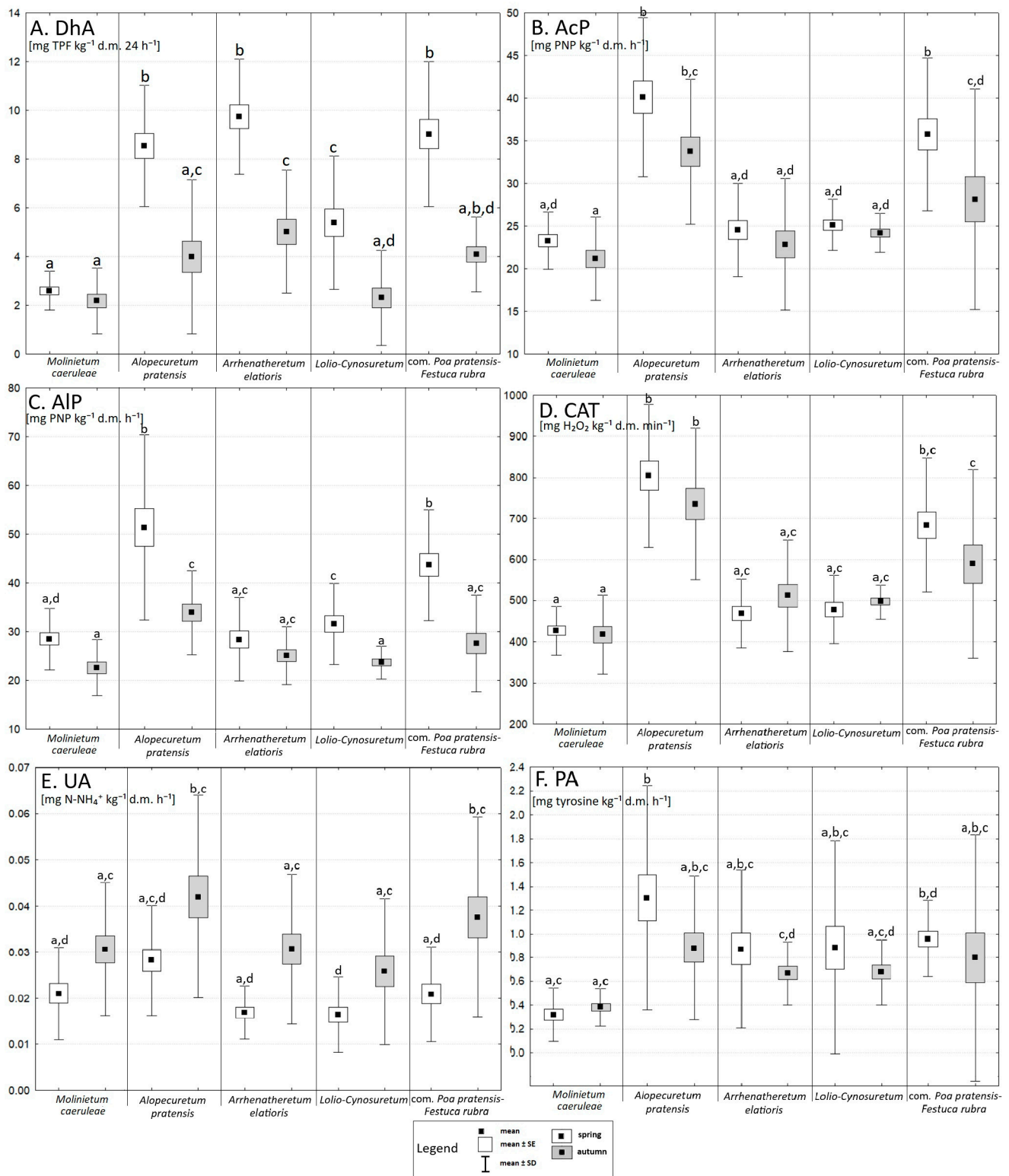


Figure 3. Enzymatic activity of soils (mean $\pm$ SD and SE). Values marked with the same letter do not differ statistically significantly (ANOVA, $p < 0.05$; Tukey's test as post hoc).

3.4. Relationship Between Biodiversity, Soil Parameters, and Seasons

According to analysis, soils from under *Molinietum caeruleae* and *Lolio-Cynosuretum* stand out significantly. Soils from under the first vegetation unit are characterized by more abundant fungi and a higher diversity of higher plants. Soils from under the second vegetation unit are characterized by the high abundance of *Azotobacter* spp. (Figure 4).

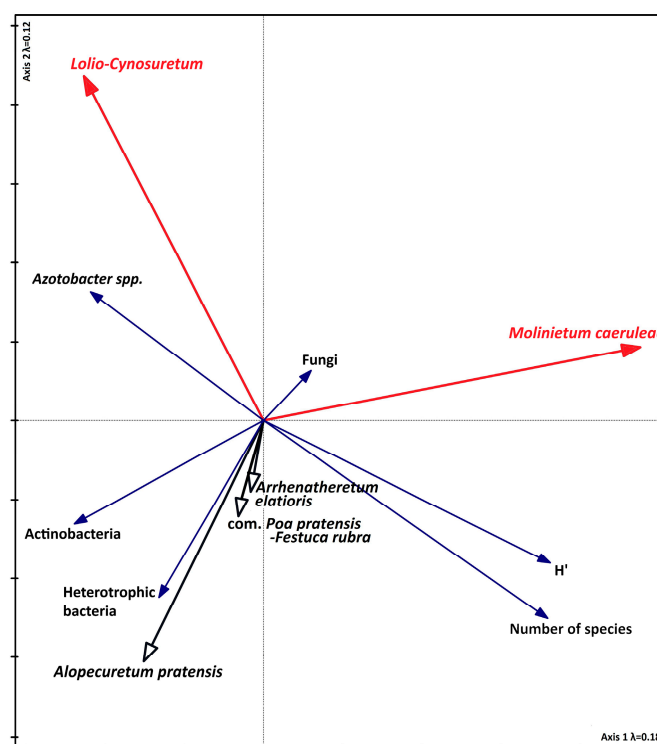


Figure 4. Redundancy analysis RDA presents the diversity of vegetation units due to the plant diversity and abundance of selected soil microorganisms. Vectors marked in red represent communities significantly different from the others (Monte Carlo permutation test, $p < 0.05$). λ —eigenvalue of the axes, where axis one explains 17.7% of the variability, and axis two explains 12.2%.

Pearson's correlation coefficient analysis indicated a significant negative relationship between the diversity index H' and the abundance of heterotrophic bacteria in the *Arrhenatheretum elatioris* soils (Table 3).

Table 3. Pearson's correlation index between the diversity index of a given vegetation units H' and the number of soil microorganisms. Significance levels: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns (not significant).

Grassland Units	Heterotrophic Bacteria	Actinobacteria	Fungi	Azotobacter spp.
<i>Molinietum caeruleae</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Alopecuretum pratensis</i>	ns	ns	ns	ns
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	−0.53 *	ns	ns	ns
<i>Lolio-Cynosuretum</i>	ns	ns	ns	ns
com. <i>Poa pratensis</i> – <i>Festuca rubra</i>	ns	ns	−0.63 **	ns

Similarly, a negative significant relationship applies to fungal abundance, which decreases with increasing H' in com. *Poa pratensis*–*Festuca rubra*. In the same community, the chemical parameters (AcP, AIP, and CAT) are negatively and significantly correlated with the Shannon index (Table 4).

According to the analysis performed, we can conclude that *Actinobacteria* prefer soils with higher TN and TOC values, while *Azotobacter spp.* and fungi choose a habitat with higher pH (Figure 5). However, these correlations were not statistically confirmed. Thus, we discuss some trends found in the grassland soils studied.

Table 4. Pearson’s correlation index between the diversity index of a given vegetation units H’ and the soil enzymatic activity. Significance levels: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns (not significant).

Grassland Units	DhA	AcP	AIP	CAT	UA	PA
<i>Molinietum caeruleae</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>Alopecuretum pratensis</i>	ns	−0.33 *	ns	−0.33 **	ns	ns
<i>Arrhenatheretum elatioris</i>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<i>Lolio–Cynosuretum</i>	ns	ns	ns	ns	−0.65 **	ns
com. <i>Poa pratensis–Festuca rubra</i>	ns	−0.63 **	−0.51 *	−0.62 **	ns	ns

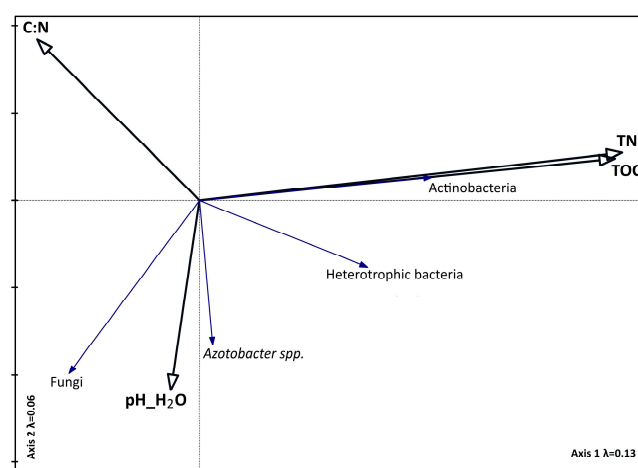


Figure 5. Redundancy analysis RDA indicates the relationship between the number of soil microorganisms and the studied soil parameters. None of the studied soil variables is significant for the diversity of the data (Monte Carlo permutation test, $p > 0.05$). λ —eigenvalue of the axes, where axis one explains 13.4% of the variability, and axis two explains 5.9%.

Redundancy analysis indicated that the activities of AcP, AIP, and CAT were significantly related to levels of TN. Soil pH also emerged as an important factor influencing variability within the dataset, with higher pH values exerting a markedly inhibitory effect on the activity of the analyzed enzymes (Figure 6).

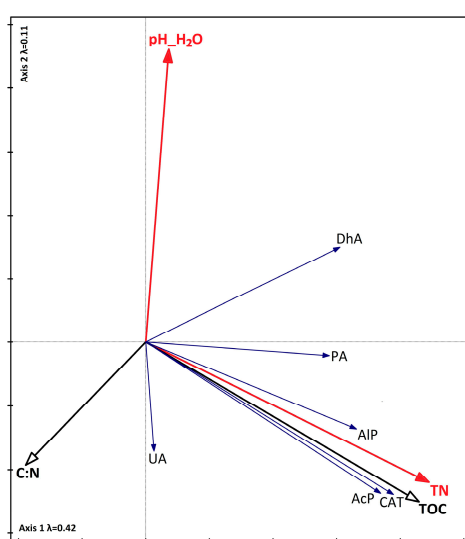


Figure 6. Redundancy analysis RDA indicates the relationship between the enzymatic activity of soil and the tested soil parameters. Vectors marked in red represent variables significantly different from the others (Monte Carlo permutation test, $p < 0.05$). λ —eigenvalue of the axes, where axis one explains 41.9% of the variability, and axis two explains 10.5%.

Among the relationships identified through redundancy analysis (RDA), the only statistically significant correlation was observed in autumn 2022, when a markedly high abundance of fungi coincided with a simultaneous decline in the populations of other soil microorganisms (Figure 7).

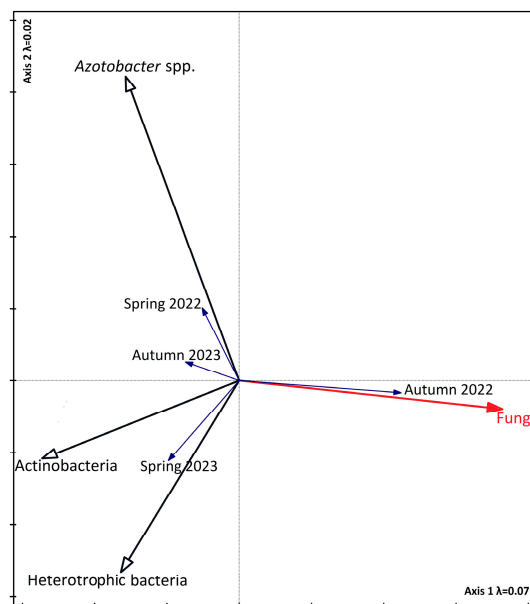


Figure 7. Redundancy analysis RDA indicates the relationship between the abundance of soil microorganisms and the research season. Vectors marked in red represent variable significantly different from the others (Monte Carlo permutation test, $p < 0.05$). λ —eigenvalue of the axes, where axis one explains 6.8% of the variability, and axis two explains 2.4%.

The activity of all analyzed enzymes exhibited significant seasonal variation. CAT and UA activities were markedly higher in autumn 2023, whereas the activities of the remaining enzymes showed significant associations with the spring 2022 sampling period (Figure 8).

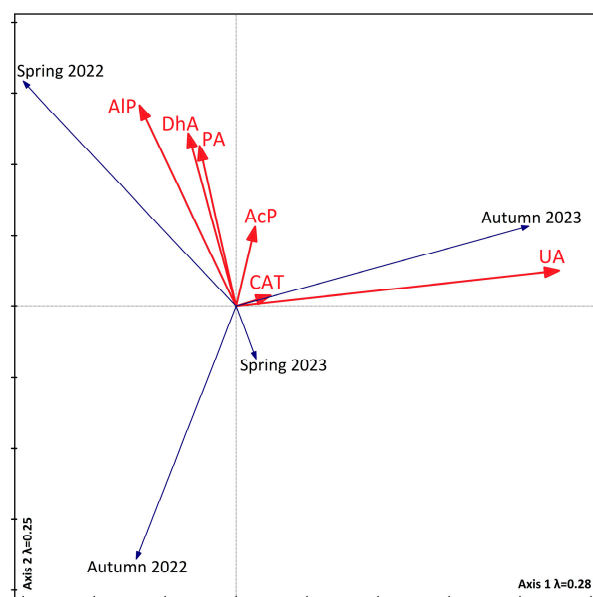


Figure 8. Redundancy analysis RDA indicates the relationship between soil enzymatic activity and the research season. Vectors marked in red represent values of enzyme significantly different from the others (Monte Carlo permutation test, $p < 0.05$). λ —eigenvalue of the axes, where axis one explains 28.1% of the variability, and axis two explains 24.6%.

4. Discussion

4.1. The Impact of Seasonality on Vegetation, the Abundance of Selected Microorganisms, and Enzyme Activity

Grasslands are dynamic ecosystems characterized by significant seasonal variations in species diversity, driven by climatic factors, resource availability, and management practices. Understanding these variations is crucial for biodiversity conservation and ecosystem management [77–79].

Spring is usually characterized by the highest levels of biodiversity and species richness in grasslands. This phenomenon is the result of the emergence of annual and perennial species that take advantage of favorable climatic conditions, such as moderate temperatures and increased rainfall [80,81]. During this period, the substrate shows less competitiveness, allowing subordinate species to develop before they are displaced by dominant species [79]. For example, grasslands in temperate climates are often dominated by spring-flowering species, which contributes to increased taxonomic and functional diversity [80]. The renewal of spring plant growth also supports a wide range of pollinators and herbivores, further enhancing ecosystem functionality [82]. However, the diversity and productivity of spring communities can be influenced by factors such as soil nutrient availability and management practices such as mowing and fertilization [78,79].

In contrast, autumn represents a transitional period in which species diversity and productivity decline as grasslands prepare for the winter dormancy period. The decline in diversity results from the aging of herbaceous plants and the disappearance of annual species [81,83]. The process of autumn senescence depends on factors such as soil moisture, temperature, and resource allocation below the soil surface, which can accelerate the end of the growing season [83]. Despite the overall decline in diversity, autumn still favors the existence of a specific set of species adapted to cooler and drier conditions. These species play an important role in maintaining ecosystem resilience during the transition to winter [84].

In the present study, a higher number of species and higher plant species diversity were recorded in the autumn season. This may be due to the fact that our study was performed in early autumn (September). In addition, the aforementioned climate change, which lengthens the growing season, may have an impact on repeat flowering. In addition, in autumn, all the plants were at the generative stage, making it easier to find and identify them. It is worth noting that the differences were not large.

In autumn, significant changes occur in the microbial community structure of soils. We noted a statistically significant correlation indicating that an increase in fungal abundance in autumn is associated with a concomitant decrease in the abundance of the other microorganisms analyzed. During this period, fungi—particularly saprotrophic species—play a key role in the decomposition of freshly fallen leaves, plant residues, and organic matter in general. Although bacteria are typically more abundant in soil, their activity may be lower in autumn compared to fungi, which are more effective at decomposing complex organic compounds such as lignin and cellulose [85–89]. The high abundance of fungi during this season, reported by previous studies, was also confirmed in our research.

We also noted that the activity of all analyzed enzymes showed significant seasonal variation. CAT and UA activities were significantly higher in autumn 2023. UA is the enzyme responsible for hydrolyzing urea to ammonia and carbon dioxide, playing a key role in the soil nitrogen cycle. Studies in various ecosystems have shown that UA activity is highest in spring and summer, which is associated with higher temperatures and greater availability of organic substrates. For example, UA activity was highest in June and September in a mountainous region in northern China and lowest in December [90]. Other studies indicate UA activity may be higher in spring and summer due to higher

temperatures and greater availability of organic substrates. For example, a study conducted in Poland's crop fields indicated UA activity was highest in May, lower in June, and lowest in March and August [91]. It is worth noting that soil UA activity can also be influenced by factors such as soil moisture, pH, organic matter content, and grassland management practices. Therefore, seasonal changes in the activity of this enzyme may vary depending on local environmental conditions and farming practices [32,92–95]. In the scientific literature, higher CAT activity is often observed in warmer months, such as spring and summer, which is associated with higher temperatures and greater activity of soil microorganisms. Therefore, the correlation of UA and CAT activity with the autumn of 2023 may be due to the significantly higher temperature in 2023, which we mentioned in the methodology. The growing season was longer and warmer.

In contrast, the activity of the other enzymes analyzed in our study was significant in spring 2022. Studies indicate that grasslands have the highest number of microorganisms and enzymatic activity, including DhA, phosphatases, and PA, in spring and summer. This phenomenon is attributed to the intensive growth of root systems of grassland plants during these seasons [32]. Similar observations were made in the subalpine meadows of Switzerland, where the activity of enzymes associated with the carbon cycle was higher in summer than in winter. This was due to greater water availability and higher microbial activity in the warmer months [96].

4.2. The Influence of Chemical Properties on Vegetation, the Abundance of Selected Microorganisms, and Enzyme Activity

Molinietum caeruleae was clearly distinguished from the other communities studied. These meadows exhibited the highest biodiversity index ($H' = 2.25$ in May and $H' = 2.45$ in September), which is confirmed in the literature. *Molinia* meadows are considered one of the most important communities in our region in terms of species richness and biological diversity, providing a habitat for rare and endangered plant species [5,97–99]. The soils of *Molinietum caeruleae* were also characterized by the lowest content of TOC and TN as well as the lowest enzymatic activity. Statistical analyses revealed that the soils of these grasslands exhibited a higher abundance of fungi, which significantly differentiated them from other syntaxonomic units. Similar relationships were noted in their studies by Zelnik and Čarni [100], Kozłowski et al. [101], and Swacha [102]. The authors described a low-nutrient status and low-organic-matter content in *Molinia* meadow soils.

The *Alopecuretum pratensis* soil was richest in TOC and TN, which confirms its high utility value, but this affects its lower floristic diversity. In addition, grass soils from this syntaxonomic unit were characterized by the highest AcP and AIP activity in both sampling seasons. This is directly related to the phosphorus content in the soil, as confirmed by Suder [103], who referred to *Alopecurus pratensis* as an indicator of phosphorus-rich soils. Mencil et al. [61] also confirmed a high phosphorus content in grassy soils that are part of *Alopecuretum pratensis*. This unit is characterized by the highest population of heterotrophic bacteria and *Actinobacteria*. Organic matter provides essential nutrients and energy, which promote the growth of microbial biomass and increase their enzymatic activity [104,105].

Soils under *Lolio–Cynosuretum* showed the highest abundance of *Azotobacter* spp., a group of nitrogen-fixing bacteria that enhance soil fertility by converting atmospheric nitrogen into plant-available forms [106]. Previous studies reported their presence in 43–52% of soils in Poland, with counts ranging from a few to nearly 10,000 cfu g^{−1} [107,108]. Their occurrence is typical in neutral to slightly alkaline soils and influenced by various environmental factors such as pH, organic matter, and moisture [109–111]. In our study, *Azotobacter* spp. abundance reached 34.8 cfu g^{−1} d.m. in spring and 32.6 cfu g^{−1} d.m. in autumn, with soil pH averaging 6.55 and 6.71, respectively—values confirming favorable conditions for their development.

Based on our analysis, it can be concluded that *Azotobacter* spp. choose habitats with higher pH. According to Jnawali et al. [106], these bacteria are sensitive to acidic pH. The results of studies on the presence of *Azotobacter* bacteria in soils indicate that their abundance depends on a number of physicochemical and microbiological factors. A study by Kizilkaya et al. [112] showed that *Azotobacter* spp. populations in soils are strongly related to organic matter content, pH, temperature, soil moisture, and depth of the soil profile. In addition, microbial interactions, such as competition with other microorganisms, also affect their abundance. These results may explain seasonal fluctuations, especially during periods of high nitrogen demand.

In *Arrhenatheretum elatioris* soil, we noticed a negative relationship between the H' diversity index and the abundance of heterotrophic bacteria. In general, high floristic diversity does not necessarily directly cause a decrease in the abundance of bacteria in the soil, but it can affect the structure and dynamics of the microbial community indirectly. Greater plant diversity usually means more complex sources of organic matter (different types of roots, root secretions, and leaf fall), which promotes an increase in microbial diversity but does not necessarily increase total bacterial abundance. Instead of one dominant group of bacteria, many different, more specialized groups may develop. In addition, in soils with high plant diversity, a more diverse but less numerically dominant bacterial community is often observed—that is, there are more species of bacteria but fewer representatives of a given species [113–116]. Similarly, a negative significant relationship applies to fungal abundance, which decreases with increasing H' in com. *Poa pratensis*–*Festuca rubra* soils. Current scientific research indicates that higher floristic diversity in grasslands tends to promote greater soil fungal diversity, not reduce it. For example, a study of 60 grassland sites showed that soil fungal diversity was positively correlated with plant diversity, even after accounting for environmental and geographic factors. However, this correlation was not observed for individual functional groups of fungi analyzed individually [117]. A study in Central Europe found that areas with high plant diversity had higher fungal diversity, including AMF, as well as different fungal community compositions and higher biomass of bacteria and AMF in the soil [45]. Current scientific evidence suggests that higher floristic diversity in grasslands promotes rather than reduces soil fungal diversity. However, this impact may vary depending on specific environmental conditions and ecosystem types. As with bacteria, lower abundance does not mean lower diversity.

According to the analysis performed, we can conclude that *Actinobacteria* prefer soils with higher TN and TOC values. In the study by Zhang et al. [118], the application of nitrogen fertilizers increased soil organic carbon (SOC) and nitrogen, which correlated with a higher abundance of *Actinobacteria*. Other studies [119] showed that TOC and TN are key factors determining the composition of bacterial communities, including *Actinobacteria*. Higher values of TOC and TN were associated with higher diversity and abundance of *Actinobacteria*.

In the *Poa pratensis*–*Festuca rubra* community, chemical parameters (AIP, AcP, and CAT) were negatively and significantly correlated with the Shannon index. Research from the Biodiversity and Climate (BAC) experiment in Minnesota [120] showed that higher plant diversity (up to 16 species) led to increased activity of enzymes associated with carbon, nitrogen, and phosphorus cycles, such as β -glucosidase, N-acetylglucosaminidase, phosphatase, and peroxidase. However, specific enzymatic activity relative to microbial biomass decreased with increasing plant diversity, suggesting changes in nutrient limitation or microbial community composition. The Jena experiment [121] found that the presence of legumes increased the activity of enzymes associated with nitrification and denitrification. In contrast, a higher proportion of grasses in the plant community decreased denitrification

activity. These effects were more related to the functional composition of the plants than to the number of species themselves.

Activities of AIP, AcP, and CAT were significantly related to levels of TN. Research indicates that higher levels of TN in the soil promote increased activity of enzymes associated with the nitrogen and phosphorus cycles, which can improve soil quality and its ability to cycle nutrients. Analysis of data from different grassland types showed a significant correlation between enzyme activity (including AIP and CAT) and TN, organic matter, available potassium, and soil moisture [122]. In an experiment on the effect of plant diversity on enzyme activity in the soil, it was found that the activity of AcP was significantly correlated with the content of TN in the soil [120]. Other studies, including correlation and path analysis, showed a significant positive relationship between TN content and the activity of urease, invertase, alkaline phosphatase, and catalase in soil [123].

We noted that higher pH values had a markedly inhibitory effect on the activity of the analyzed enzymes. High soil pH values can significantly inhibit the activity of soil enzymes, which affects biogeochemical processes such as the decomposition of organic matter and the cycling of carbon, nitrogen, and phosphorus [29,124,125]. For example, studies in peatlands found that the activity of enzymes such as CAT, UA, and phosphatase was dependent on soil pH. Increasing pH led to a decrease in the activity of these enzymes, indicating their sensitivity to pH changes [126]. However, it is worth noting that there is research confirming that long-term changes in soil pH can lead microorganisms and enzymes to adapt to new conditions. Studies have shown that pH optima for enzymes can shift toward the pH of the source environment, suggesting the ability to adapt to changing pH conditions [127].

5. Conclusions

This study confirms that grassland soils exhibit complex seasonal dynamics in biological and chemical processes that are fundamental to ecosystem functioning. Considering their pivotal role in carbon sequestration, biodiversity maintenance, and the regulation of biogeochemical cycles, further investigation into their functioning is warranted. A comprehensive understanding of the interactions among soil biological activity, plant community composition, and soil chemical properties is essential for elucidating the underlying mechanisms governing these ecosystems. Such knowledge is critical for the development of evidence-based management strategies aimed at enhancing ecosystem resilience, mitigating climate change, and ensuring the long-term conservation of these ecologically valuable landscapes.

Author Contributions: Conceptualization, J.M. and A.M.-P.; methodology, J.M., A.W. and A.M.-P.; validation, J.M. and A.W.; investigation, J.M.; data curation, J.M. and A.W.; writing—original draft preparation, J.M.; writing—review and editing, J.M., A.W. and A.M.-P.; visualization, J.M. and A.W.; supervision, A.M.-P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Data Availability Statement: Data are contained within the article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

AcP	acid phosphatase
AIP	alkaline phosphatase
AMF	arbuscular mycorrhizae fungi

CAT	catalase
CFU	colony-forming units
com.	community
DhA	dehydrogenases
PA	proteases
PGPR	plant growth-promoting rhizobacteria
RDA	redundancy analysis
SOC	soil organic carbon
SOM	soil organic matter
TN	total nitrogen
TOC	total organic carbon
UA	urease

References

1. Van Oijen, M.; Bellocchi, G.; Höglind, M. Effects of Climate Change on Grassland Biodiversity and Productivity: The Need for a Diversity of Models. *Agronomy* **2018**, *8*, 14. [\[CrossRef\]](#)
2. Gaujour, E.; Amiaud, B.; Mignolet, C.; Plantureux, S. Factors and Processes Affecting Plant Biodiversity in Permanent Grasslands. A Review. *Agron. Sustain. Dev.* **2012**, *32*, 133–160. [\[CrossRef\]](#)
3. Batáry, P.; Báldi, A.; Erdős, S. Grassland versus Non-Grassland Bird Abundance and Diversity in Managed Grasslands: Local, Landscape and Regional Scale Effects. *Biodivers. Conserv.* **2007**, *16*, 871–881. [\[CrossRef\]](#)
4. Sienkiewicz-Paderewska, D.; Paderewski, J.; Klarzyńska, A.; Wolański, P.; Rogut, K. Floristic Diversity versus Utilization Value of Selected Semi-Natural Central-European Grassland Communities: A Study from Poland. *Ecol. Indic.* **2021**, *132*, 108316. [\[CrossRef\]](#)
5. Matuszkiewicz, W. *Guide to the Identification of Plant Communities of Poland*; PWN: Warsaw, Poland, 2023.
6. Bonari, G.; Fajmon, K.; Malenovský, I.; Zelený, D.; Holuša, J.; Jongepierová, I.; Kočárek, P.; Konvička, O.; Uříčář, J.; Chytrý, M. Management of Semi-Natural Grasslands Benefiting Both Plant and Insect Diversity: The Importance of Heterogeneity and Tradition. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2017**, *246*, 243–252. [\[CrossRef\]](#)
7. Telo Da Gama, J. The Role of Soils in Sustainability, Climate Change, and Ecosystem Services: Challenges and Opportunities. *Ecologies* **2023**, *4*, 552–567. [\[CrossRef\]](#)
8. Sun, W.; Li, Q.; Qiao, B.; Jia, K.; Li, C.; Zhao, C. Advances in Plant–Soil Feedback Driven by Root Exudates in Forest Ecosystems. *Forests* **2024**, *15*, 515. [\[CrossRef\]](#)
9. Ma, Z.; Zhang, M.; Xiao, R.; Cui, Y.; Yu, F. Changes in Soil Microbial Biomass and Community Composition in Coastal Wetlands Affected by Restoration Projects in a Chinese Delta. *Geoderma* **2017**, *289*, 124–134. [\[CrossRef\]](#)
10. Chen, Q.; Song, Y.; An, Y.; Lu, Y.; Zhong, G. Soil Microorganisms: Their Role in Enhancing Crop Nutrition and Health. *Diversity* **2024**, *16*, 734. [\[CrossRef\]](#)
11. Bielinska, E.J.; Futa, B.; Mocek-Plóćiniak, A. *Soil Enzymes as Bioindicators of Soil Quality and Health*; Libropolis Scientific 550 Publishers Society: Lublin, Poland, 2014; ISBN 978-83-63761-25-7.
12. Ibáñez De Aldecoa, A.L.; Zafra, O.; González-Pastor, J.E. Mechanisms and Regulation of Extracellular DNA Release and Its Biological Roles in Microbial Communities. *Front. Microbiol.* **2017**, *8*, 1390. [\[CrossRef\]](#)
13. Wang, X.; Chi, Y.; Song, S. Important Soil Microbiota's Effects on Plants and Soils: A Comprehensive 30-Year Systematic Literature Review. *Front. Microbiol.* **2024**, *15*, 1347745. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Tabassum, B.; Khan, A.; Tariq, M.; Ramzan, M.; Iqbal Khan, M.S.; Shahid, N.; Aaliya, K. Bottlenecks in Commercialisation and Future Prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* **2017**, *121*, 102–117. [\[CrossRef\]](#)
15. Grobelak, A.; Napora, A.; Kacprzak, M. Using Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) to Improve Plant Growth. *Ecol. Eng.* **2015**, *84*, 22–28. [\[CrossRef\]](#)
16. Sumbul, A.; Ansari, R.A.; Rizvi, R.; Mahmood, I. Azotobacter: A Potential Bio-Fertilizer for Soil and Plant Health Management. *Saudi J. Biol. Sci.* **2020**, *27*, 3634–3640. [\[CrossRef\]](#)
17. Al-Baldawy, M.S.M.; Matloob, A.A.A.H.; Almammory, M.K.N. The Importance of Nitrogen-Fixing Bacteria Azotobacter Chroococcum in Biological Control to Root Rot Pathogens (Review). *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* **2023**, *1259*, 012110. [\[CrossRef\]](#)
18. Prasad, R.; Bhola, D.; Akdi, K.; Cruz, C.; Kvss, S.; Tuteja, N.; Varma, A. Introduction to Mycorrhiza: Historical Development. In *Mycorrhiza-Function, Diversity, State of the Art*; Varma, A., Prasad, R., Tuteja, N., Eds.; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017; pp. 1–7, ISBN 978-3-319-53063-5.
19. Verbruggen, E.; Van Der Heijden, M.G.A.; Weedon, J.T.; Kowalchuk, G.A.; Rölting, W.F.M. Community Assembly, Species Richness and Nestedness of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agricultural Soils. *Mol. Ecol.* **2012**, *21*, 2341–2353. [\[CrossRef\]](#)

20. Fall, A.F.; Nakabonge, G.; Ssekandi, J.; Founoune-Mboup, H.; Apori, S.O.; Ndiaye, A.; Badji, A.; Ngom, K. Roles of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Soil Fertility: Contribution in the Improvement of Physical, Chemical, and Biological Properties of the Soil. *Front. Fungal Biol.* **2022**, *3*, 723892. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
21. Yuvaraj, M.; Ramasamy, M. Role of Fungi in Agriculture. In *Biostimulants in Plant Science*; IntechOpen: London, UK, 2020; p. 12.
22. Koorem, K.; Sepp, S.; Bueno, C.G.; Davison, J.; Liu, S.; Meng, Y.; Semchenko, M.; Vasar, M.; Zobel, M.; Moora, M. Plant Mycorrhizal Status Indicates Partner Selectivity in Arbuscular Mycorrhizal Interaction Networks. *Funct. Ecol.* **2024**, *39*, 1358–1368. [\[CrossRef\]](#)
23. Simard, S.W.; Beiler, K.J.; Bingham, M.A.; Deslippe, J.R.; Philip, L.J.; Teste, F.P. Mycorrhizal Networks: Mechanisms, Ecology and Modelling. *Fungal Biol. Rev.* **2012**, *26*, 39–60. [\[CrossRef\]](#)
24. Grgas, D.; Rukavina, M.; Bešlo, D.; Štefanac, T.; Crnek, V.; Šikić, T.; Habuda-Stanić, M.; Landeka Dragičević, T. The Bacterial Degradation of Lignin—A Review. *Water* **2023**, *15*, 1272. [\[CrossRef\]](#)
25. Grzyb, A.; Wolna-Maruwka, A.; Niewiadomska, A. Environmental Factors Affecting the Mineralization of Crop Residues. *Agriculture* **2020**, *10*, 1951. [\[CrossRef\]](#)
26. Kuhad, R.C.; Kuhar, S.; Sharma, K.K.; Shrivastava, B. Microorganisms and Enzymes Involved in Lignin Degradation Vis-à-Vis Production of Nutritionally Rich Animal Feed: An Overview. In *Biotechnology for Environmental Management and Resource Recovery*; Kuhad, R.C., Singh, A., Eds.; Springer: New Delhi, India, 2013; pp. 3–44. ISBN 978-81-322-0875-4. [\[CrossRef\]](#)
27. Wang, L.; Hamel, C.; Lu, P.; Wang, J.; Sun, D.; Wang, Y.; Lee, S.-J.; Gan, G.Y. Using Enzyme Activities as an Indicator of Soil Fertility in Grassland—An Academic Dilemma. *Front. Plant Sci.* **2023**, *14*, 1175946. [\[CrossRef\]](#)
28. Furtak, K.; Gałazka, A. Enzymatic Activity as a Popular Parameter Used to Determine the Quality of the Soil Environment. *Pol. J. Agron.* **2019**, *37*, 22–30. [\[CrossRef\]](#)
29. Daunoras, J.; Kačergius, A.; Gudiukaitė, R. Role of Soil Microbiota Enzymes in Soil Health and Activity Changes Depending on Climate Change and the Type of Soil Ecosystem. *Biology* **2024**, *13*, 85. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Moeskops, B.; Sukristiyonubowo; Buchan, D.; Sleutel, S.; Herawaty, L.; Husen, E.; Saraswati, R.; Setyorini, D.; De Neve, S. Soil Microbial Communities and Activities under Intensive Organic and Conventional Vegetable Farming in West Java, Indonesia. *Appl. Soil Ecol.* **2010**, *45*, 112–120. [\[CrossRef\]](#)
31. Borowik, A.; Wyszowska, J.; Kucharski, J. Impact of Various Grass Species on Soil Bacteriobiome. *Diversity* **2020**, *12*, 212. [\[CrossRef\]](#)
32. Mencil, J.; Mocek-Płóćiniak, A.; Kryszak, A. Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review. *Agriculture* **2022**, *12*, 1136. [\[CrossRef\]](#)
33. Marcos, M.S.; Carrera, A.L.; Bertiller, M.B.; Olivera, N.L. Grazing Enhanced Spatial Heterogeneity of Soil Dehydrogenase Activity in Arid Shrublands of Patagonia, Argentina. *J. Soils Sediments* **2020**, *20*, 883–888. [\[CrossRef\]](#)
34. Hu, J.; Zhou, Q.; Cao, Q.; Hu, J. Effects of Ecological Restoration Measures on Vegetation and Soil Properties in Semi-Humid Sandy Land on the Southeast Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Glob. Ecol. Conserv.* **2022**, *33*, e02000. [\[CrossRef\]](#)
35. Li, M.; Wang, X.; Chen, J. Assessment of Grassland Ecosystem Services and Analysis on Its Driving Factors: A Case Study in Hulunbuir Grassland. *Front. Ecol. Evol.* **2022**, *10*, 841943. [\[CrossRef\]](#)
36. Zhan, X.; Wu, W.; Zhou, L.; Liang, J.; Jiang, T. Interactive Effect of Dissolved Organic Matter and Phenanthrene on Soil Enzymatic Activities. *J. Environ. Sci.* **2010**, *22*, 607–614. [\[CrossRef\]](#)
37. Wang, H.; Ma, S.; Shao, G.; Dittert, K. Use of Urease and Nitrification Inhibitors to Decrease Yield-Scaled N₂O Emissions from Winter Wheat and Oilseed Rape Fields: A Two-Year Field Experiment. *Agric. Ecosyst. Environ.* **2021**, *319*, 107552. [\[CrossRef\]](#)
38. Wang, C.; Lv, J.; Coulter, J.A.; Xie, J.; Yu, J.; Li, J.; Zhang, J.; Tang, C.; Niu, T.; Gan, Y. Slow-Release Fertilizer Improves the Growth, Quality, and Nutrient Utilization of Wintering Chinese Chives (*Allium tuberosum* Rottler Ex Spreng.). *Agriculture* **2020**, *10*, 381. [\[CrossRef\]](#)
39. Wyszowska, J.; Wyszowski, M. Activity of Soil Dehydrogenases, Urease, and Acid and Alkaline Phosphatases in Soil Polluted with Petroleum. *J. Toxicol. Environ. Health* **2010**, *73*, 1202–1210. [\[CrossRef\]](#)
40. Liao, P.; Ros, M.B.H.; Van Gestel, N.; Sun, Y.; Zhang, J.; Huang, S.; Zeng, Y.; Wu, Z.; Van Groenigen, K.J. Liming Reduces Soil Phosphorus Availability but Promotes Yield and P Uptake in a Double Rice Cropping System. *J. Integr. Agric.* **2020**, *19*, 2807–2814. [\[CrossRef\]](#)
41. Wahdan, S.F.M.; Heintz-Buschart, A.; Sansupa, C.; Tanunchai, B.; Wu, Y.-T.; Schädler, M.; Noll, M.; Purahong, W.; Buscot, F. Targeting the Active Rhizosphere Microbiome of Trifolium Pratense in Grassland Evidences a Stronger-Than-Expected Belowground Biodiversity-Ecosystem Functioning Link. *Front. Microbiol.* **2021**, *12*, 629169. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Yang, X.; Li, Z.; Cheng, C. Effect of Conservation Tillage Practices on Soil Phosphorus Nutrition in an Apple Orchard. *Hortic. Plant J.* **2016**, *2*, 331–337. [\[CrossRef\]](#)
43. Moreno, J.L.; García, C.; Hernández, T. Toxic Effect of Cadmium and Nickel on Soil Enzymes and the Influence of Adding Sewage Sludge. *Eur. J. Soil Sci.* **2003**, *54*, 377–386. [\[CrossRef\]](#)
44. Naga Raju, M.; Golla, N.; Vengatampalli, R. Soil Protease. In *Soil Enzymes*; SpringerBriefs in Environmental Science; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2017; pp. 19–24, ISBN 978-3-319-42654-9.

45. Lepinay, C.; Větrovský, T.; Chytrý, M.; Dřevojan, P.; Fajmon, K.; Cajthaml, T.; Kohout, P.; Baldrian, P. Effect of Plant Communities on Bacterial and Fungal Communities in a Central European Grassland. *Environ. Microbiome* **2024**, *19*, 42. [\[CrossRef\]](#)
46. Li, Y.; Zhao, L.; Hilal, M.G.; Guo, L.; Zhang, Y.; Ji, Y.; Jiang, X.; Hao, L.; Lin, K. Effects of Grassland Degradation on Soil Ecological Stoichiometry and Soil Microbial Community on the South of the Greater Khingan Mountains. *Front. Microbiol.* **2024**, *15*, 1438787. [\[CrossRef\]](#)
47. Roux, X.L.; Recous, S.; Attard, E. Soil Microbial Diversity in Grasslands and Its Importance for Grassland Functioning and Services. In *Grassland Productivity and Ecosystem Services*; Lemaire, G., Hodgson, J., Chabbi, A., Eds.; CABI: Wallingford, UK, 2011; pp. 158–165, ISBN 978-1-84593-809-3.
48. Gao, X.; Zheng, Z.; Diao, Z.; Zhang, Y.; Wang, Y.; Ma, L. The Effects of Litter Input and Increased Precipitation on Soil Microbial Communities in a Temperate Grassland. *Front. Microbiol.* **2024**, *15*, 1347016. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
49. Bogati, K.; Walczak, M. The Impact of Drought Stress on Soil Microbial Community, Enzyme Activities and Plants. *Agronomy* **2022**, *12*, 189. [\[CrossRef\]](#)
50. Siebert, J.; Sünemann, M.; Hautier, Y.; Risch, A.C.; Bakker, J.D.; Biederman, L.; Blumenthal, D.M.; Borer, E.T.; Bugalho, M.N.; Broadbent, A.A.D.; et al. Drivers of Soil Microbial and Detritivore Activity across Global Grasslands. *Commun. Biol.* **2023**, *6*, 1220. [\[CrossRef\]](#)
51. Breulmann, M.; Schulz, E.; Weißhuhn, K.; Buscot, F. Impact of the Plant Community Composition on Labile Soil Organic Carbon, Soil Microbial Activity and Community Structure in Semi-Natural Grassland Ecosystems of Different Productivity. *Plant Soil* **2012**, *352*, 253–265. [\[CrossRef\]](#)
52. Lagomarsino, A.; Grego, S.; Kandeler, E. Soil Organic Carbon Distribution Drives Microbial Activity and Functional Diversity in Particle and Aggregate-Size Fractions. *Pedobiologia* **2012**, *55*, 101–110. [\[CrossRef\]](#)
53. Wordell-Dietrich, P.; Don, A.; Helfrich, M. Controlling Factors for the Stability of Subsoil Carbon in a Dystric Cambisol. *Geoderma* **2017**, *304*, 40–48. [\[CrossRef\]](#)
54. Hagh-Doust, N.; Mikryukov, V.; Anslan, S.; Bahram, M.; Puusepp, R.; Dulya, O.; Tedersoo, L. Effects of Nitrogen Deposition on Carbon and Nutrient Cycling along a Natural Soil Acidity Gradient as Revealed by Metagenomics. *New Phytol.* **2023**, *238*, 2607–2620. [\[CrossRef\]](#)
55. Kottke, M.; Grieser, J.; Beck, C.; Rudolf, B.; Rubel, F. World Map of the Köppen-Geiger Climate Classification Updated. *Meteorol. Z.* **2006**, *15*, 259–263. [\[CrossRef\]](#)
56. IMGW PIB. *Meteorological Yearbook 2022*; IMGW PIB: Warszawa, Poland, 2022.
57. IMGW PIB. *Meteorological Yearbook 2023*; IMGW PIB: Warszawa, Poland, 2023.
58. Szałajdewicz, J. *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland), 1:50,000. Rakoniewice (541)*; Państwowy Instytut Geologiczny: Warsaw, Poland, 2004; ISBN 978-83-7372-649-9.
59. Jodłowski, J. *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland), 1:50,000. Wolsztyn (540)*; Państwowy Instytut Geologiczny: Warsaw, Poland, 2003; ISBN 978-83-7372-626-0.
60. Krzysztofka, M. *Szczegółowa Mapa Geologiczna Polski (Detailed Geological Map of Poland), 1:50,000. Kościan (542)*; Państwowy Instytut Geologiczny: Warsaw, Poland, 1993.
61. Mencil, J.; Klarzyńska, A.; Piernik, A.; Mocek-Płóćniak, A. Differentiation of Grassland Vegetation in Relation to the Physico-chemical Properties of Peat Soils in the Obra River Valley, Western Poland. *Soil Sci. Annu.* **2024**, *75*, 190113. [\[CrossRef\]](#)
62. Braun-Blanquet, J. *Pflanzensoziologie: Grundzüge Der Vegetationskunde*; Springer: Vienna, Austria, 1964.
63. Hennekens, S.M.; Schaminée, J.H.J. Turboveg, a Comprehensive Data Base Management System for Vegetation Data. *J. Veg. Sci.* **2001**, *12*, 589–591. [\[CrossRef\]](#)
64. Tichý, L.; Holt, J.; Nejezchlebová, M. *JUICE Program for Management, Analysis and Classification of Ecological Data*, 2nd ed.; Vegetation Science Group: Masaryk University Brno, Czech Republic, 2011.
65. Shannon, C.E.; Weaver, W. *A Mathematical Theory of Communication*; University of Illinois Press: Urbana, IL, USA, 1949.
66. Martin, J.P. Use of Acid, Rose Bengal and Streptomycin in the Plate Method for Estimating Soil Fungi. *Soil Sci.* **1950**, *69*, 215–232. [\[CrossRef\]](#)
67. Grabińska-Łoniewska, A. *Laboratory Exercises in General Microbiology*; Warsaw Technical University: Warsaw, Poland, 1999.
68. Fenglerowa, W. Simple Method for Counting Azotobacter in Soil Samples. *Acta Microbiol. Pol.* **1970**, *14*, 203–206.
69. Johnson, J.L.; Temple, K.L. Some Variables Affecting the Measurement of “Catalase Activity” in Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **1964**, *28*, 207–209. [\[CrossRef\]](#)
70. Thalmann, A. Zur Methodik Der Bestimmung Der Dehydrogenaseaktivität Im Boden Mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsh* **1968**, *21*, 249–258.
71. Tabatabai, M.A.; Bremner, J.M. Use of P-Nitrophenyl Phosphate for Assay of Soil Phosphatase Activity. *Soil Biol. Biochem.* **1969**, *1*, 301–307. [\[CrossRef\]](#)
72. Wyczółkowski, A.J.; Dabek-Szreniawska, M. Enzymes Taking Part in Organic Nitrogen Mineralization. *Acta Agrophysica. Monogr.* **2005**, *3*, 37–61.

73. Hoffmann, G.; Teichert, K. Ein Kolorimetrisches Verfahren Zur Bestimmung Der Ureaseaktivität in Böden. *Z. Für Pflanzenernährung Düngung Bodenkd.* **1961**, *91*, 55–63. [\[CrossRef\]](#)
74. Hammer, Ø.; Harper, D.A.T.; Ryan, P.D. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontol. Electron.* **2001**, *4*, 1–9.
75. ter Braak, C.J.F.; Šmilauer, P. *CANOCO Reference Manual and User's Guide: Software Ordination (Version 5.0)*; Biometrics: Wageningen, České Budějovice, 2012.
76. StatSoft, Inc. STATISTICA (Data Analysis Software System), Version 9.0. 2009. Available online: <http://www.statsoft.com> (accessed on 19 March 2025).
77. Garbowski, M.; Boughton, E.; Ebeling, A.; Fay, P.; Hautier, Y.; Holz, H.; Jentsch, A.; Jurburg, S.; Ladouceur, E.; Martina, J.; et al. Temperature Seasonality and Nutrient Enrichment Drive Intra-Annual Community Turnover in Global Grasslands. *bioRxiv* **2022**. [\[CrossRef\]](#)
78. Pan, J.J.; Ammerman, D.; Mitchell, R.J. Nutrient Amendments in a Temperate Grassland Have Greater Negative Impacts on Early Season and Exotic Plant Species. *Plant Ecol.* **2011**, *212*, 853–864. [\[CrossRef\]](#)
79. Doležal, J.; Lanta, V.; Mudrák, O.; Lepš, J. Seasonality Promotes Grassland Diversity: Interactions with Mowing, Fertilization and Removal of Dominant Species. *J. Ecol.* **2019**, *107*, 203–215. [\[CrossRef\]](#)
80. Fischer, F.M.; Chytrý, K.; Chytrá, H.; Chytrý, M.; Těšitel, J. Seasonal Beta-Diversity of Dry Grassland Vegetation: Divergent Peaks of above-Ground Biomass and Species Richness. *J. Veg. Sci.* **2023**, *34*, e13182. [\[CrossRef\]](#)
81. Yan, P.; Lu, X.; Li, W.; Zhang, J.; Li, P.; Li, Y.; Wang, K.; Ding, S. Seasonal Variations in Plant Species Diversity and Phylogenetic Diversity in Abandoned Farmland of China's Huang-Huai Plain. *Diversity* **2023**, *15*, 922. [\[CrossRef\]](#)
82. Wang, R.; Gamon, J.; Montgomery, R.; Townsend, P.; Zygielbaum, A.; Bitan, K.; Tilman, D.; Cavender-Bares, J. Seasonal Variation in the NDVI-Species Richness Relationship in a Prairie Grassland Experiment (Cedar Creek). *Remote Sens.* **2016**, *8*, 128. [\[CrossRef\]](#)
83. Qiao, Y.; Cheng, H.; Zhu, H.; Zhu, Y.; Jia, Q.; Yang, Y.; Zhong, H.; Zohner, C.; Liu, J. Species Diversity Advances Autumn Senescence in Grasslands. *Authorea* **2024**, preprint. [\[CrossRef\]](#)
84. Főti, S.; Barthá, S.; Balogh, J.; Pintér, K.; Koncz, P.; Biró, M.; Süle, G.; Petrás, D.; Luca, G.D.; Ladányi, M.; et al. Fluctuations and Trends in Spatio-Temporal Patterns of Plant Species and Diversity in a Sandy Pasture. *J. Veg. Sci.* **2023**, *34*, e13190. [\[CrossRef\]](#)
85. Hsin, K.-T.; Lee, H.; Lin, Y.-C.J.; Chen, P.-Y. Lignocellulose Degradation in Bacteria and Fungi for Biomass Conversion. *Front. Microbiol.* **2024**, *16*, 1583746. [\[CrossRef\]](#)
86. Shigyo, N.; Umeki, K.; Hirao, T. Seasonal Dynamics of Soil Fungal and Bacterial Communities in Cool-Temperate Montane Forests. *Front. Microbiol.* **2019**, *10*, 1944. [\[CrossRef\]](#)
87. Schneck, J.; Baldaszti, L.; Gündler, P.; Pleitner, M.; Sandén, T.; Simon, E.; Spiegel, F.; Spiegel, H.; Urbina Malo, C.; Zechmeister-Boltenstern, S.; et al. Seasonal Dynamics of Soil Microbial Growth, Respiration, Biomass, and Carbon Use Efficiency in Temperate Soils. *Geoderma* **2023**, *440*, 116693. [\[CrossRef\]](#)
88. Li, Z.; Wang, F.; Wen, Y.; Ye, C.; Wang, P.; Bai, T.; Gu, X.; Guo, L.; Qiu, Y.; Zhang, Y.; et al. Temporal Dynamics of Climate Sensitivity of Litter Decomposition in a Semi-Arid Grassland. *Geoderma* **2025**, *453*, 117157. [\[CrossRef\]](#)
89. Cereghetti, E.; Peller, T.; Kaeser, S.; Gounand, I.; Altermatt, F. Seasonal Dynamics of Detritus Flows and Decomposition across Ecosystem Boundaries. *Curr. Biol.* **2025**, *35*, p2139–p2145.e3. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
90. Kong, Y.; Qu, A.; Feng, E.; Chen, R.; Yang, X.; Lai, Y. Seasonal Dynamics of Soil Enzymatic Activity under Different Land-Use Types in Rocky Mountainous Region of North China. *Forests* **2023**, *14*, 536. [\[CrossRef\]](#)
91. Piotrowska-Długosz, A.; Wilczewski, E. Assessment of Soil Nitrogen and Related Enzymes as Influenced by the Incorporation Time of Field Pea Cultivated as a Catch Crop in Alfisol. *Environ. Monit. Assess.* **2014**, *186*, 8425–8441. [\[CrossRef\]](#)
92. Alizadeh, H.; Kandula, D.R.W.; Hampton, J.G.; Stewart, A.; Leung, D.W.M.; Edwards, Y.; Smith, C. Urease Producing Microorganisms under Dairy Pasture Management in Soils across New Zealand. *Geoderma Reg.* **2017**, *11*, 78–85. [\[CrossRef\]](#)
93. Song, W.; Han, F.; Bao, Z.; Chai, Y.; Wang, L.; Huang, C.; Cheng, H.; Chang, L. Mulching Practices Improve Soil Moisture and Enzyme Activity in Drylands, Increasing Potato Yield. *Agronomy* **2024**, *14*, 1077. [\[CrossRef\]](#)
94. Motasim, A.M.; Samsuri, A.W.; Nabayi, A.; Akter, A.; Haque, M.A.; Abdul Sukor, A.S.; Adibah, A.M. Urea Application in Soil: Processes, Losses, and Alternatives—A Review. *Discov. Agric.* **2024**, *2*, 42. [\[CrossRef\]](#)
95. Meena, A.; Rao, K.S. Assessment of Soil Microbial and Enzyme Activity in the Rhizosphere Zone under Different Land Use/Cover of a Semiarid Region, India. *Ecol. Process.* **2021**, *10*, 16. [\[CrossRef\]](#)
96. Puissant, J.; Jassey, V.E.J.; Mills, R.T.E.; Robroek, B.J.M.; Gavazov, K.; De Danieli, S.; Spiegelberger, T.; Griffiths, R.; Buttler, A.; Brun, J.-J.; et al. Seasonality Alters Drivers of Soil Enzyme Activity in Subalpine Grassland Soil Undergoing Climate Change. *Soil Biol. Biochem.* **2018**, *124*, 266–274. [\[CrossRef\]](#)
97. Chmolewska, D.; Nobis, M.; Rożej-Pabijan, E.; Grześ, I.M.; Radzikowski, P.; Okrutniak, M.; Celary, W.; Sternalski, J.; Shrubovych, J.; Wasak-Sęk, K. Matching the Puzzle Piece to a New Jigsaw: The Effect of Surrounding Environments on Plants and Invertebrates in the Translocated Wet Meadow. *Sci. Total Environ.* **2023**, *904*, 166637. [\[CrossRef\]](#)

98. Wójcik, T.; Kostrakiewicz-Gierałt, K.; Makuch-Pietraś, I. The Effect of Accidental Burning on Habitat Conditions and Species Composition of Molinion Caeruleae Meadows. *J. Nat. Conserv.* **2022**, *70*, 126294. [\[CrossRef\]](#)
99. Marciniuk, P.; Marciniuk, J.; Sychut-Czapla, E.; Oklejewicz, K. Meadows of the Molinietales order as a refugium of rare plant species in the Nadhużański Landscape Park (F. Poland). *Fragm. Florist. Geobot. Pol.* **2016**, *23*, 73–81.
100. Zelnik, I.; Čarni, A. Wet Meadows of the Alliance Molinion and Their Environmental Gradients in Slovenia. *Biologia* **2008**, *63*, 187–196. [\[CrossRef\]](#)
101. Kozłowski, S.; Zielewicz, W.; Swędryński, A.; Olejarnik, Ł. Chemical properties of forest grasses. *Grassl. Sci. Pol.* **2012**, *15*, 109–118.
102. Swacha, G.; Botta-Dukát, Z.; Kački, Z.; Pruchniewicz, D.; Żołnierz, L. The Effect of Abandonment on Vegetation Composition and Soil Properties in Molinion Meadows (SW Poland). *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0197363. [\[CrossRef\]](#)
103. Suder, A. Vegetation of wet meadows (order Molinietales caeruleae W. Koch 1926) in the eastern part of Silesia Upland. *Grassl. Sci. Pol.* **2007**, *10*, 159–172.
104. Han, X.; Doménech-Pascual, A.; Pere Casas-Ruiz, J.; Donhauser, J.; Jordaan, K.; Ramond, J.-B.; Priemé, A.; Romaní, A.M.; Frossard, A. Soil Organic Matter Properties Drive Microbial Enzyme Activities and Greenhouse Gas Fluxes along an Elevational Gradient. *Geoderma* **2024**, *449*, 116993. [\[CrossRef\]](#)
105. Xu, Q.; Li, L.; Guo, J.; Guo, H.; Liu, M.; Guo, S.; Kuzyakov, Y.; Ling, N.; Shen, Q. Active Microbial Population Dynamics and Life Strategies Drive the Enhanced Carbon Use Efficiency in High-Organic Matter Soils. *mBio* **2024**, *15*, e00177-24. [\[CrossRef\]](#)
106. Jnawali, A.D.; Ojha, R.B.; Marahatta, S. Role of Azotobacter in Soil Fertility and Sustainability—A Review. *Adv. Plants Agric. Res.* **2015**, *2*, 250–253. [\[CrossRef\]](#)
107. Martyniuk, S.; Martyniuk, M. Occurrence of Azotobacter Spp. in Some Polish Soils. *Pol. J. Environ. Stud.* **2002**, *12*, 371–374.
108. Lenart, A. Occurrence, Characteristics, and Genetic Diversity of Azotobacter Chroococcum in Various Soils of Southern Poland. *Pol. J. Environ. Stud.* **2012**, *21*, 415–424.
109. Mazinani, Z.; Asgharzadeh, A. Genetic Diversity of Azotobacter Strains Isolated from Soils by Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis. *Cytol. Genet.* **2014**, *48*, 293–301. [\[CrossRef\]](#)
110. Kozieł, M.; Gałazka, A.; Martyniuk, S. Free-Living Atmospheric Nitrogen-Fixing Bacteria of the Azotobacter Genus—534 Occurrence, Abundance, and Significance. *Stud. Rep. IUNG-PIB* **2018**, *56*, 57–70. [\[CrossRef\]](#)
111. Tejera, N.; Lluch, C.; Martinez-Toledo, M.V.; González-López, J. Isolation and Characterization of Azotobacter and Azospirillum Strains from the Sugarcane Rhizosphere. *Plant Soil* **2005**, *270*, 223–232. [\[CrossRef\]](#)
112. Kizilkaya, R. Nitrogen Fixation Capacity of Azotobacter Spp. Strains Isolated from Soils in Different Ecosystems and Relationship Between Them and the Microbiological Properties of Soils. *J. Environ. Biol.* **2009**, *30*, 73–82. [\[PubMed\]](#)
113. Li, Z.; Liu, X.; Zhang, M.; Xing, F. Plant Diversity and Fungal Richness Regulate the Changes in Soil Multifunctionality in a Semi-Arid Grassland. *Biology* **2022**, *11*, 870. [\[CrossRef\]](#)
114. Meliani, A.; Bensoltane, A.; Mederbel, K. Microbial Diversity and Abundance in Soil: Related to Plant and Soil Type. *Am. J. Plant Nutr. Fertil. Technol.* **2012**, *2*, 10–18. [\[CrossRef\]](#)
115. Chen, Y.; Huang, X.; Lang, X.; Tang, R.; Zhang, R.; Li, S.; Su, J. Effects of Plant Diversity, Soil Microbial Diversity, and Network Complexity on Ecosystem Multifunctionality in a Tropical Rainforest. *Front. Plant Sci.* **2023**, *14*, 1238056. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
116. Jayaramaiah, R.H.; Martins, C.S.C.; Egidi, E.; Macdonald, C.A.; Wang, J.-T.; Liu, H.; Reich, P.B.; Delgado-Baquerizo, M.; Singh, B.K. Soil Function-Microbial Diversity Relationship Is Impacted by Plant Functional Groups under Climate Change. *Soil Biol. Biochem.* **2025**, *200*, 109623. [\[CrossRef\]](#)
117. Yang, T.; Adams, J.M.; Shi, Y.; He, J.; Jing, X.; Chen, L.; Tedersoo, L.; Chu, H. Soil Fungal Diversity in Natural Grasslands of the Tibetan Plateau: Associations with Plant Diversity and Productivity. *New Phytol.* **2017**, *215*, 756–765. [\[CrossRef\]](#)
118. Zhang, W.; Wang, R.; Li, T.; Guo, M.; Guo, S.; Wang, R. Responses of Bacterial and Fungal Community to Long-Term Nitrogen Application in Loess Plateau. *J. Plant Nutr. Fertil.* **2024**, *30*, 232–241. [\[CrossRef\]](#)
119. Kumar, A.; Rai, L.C. Organic Carbon and Nitrogen Availability Determine Bacterial Community Composition in Paddy Fields of the Indo-Gangetic Plain. *3 Biotech* **2017**, *7*, 199. [\[CrossRef\]](#)
120. Steinauer, K.; Tilman, D.; Wragg, P.D.; Cesarz, S.; Cowles, J.M.; Pritsch, K.; Reich, P.B.; Weisser, W.W.; Eisenhauer, N. Plant Diversity Effects on Soil Microbial Functions and Enzymes Are Stronger than Warming in a Grassland Experiment. *Ecology* **2015**, *96*, 99–112. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
121. Le Roux, X.; Schmid, B.; Poly, F.; Barnard, R.L.; Niklaus, P.A.; Guillaumaud, N.; Habekost, M.; Oelmann, Y.; Philippot, L.; Salles, J.F.; et al. Soil Environmental Conditions and Microbial Build-Up Mediate the Effect of Plant Diversity on Soil Nitrifying and Denitrifying Enzyme Activities in Temperate Grasslands. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e61069. [\[CrossRef\]](#)
122. Xie, L.; Gong, L.; Zhu, M. Soil Enzyme Activities and Their Correlation with Physicochemical Factors in the Oasis of Southern Margin of Tarim Basin. *Res. Environ. Sci.* **2014**, *27*, 1306–1313.
123. Liu, Q.; Wu, F.; Liu, H.; Zhang, Q.-F.; Zhang, J.; Li, H. Study on the Relationships Between Soil Enzyme Activities and Soil Fertility in Zhifanggou Watershed. *J. Plant Nutr. Fertil.* **2009**, *15*, 1100–1106. [\[CrossRef\]](#)

124. Kotroczó, Z.; Veres, Z.; Fekete, I.; Krakomperger, Z.; Tóth, J.A.; Lajtha, K.; Tóthmérész, B. Soil Enzyme Activity in Response to Long-Term Organic Matter Manipulation. *Soil Biol. Biochem.* **2014**, *70*, 237–243. [[CrossRef](#)]
125. Xu, R.; Li, J.; Li, X.; Zhang, J.; Song, W. Effect of Coal Mining Subsidence on Soil Enzyme Activity in Mining Areas with High Underground Water Levels. *Water* **2024**, *16*, 1704. [[CrossRef](#)]
126. Ochmian, I.; Kozos, K.; Jaroszevska, A.; Malinowski, R. Chemical and Enzymatic Changes of Different Soils during Their Acidification to Adapt Them to the Cultivation of Highbush Blueberry. *Agronomy* **2020**, *11*, 44. [[CrossRef](#)]
127. Puissant, J.; Jones, B.; Goodall, T.; Mang, D.; Blaud, A.; Gweon, H.S.; Malik, A.; Jones, D.L.; Clark, I.M.; Hirsch, P.R.; et al. The pH Optimum of Soil Exoenzymes Adapt to Long Term Changes in Soil pH. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, *138*, 107601. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Oświadczenia współautorów

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: mgr inż. Justyna Mencil

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencil, J.; Mocek-Płócinia, A.; Kryszak, A., 2022, *Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review*, *Agronomy*, 12, 1136

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: autorstwie koncepcji, przygotowaniu projektu publikacji, zbieraniu danych literaturowych, analizie danych literaturowych, opracowaniu krytycznego przeglądu literatury, sformułowaniu wniosków, opracowaniu grafik, opracowaniu manuskryptu.

Data 15.07.2025.....

Podpis

.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. dr hab. Anna Kryszak

Afiliacja: Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań – pracownik emerytowany

Oświadczenie o współautorstwie

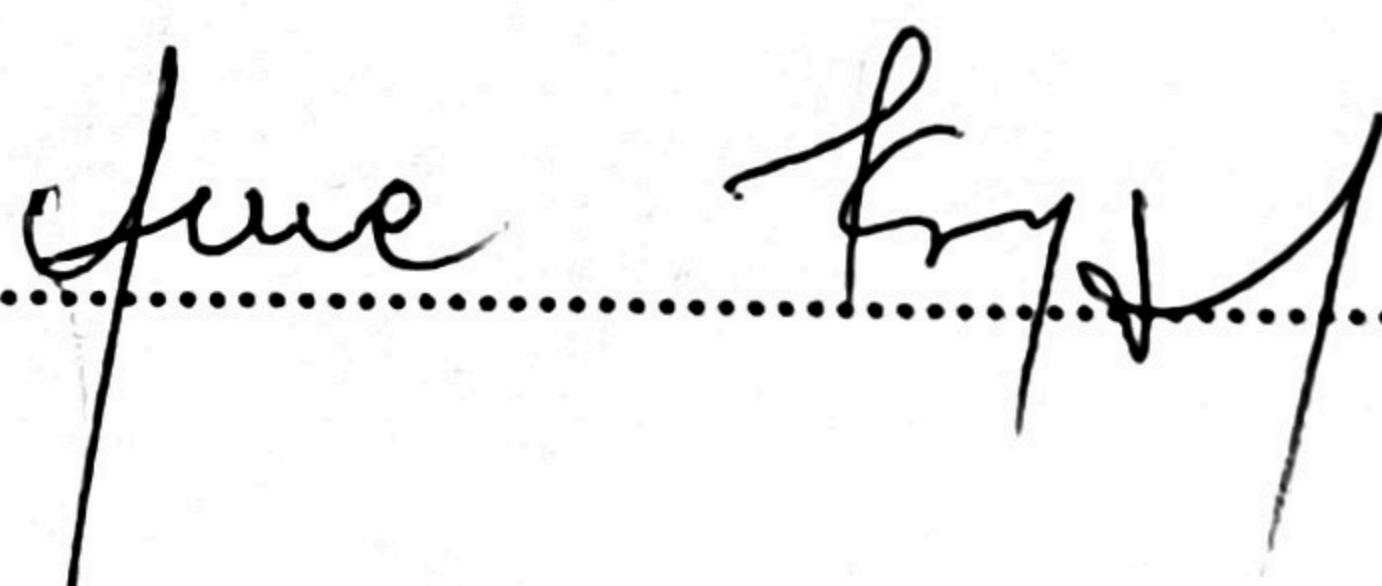
Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J.; Mocek-Płóćiniak, A.; Kryszak, A., 2022, *Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review*, *Agronomy*, 12, 1136

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na nadzorze merytorycznym i konsultacjach naukowych na etapie przygotowania artykułu przeglądowego.

Data 28.01.2025.....

Podpis

.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UPP dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J.; Mocek-Płóćiniak, A.; Kryszak, A., 2022, *Soil Microbial Community and Enzymatic Activity of Grasslands under Different Use Practices: A Review*, *Agronomy*, 12, 1136

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na:

nadzorze merytorycznym i redagowaniu manuskryptu.

Data 09.09.2026

Podpis

Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: mgr inż. Justyna Mencel

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płóćiniak, A., 2024, *Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Odra River valley, western Poland*, Soil Science Annual, 75(2), 190113

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: autorstwie koncepcji, przygotowaniu projektu badań, opracowaniu krytycznego przeglądu literatury, opracowaniu założeń i metod, przeprowadzeniu badań, w tym zbieraniu danych, analizie wyników, interpretacji wyników i sformułowaniu wniosków, opracowaniu manuskryptu.

Data 15.02.2025 r....

Podpis

Justyna Mencel

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: dr inż. Agnieszka Klarzyńska

Afiliacja: Katedra Łąkarstwa i Krajobrazu Przyrodniczego, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Dojazd 11, 60-632 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płóćiniak, A., 2024, *Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland*, Soil Science Annual, 75(2), 190113

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: nadzorze merytorycznym nad badaniami fitosocjologicznymi, redagowaniu manuskryptu.

Data ..25..08..2025..

Podpis

.....A. Klarzyńska.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UMK dr hab. Agnieszka Piernik

Afiliacja: Katedra Geobotaniki i Planowania Krajobrazu, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płóćniak, A., 2024, *Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Obra River valley, western Poland*, Soil Science Annual, 75(2), 190113

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: wyborze metod statystycznych i analizie statystycznej wyników badań oraz jej interpretacji.

Data 28.07.2025

Podpis

.....

- * wpisać właściwe: autorstwo koncepcji, przygotowanie projektu badań, opracowanie krytycznego przeglądu literatury, opracowanie założeń i metod, przeprowadzenie badań, w tym zbieranie danych, analiza wyników, interpretacja wyników i sformułowanie wniosków, obliczenia statystyczne, opracowanie grafik, opracowanie manuskryptu, inne (należy wskazać)

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UPP dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Klarzyńska, A., Piernik, A., Mocek-Płóćiniak, A., 2024, *Differentiation of grassland vegetation in relation to the physicochemical properties of peat soils in the Odra River valley, western Poland*, Soil Science Annual, 75(2), 190113

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na:

koncepcji i przygotowaniu projektu badań, nadzorze merytorycznym i redagowaniu manuskryptu.

Data 09.09.2025

Podpis

Mocek-Płóćiniak

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: mgr inż. Justyna Mencil

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencil J., Gasecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płociniak A., 2025, *Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Odra River valley: a preliminary study*, Soil Science Annual, 76(2), 205498

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: autorstwie koncepcji, przygotowaniu projektu badań, opracowaniu krytycznego przeglądu literatury, opracowaniu założeń i metod, przeprowadzeniu badań, w tym zbieraniu danych, analizie wyników, interpretacji wyników i sformułowaniu wniosków, opracowaniu manuskryptu.

Data15.07.2025.....

Podpis

.....Justyna Mencil.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UPP. dr hab. Monika Gąsecka

Afiliacja: Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 75,
60-625 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel J., Gąsecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płóćiniak A., 2025, *Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study*, Soil Science Annual, 76(2), 205498

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: opracowaniu metod, przeprowadzeniu badań, w tym zbieraniu danych oraz redagowaniu manuskryptu.

Data16-07-2025.....

Podpis

.....Monika Gąsecka.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: dr Marta Molińska-Glura

Afiliacja: Katedra Ekonomiki i Techniki Leśnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel J., Gąsecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płóćiniak A., 2025, *Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study*, Soil Science Annual, 76(2), 205498

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: dobraniu i wykonaniu analiz statystycznych, opracowaniu grafik.

Data20.08.2025.....

Podpis

.....Molińska-Glura.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UPP dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płóćiniak

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel J., Gąsecka M., Molińska-Glura M., Mocek-Płóćiniak A., 2025, *Relationships between selected phenolic compounds and microbial abundance in grassland soils in the Obra River valley: a preliminary study*, Soil Science Annual, 76(2), 205498

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na:

koncepcji badań, nadzorze merytorycznym i redagowaniu manuskryptu.

Data 09.09.2025

Podpis

Mencel-Płóćiniak

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: mgr inż. Justyna Mencil

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu,
ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencil, J., Wojciechowska, A., Mocek-Płociniak, A., 2025, *Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley*, *Agronomy*, 15, 1573

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: autorstwie koncepcji, przygotowaniu projektu badań, opracowaniu krytycznego przeglądu literatury, opracowaniu założeń i metod, przeprowadzeniu badań, w tym zbieraniu danych, analizie wyników, interpretacji wyników i sformułowaniu wniosków, opracowaniu manuskryptu.

Data 15.07.2025r.....

Podpis

.....*Justyna Mencil*.....

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: dr Anna Wojciechowska

Afiliacja: Katedra Geobotaniki i Planowania Krajobrazu, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Wojciechowska, A., Mocek-Płociniak, A., 2025, *Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley*, *Agronomy*, 15, 1573

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na: dobraniu, wykonaniu i interpretacji analiz statystycznych.

Data 15-07-2015

Podpis



- * wpisać właściwe: autorstwo koncepcji, przygotowanie projektu badań, opracowanie krytycznego przeglądu literatury, opracowanie założeń i metod, przeprowadzenie badań, w tym zbieranie danych, analiza wyników, interpretacja wyników i sformułowanie wniosków, obliczenia statystyczne, opracowanie grafik, opracowanie manuskryptu, inne (należy wskazać)

Imię i nazwisko doktoranta lub współautora pracy: prof. UPP dr hab. inż. Agnieszka Mocek-Płociniak

Afiliacja: Katedra Gleboznawstwa i Mikrobiologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań

Oświadczenie o współautorstwie

Niniejszym oświadczam, że w pracy:

Mencel, J., Wojciechowska, A., Mocek-Płociniak, A., 2025, *Effect of Grassland Vegetation Units on Soil Biochemical Properties and the Abundance of Selected Microorganisms in the Obra River Valley*, *Agronomy*, 15, 1573

mój indywidualny udział w jej powstaniu polegał na:

koncepcji i przygotowaniu projektu badań, nadzorze merytorycznym i redagowaniu manuskryptu.

Data 09.09.2025

Podpis

Agnieszka Mocek-Płociniak