

IDENTIFIERING AV ORGANISKA FOSFORFORMER I ÅKERMARK; VILKA BIDRAR TILL ÖVERGÖDNING?

H0870004

Emil Rydin

Bakgrund

Med kunskap om vilka organiska fosforföreningar som bidrar till övergödning, kan kostnadseffektiva åtgärder göras. Den fosfor som inte kommer att bli tillgänglig för produktion i sjöar och hav behöver inte renas bort; istället kan resurserna läggas på de källor som innehåller en hög andel övergödningsdrivande fosfor.

Naturvårdsverket belyste redan 2005 en kritisk kunskapslucka i vår förståelse över hur fosforläckaget från jordbruk påverkar akvatiska system (SNV 2005). Kunskapsbristen om den organiska fosfors sammansättning, förekomst och tillförsel från land till sjö och hav kvarstår. Det är känt att fosfor som begravs i sjö- och Östersjösediment till stor andel utgörs av organisk bunden fosfor (Mort m.fl. 2010). Det innebär att det finns organiska fosforföreningar som är stabila nog att motstå nedbrytning och därmed undandras vidare omsättning i vattendrag, sjöar och hav. Å andra sidan utgör omsättningen av organiska fosforföreningar generellt den dominerande källan av fosfor som frigörs från sediment till vattenmassan (t.ex. Rydin m.fl. 2011). Det innebär att vissa organiska fosforföreningar bryts ner lättare än andra. Sammantaget utgör alltså omsättningen av organiska fosforföreningar en central process för fosfortillgången, och därmed övergödningen av akvatiska system. Det är dock inte känt vilka föreningar som är stabila och kan begravas i sedimenten för gott, och vilka som är labila och som kommer att brytas ner på vägen från källan på land till den slutliga lagringen i sjöars och havs sediment.

Trots att omsättningen av organiska fosforformer är centrala processer i ett avrinningsområde, saknas det alltså kunskap om vilka organiska fosforformer som produceras i olika delar av avrinningsområdet (jordbruksmark, skog, vattendrag) och hur stabila de är. Denna kunskapsbrist beror på att det inte tidigare har funnits tillräckligt bra analysmetoder för karakterisering och kvantifiering av dessa föreningar. Enkla metoder för att mäta den totala poolen organisk fosfor i ett prov finns, och med kärnmagnetisk resonansteknik (NMR) kan de olika huvudgrupperna identifieras. Men inom dessa huvudgrupper finns av allt att döma både labila och stabila föreningar.

De största grupperna av den organiska fosforpoolen i jord är ortofosfat mono- och diestrar. Ortofosfat monoestrar, där så kallade inositolfosfater ingår, är mycket viktiga för både djur- och växtceller. Inositolfosfat och dess nedbrytningsprodukter finns som näringslager i frön och kärnor och är en källa till myoinositol som har en funktion i cellväggsuppbyggnaden. Många olika inositolfosfater finns i djurceller, men deras förekommande är beroende på celltyp och utvecklingsstadier. Inositolfosfater är stabila nog att t ex passera intakta genom t ex grisars magtarmkanal, om inte rätt enzymer tillsätts. I gruppen ortofosfatdiestrar ingår DNA och fosfolipider, två centrala fosformolekyler (genomet och cellväggar) som finns i alla organismer.

För att undersöka vilken roll organiska fosforföreningar har i avrinningsområdet behöver de kunna identifieras. Detta projekt har utvecklat metoder för att identifiera de dominerande formerna av organiskt bunden fosfor i jord. Metoderna har tillämpats för att identifiera och kvantifiera organiska fosforföreningar i material från skog och jordbrukslandskapet, samt från sediment. Slutligen har sedimentprofiler analyserats för att kunna bedöma hur stabila dessa föreningar är.

Material och metoder

Projektet har utvecklat metoder för att identifiera och kvantifiera de tre organiska fosforformerna: inositolfosfat, fosfor i DNA och fosfolipider. Dessa metoder beskrivs kort nedan under Material & Metoder, även om framtagandet av metoderna är Resultat.

Analys av DNA (DNA-P) och fosfolipider (lipid-P)

Två metoder har utvecklats för fosfor bundet i DNA och lipider som beskrivs i detalj i (I). För att extrahera fram fosfor i DNA och fosfolipider från jord och sedimentprover användes specifika extraktionsmetoder, bland annat enzymer och organiska lösningsmedel. För att separera fram DNA-P användes bland annat ett storleksspecifikt filter, ett så kallat cut-off filter. DNA-P kunde sedan detekteras efter sur hydrolys med klassisk spektrofotometrisk metod.

Analys av inositolfosfat

För extraktion av inositolfosfater användes en specifik extraktion med ammoniumoxalat. De olika inositolfosfaterna separerades med hjälp av HPLC och identifierades med Masspektrometri (III).

Insamling av prover

De prover som har använts för metodvecklingen beskrivs i respektive artikel (I-III).

För att kartlägga förekomsten av organisk fosfor i ett avrinningsområde (IV) samlades jord från jordbruksmark (brukad lerjord med och utan strukturkalk), jord från en hästhage samt hästgödsel och jord från obrukad mark från Säby Gård på Ingarö (Värmdö kommun). Som exempel på material som transporteras från dessa olika marktyper har sediment från bäcken som avvattnar skogen och från diket som avvattnar jordbruksmarken analyserats. Inom ramen för projektet "Levande kust" i BalticSea2020s regi har även sedimentkärnor från den kustvik som avrinningsområdet mynnar i, analyserats.

Resultat

De utvecklade metoderna för DNA-P och för lipid-P är snabba, robusta och håller hög reproducerbarhet och utbytet var över 95% för båda metoderna. För detektionsgränser och annan information om metoderna hänvisas till artikel (I).

Med den nya HPLC-MS metoden (III) minskade provbearbetningen till ett fåtal steg och risken för att nedbrytning av inositoler under analysförloppet upphörde. HPLC-MS metoden är också snabbare samt betydligt känsligare än NMR-metoden. Förutom att kvantifiera inositoler kan HPLC-MS metoden även kvantifiera olika former av inositoler i olika typer av prover, vilket ännu inte är möjligt med NMR-teknik. Vår slutsats är att den nya HPLC-MS metoden med fördel kan användas för att jämföra fosforformer olika mark- och sedimenttyper.

För att bedöma om DNA-P och lipid-P bidrar till övergödningen jämfördes sediment från en näringsfattig och en näringsrik sjö (II). Både DNA-P och lipid-P lagras i sedimenten, men en del bryts ner. I ytsedimentet förekommer DNA-P i större mängd än lipid-P, men DNA-P bryts ner i snabbare takt än lipid-P. Halterna av båda fosforformerna var högre i sediment från den näringsrika sjön. Slutsatsen från detta arbete är att nedbrytningen av DNA-P i sediment från näringsrika sjöar är en viktig del av övergödningens problematik. Det är däremot inte inositoler, vilka begravs i sjösedimenten utan att bidra med mobiliserad fosfor till vattenmassan.

De tre nyutvecklade metoderna användes för att klarlägga vilka organiska fosforformer som dominerar i de olika marktyperna i ett avrinningsområde, vilka som mellanlagras i transportvägarna, och till sist följa halterna av dessa tre föreningar i recipientvikens sedimentprofil (IV). Arbetet pågår fortfarande. Preliminära resultat visar att de tre identifierade organiska fosforformerna utgjorde en betydande del av det totala fosforinnehållet i alla prover (Tabell 1). Minst andel (8%) återfanns i lerjorden och störst andel innehöll jord från hästhagen och sediment från bäcken, nära 30% av det totala fosforinnehållet.

I sedimentprofilen från Säbyviken (som diket mynnar ut i) bryts framförallt DNA-P ner snabbt. Inom något år har majoriteten av den fosfor bundet till DNA som deponerats på sedimenten brutits ner och fosfor frigjorts som löst fosfat till vattnet. Den mobiliseringen motsvarar ca 10% av det totala fosforinnehållet i de översta 2 cm sediment och utgör basen för den fosfor som frigörs från vikens sediment och driver övergödningen i viken. Däremot bidrar inte fosfor bundet i lipider i samma utsträckning. Dels är halterna lägre i ytsedimenten, dels ser åtminstone hälften av den lipidfosfor som når sedimenten ut att begravas utan att brytas ner. Liksom i sjösedimenten är inositolfosforkoncentrationen konstant i denna syrefria sedimentprofil och utgör ca 10% av den totala fosforkoncentrationen som kommer att begravas i vikens sediment.

Tabell 1. Totalfosfor, fosfor bundet i DNA, i lipider och som inositoler i olika typer av material från Säby Gårds avrinningsområde. Dessutom andel av dessa tre organiska fosforformer av det totala fosforinnehållet.

Typ av prov	Total-P	DNA-P	Lipid-P	Inositol-P	Organisk P av Total-P
	(µg P/g TS)				(%)
hästhage	1090	98	34	71	19%
strukturkalkad lerjord	973	27	16	65	11%
sediment från dike	1259	87	43	38	13%
skogsjord	729	25	14	72	15%
hästgödsel	4853	211	81	115	8%
lerjord	1185	41	17	32	8%
sediment från bäck	618	97	30	44	28%

Diskussion

Transport och omsättning av organisk fosfor

Resultaten från avrinningsområdesstudien (IV) visar att de tre identifierade organiska fosforformerna utgör en stor andel av den organiska fosfor i olika jordar och sediment.

Inositoler finns naturligt i marken och även om de binds effektivt till markpartiklar transporteras de nedströms och återfinns i sedimenten, där de är stabila nog att motstå nedbrytning. Däremot ser DNA-P ut att vara en fosforform som lätt bryts ner, höga halter återfanns i bäck och dike, samt i nydeponerat sediment i sjöar (II) och syrefria Östersjösediment (IV).

En viktig fråga är om DNA-P transporteras i vattendragen i löst form eller i t ex bakterieceller. Förflyttas hela celler från mark till vattendragen vid nederbördsrika perioder? Eller har majoriteten av den DNA-P som uppmätts sitt ursprung i akvatiska organismer från recipienten? Den DNA-P som identifierades i arbete (II) korrelerade med antalet bakterieceller i sedimenten, vilket antyder att DNA-P deponeras på sedimentytan i form av bakterier. En möjlighet är att bakterieceller och dess DNA omsätts flera gånger i vattendrag innan de når djupare bottnar i sjöar och hav. Det kan vara så att fosfor transporteras effektivt från mark till vattendrag och sjöar i form av bakterieceller, fosfor bundet i dess DNA mobiliseras innan det deponeras i sedimenten, och bidrar till växtplanktonproduktionen (algbloomingar). Växtplankton bryts i sin tur ner i sedimenten av en specifik bakterieflora för en viss sedimentmiljö och fosfor frigörs igen.

Oavsett om dikets DNA-P representerar levande eller döda organismer associerade till partiklarna i diket utgör dikesmiljön en ackumulation av organisk P som när den omsätts

transporteras nedströms. Fosfor bundet i DNA skulle kunna vara den organiska fosforform som fungerar som transportform av fosfor även under perioder när flödena inte driver partikulärt fosfor nedströms, samt under de normala omständigheter när löst fosfat effektivt binds till partiklar och inte förs nedströms.

Fosfor i lipidform följer ett annat mönster. Den bryts inte ner i samma utsträckning som DNA-P i akvatiska sediment. En förklaring kan vara att en del av lipidfosfor inte kommer från bakterieceller utan från andra, mer stabila celltyper. Resultaten från (II) tyder på det. Den lipidfosfor som är stabil nog att begravas i sedimenten kan vara cellrester av terrestert eller akvatiskt ursprung.

Metoderna

En viktig fördel med de två metoder som har utvecklats för fosfor bundet i DNA och lipider är att de inte kräver någon avancerad analytisk utrustning. Analyserna kan göras av standardlaboratorium. Vad gäller inositolanalyserna är målsättningen att det ska räcka med HPLC-utrustning och rätt typ av kolonn för att kunna kvantifiera inositolerna. Identifieringen av inositolerna med masspektrometri bör kunna uteslutas på sikt om inte de olika formerna av inositoler behöver särskiljas. Men en fördel med den exakta identifieringen med masspektrometrin är att de olika inositolformerna kan särskiljas. Det öppnar för möjligheter att bedöma skillnader i ekologisk relevans och vilka de olika källorna är.

Produktivitet

Ett annat perspektiv på tillgången av organiska fosforformer i odlad jord är vilka fosforformer som utgör den pool av fosfor i marken som med tiden blir tillgänglig för växtupptag. Löst fosfat i står i jämvikt med mer eller mindre hårt bundna oorganiska fosforformer. Den organiska fosforpoolen omsätts och mineraliseras utifrån andra villkor, och med de specifika metoderna att mäta de olika organiska fosforformerna finns verktygen att undersöka den omsättningen och optimera förutsättningarna för växtproduktionen.

Slutsatser (gällande nytta med råd till jordbruksnäringen)

För att minska förlusterna av övergödningsdrivande fosfor från jordbrukslandskapet är det viktigt att minimera de situationer när vattenflöde uppstår som en förbindelselänk och transportväg mellan platser med anrikning av organisk fosfor, t.ex. nygödslad åkermark, djurhållning på frusen mark, gödselstackar etc. och vattendrag. Den organiskt bundna fosfor förflyttas, av allt att döma lätt, i löst form eller i form av celler, jämfört med fosfor bundet till oorganiska partiklar som lättare sedimenterar ut och kvarhålls när vattenflödet minskar. Åtgärder som bromsar och filtrerar vattenflödet, t.ex. kantzoner, bör vara effektiva för att minska flödet av lätttransporterad och övergödningsdrivande organisk fosfor från land till sjö och hav.

Resultatförmedling till jordbruksnäringen

Projektet har inte tillräckligt med resultat för att motivera en sammanfattande rapport i Naturvårdverkets rapportserie. Projektet drivs vidare i BalticSea2020s regi, med målsättningen att utvärdera kostnadseffektiviteten av olika åtgärder i jordbrukslandskapet för att minska förlusterna av övergödningsdrivande fosfor till kusten. BalticSea2020 har en uttalad målsättning att omsätta den erhållna kunskapen i konkreta handlingar och dokumentera dessa på ett sätt som är tillgängligt för jordbruksnäringen.

Publikationer inom projektet

- I. Paraskova J, Rydin, E & Sjöberg, P. Extraction and quantification of phosphorus derived from DNA and lipids in environmental samples (2013) *Talanta*, 115: 336–341.
- II. Paraskova J, & Sjöberg, P. Rydin, E. Turnover of DNA-P and phospholipid-P in lake sediments (2014) *Biogeochemistry*, 119(1-3): 361-370.
- III. Determination of inositol phosphates in lake sediments utilizing ion-exchange chromatography coupled with mass spectrometry, ICP-AES and ³¹P-NMR. Manuskript
- IV. Sources and sinks of organic phosphorus in a farmland catchment (preliminär titel) In prep.
- V. Organic phosphorus speciation in environmental samples; method development and applications. Julia Paraskova. Doktorsavhandling, disputation kl 9:00 den 8 september 2014. In prep.

Övriga referenser

- Mort, H.P., Slomp, C.P., Gustafsson, B.G., Andersen, T.J., 2010. Phosphorus recycling and burial in Baltic Sea sediments with contrasting redox conditions. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 74, 1350-1362.
- SNV (2005) Fosforförluster från mark till vatten. Naturvårdsverket Rapport 5507.
- Rydin, E., Malmaeus, M., Karlsson, M., Jonsson, P. (2011) Phosphorus Release From Coastal Baltic Sea Sediments As Estimated From Sediment Profiles. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 92:111-117.